

ADNANE ZENDAOUI

**EFFICACITÉ DU CARVÉDILOL SUR
L'HYPERTROPHIE VENTRICULAIRE GAUCHE ET
LA FONCTION CARDIAQUE CHEZ DES RATS
AYANT UNE INSUFFISANCE AORTIQUE
CHRONIQUE SÉVÈRE.**

Mémoire présenté

à la Faculté des Études supérieures de l'Université Laval
dans le cadre du programme de maîtrise en Médecine Expérimentale
pour l'obtention du grade de maître ès sciences (M.Sc.).

DÉPARTEMENT DE MÉDECINE EXPÉRIMENTALE
FACULTÉ DE MÉDECINE
UNIVERSITÉ LAVAL
QUÉBEC, CANADA.

2011

Résumé

L'Insuffisance aortique (IA) est une maladie valvulaire de surcharge de volume, caractérisée par un retour du sang de l'aorte vers le ventricule gauche (VG) pendant la diastole. Le VG pour s'adapter, il va se dilater (hypertrophie excentrique) pour créer de l'espace. Cette dilatation sera accompagnée à long terme d'une baisse des fonctions systolique et diastolique du cœur, ce qui va mener à l'insuffisance cardiaque. Aucun traitement pharmacologique n'est présentement reconnu efficace pour traiter cette maladie. La seule option thérapeutique est la chirurgie de remplacement valvulaire. Il a été démontré dans plusieurs études que le système adrénergique serait suractivé dans la surcharge de volume chronique. Notre objectif était de tester l'efficacité du Carvédilol (antagoniste β -adrénergique non sélectif/antagoniste α 1-adrénergique sélectif) pour traiter cette pathologie et/ou retarder le recours à la chirurgie de remplacement valvulaire. Nous avons démontré que le Carvédilol a diminué l'hypertrophie ventriculaire gauche et a amélioré la fonction cardiaque chez les rats insuffisants aortiques.

Remerciements

Je tiens à remercier Dre Marie Arsenault, ma directrice de recherche, pour m'avoir offert un si beau projet de maîtrise, pour son enthousiasme, pour ses grandes connaissances en cardiologie ainsi que pour ses nombreuses qualités humaines. Je tiens à remercier aussi Dr Jacques Couët, mon co-directeur de recherche, pour sa grande ouverture d'esprit et sa grande disponibilité pour aider et encadrer les étudiants. Merci Marie et Jacques de m'avoir accueilli dans votre laboratoire de recherche.

Au cours de mon cursus de maîtrise, j'ai eu la chance de travailler avec trois professionnels de recherche, Marie-Claude Drolet, Élise Roussel et Serge Champetier, qui m'ont beaucoup aidé pour faire avancer mon projet de recherche. Merci à vous trois pour votre aide. Je tiens à remercier aussi les étudiants que j'ai côtoyés tout le long de ma maîtrise : Wahiba Dhahri, Agung Purnama, Andrée-Anne Bouchard-Thomassin et Marie-Andrée Loubert. Merci à vous tous d'avoir créé une atmosphère agréable de soutien et de respect mutuelle. Je tiens également à remercier Dominic Lachance qui a fortement contribué à la réussite de mon projet de maîtrise. Merci Dominic pour ton aide et ton soutien.

Je tiens également à remercier tout les membres du groupe de recherche sur les valvulopathies (GRV), qui ont contribué à l'élargissement de mes connaissances en cardiologie lors de nos rencontres hebdomadaires. Un grand merci au Dr. Philippe Pibarot, directeur de la chaire de recherche sur les valvulopathies et chercheur remarquable, pour ses grandes connaissances en cardiologie et son sens de l'enseignement lors des rencontres du GRV.

Je tiens à remercier du fond de mon cœur mes parents, Mohammed et Khedoudja, qui m'ont toujours encouragé et soutenu pour faire des études. Je tiens également à remercier mes frères et sœurs ainsi que ma belle famille pour leur présence et leur soutien.

Finalement, je tiens particulièrement à remercier mon épouse. Merci Faten de ta présence, de tes encouragements, de ta patience que tu as su démontrer à mon égard ainsi que pour le

cadeau que tu m'a offert, notre petite Rym, qui me donne l'énergie et l'envie de continuer de vivre et de faire des réalisations.

Avant-Propos

Ce mémoire constitue le résumé de mes travaux de maîtrise effectués au centre de recherche de l'Institut Universitaire de Cardiologie et de Pneumologie de Québec, de décembre 2008 à septembre 2010 au sein du groupe de recherche en valvulopathies et sous la direction du Dre Marie Arsenault et la co-direction du Dr Jacques Couët. Ces travaux ont mené à l'écriture d'un manuscrit, qui a été publié dans le journal *Circulation : Heart failure*, qui décrit les effets d'un traitement avec du Carvédilol sur l'hypertrophie ventriculaire gauche et sur les fonctions systolique et diastolique du cœur dans un modèle de rats insuffisants aortiques chroniques sévères. Le projet a été réalisé avec la collaboration de mon collègue Dominic Lachance. La contribution au projet était de part égale pour les deux co-auteurs. Ma contribution s'est faite au niveau du suivi du traitement des animaux, au niveau technique lors des chirurgies d'induction de l'insuffisance aortique et lors des sacrifices et surtout lors des analyses tissulaires par RT-PCR et par le marquage des capillaires. Dominic Lachance a contribué au projet lors des chirurgies d'induction de l'insuffisance aortique, lors du sacrifice des animaux ainsi que par la réalisation des différentes échocardiographies et la compilation de leurs résultats. Élise Roussel a contribué aussi au projet lors des chirurgies d'induction de l'insuffisance aortique. Finalement, Dre Marie Arsenault et Dr Jacques Couët sont les responsables du projet et ont assuré l'écriture du manuscrit.

Table des matières

Résumé	ii
Remerciements	iii
Avant-Propos	v
Table des matières	vi
Liste des tableaux	x
Liste des figures	xi
Liste des abréviations	xii
Chapitre 1 : Introduction	1
1.1. Morphologie et fonctionnement normal du cœur	2
1.1.1. Localisation du cœur dans l'organisme	2
1.1.2. Anatomie du cœur	2
1.1.3. La structure interne du cœur	3
1.1.3.1. L'oreillette et le ventricule droits	4
1.1.3.2. L'oreillette et le ventricule gauches	5
1.1.4. Le système de conduction électrique	6
1.1.5. Innervation du cœur	7
1.1.6. Vascularisation du cœur	8
1.1.6.1. Les artères coronariennes	8
1.1.6.2. Les veines coronariennes	9
1.1.6.3. Les vaisseaux lymphatiques	9
1.1.7. Fonctionnement normal du cœur	11
1.2. Structure et fonction du myocarde	12
1.2.1. Les cardiomyocytes	12
1.2.2. Les fibroblastes cardiaques	13
1.2.3. La matrice extracellulaire du myocarde (MEC)	14
1.2.3.1. Les protéines de structure	14
1.2.3.2. Les protéines d'adhésion	14
1.2.3.3. Les protéines de régulation	15
1.2.3.4. Les protéines d'adhérence cellulaire	15
1.3. Le métabolisme énergétique du cœur	16
1.4. La fonction cardiaque	17
1.4.1. Le cycle cardiaque	17
1.4.2. Physiologie de la diastole ventriculaire	17
1.4.3. Physiologie de la systole ventriculaire	17
1.4.4. Fonction diastolique	18

1.4.5. Fonction systolique.....	19
1.4.5.1. La pré-charge	19
1.4.5.2. La post-charge.....	20
1.4.5.3. L'inotropisme.....	20
1.4.5.4. La fréquence cardiaque	22
1.5. Fonctionnement du VG en conditions de surcharge.....	23
1.5.1. Surcharge de pression dans le VG	23
1.5.2. Surcharge de volume dans le VG	23
1.6. L'Insuffisance de la valve aortique	25
1.6.1. Définition.....	25
1.6.1.1. Description de la pathologie	25
1.6.1.2. Étiologie	25
1.6.1.3. Physiopathologie.....	26
1.6.2. Manifestations cliniques et évaluation.....	27
1.6.2.1. Présentation.....	27
1.6.2.2. Moyens diagnostiques.....	28
1.6.3. Adaptation du VG suite à l'insuffisance de la valve aortique	28
1.6.3.1. Phase aigüe d'adaptation du VG.....	28
1.6.3.2. Phase chronique d'adaptation du VG.....	29
1.6.4. Mécanismes de développement de l'hypertrophie cardiaque	29
1.6.4.1. Remodelage de la MEC	29
1.6.4.2. La fibrose myocardique	30
1.6.4.3. Rôle des protéines kinases activatrice de la mitogène (MAPK).....	30
1.6.4.4. Implication du stress oxydatif.....	31
1.6.4.5. Degré de capillarisation du tissu myocardique	32
1.6.5. Implication du système adrénergique (SA)	333
1.6.5.1. Rôles des récepteurs β 1 et β 2-adrénergiques	344
1.6.5.2. Rôles des récepteurs β 3-adrénergiques	34
1.6.5.3. Rôles des récepteurs α -adrénergiques.....	36
1.6.5.4. Désensibilisation et internalisation des récepteurs adrénergiques	37
1.6.5.5. Inhibition pharmacologique du système adrénergique	40
1.6.6. Implication du système rénine-angiotensine-aldostérone (SRAA)	42
1.6.6.1. Implication des récepteurs AT1	43
1.6.6.2. Implication des récepteurs AT2	44
1.6.6.3. Implication de l'Aldostérone	45
1.6.6.4. Inhibition pharmacologique du système RAA.....	45
1.6.7. Prise en charge clinique de l'IA chronique.....	47
1.6.7.1. Traitements pharmacologiques	47
1.6.7.2. Les recommandations actuelles	48
1.6.7.3. Autres possibilités thérapeutiques.....	49
1.7. Problématique et justification des travaux entrepris	50
1.7.1. Problématique	50
1.7.2. Choix du modèle animal de surcharge de volume.....	50
1.7.3. Choix du traitement pharmacologique.....	51

1.8. Hypothèse et objectifs de travail	51
1.8.1. Hypothèse	51
1.8.2. Objectif général.....	51
1.8.3. Objectifs spécifiques.....	52
Chapitre 2 : Matériel et Méthodes	53
2.1. Procédure expérimentale.....	54
2.2. L'utilisation de l'échocardiographie	54
2.3. Cathérisation du VG	55
2.4. Sacrifice des animaux	55
2.5. Analyses quantitatives par RT-PCR	56
2.6. Quantification du degré de capillarisation du tissu myocardique.....	57
2.7. Méthodes statistiques.....	57
Chapitre 3 : Usefulness of carvedilol in the treatment of chronic aortic valve regurgitation	58
Résumé	59
Title: Usefulness of carvedilol in the treatment of chronic aortic valve regurgitation..	60
Abstract	61
Introduction	62
Material and Methods	63
<i>Animal model of aortic regurgitation</i>	63
<i>Echocardiography</i>	63
<i>Hemodynamic measurements</i>	64
<i>Analysis of mRNA accumulation by quantitative RT-PCR</i>	64
<i>Staining for capillary density measurement</i>	65
<i>Statistical analysis</i>	65
Results	66
<i>Clinical data</i>	66
<i>Cardiac hypertrophy</i>	66
<i>Echocardiographic data</i>	66
<i>Hemodynamic data</i>	67
<i>Atrial (ANP) and brain (BNP) natriuretic peptides and Follistatin-like protein 1 (fstl1) mRNA expression</i>	67
<i>Extracellular matrix (ECM) remodeling gene expression</i>	67
<i>Adrenergic receptors</i>	68
<i>Capillary density in the LV myocardium</i>	68
Discussion	69
References	72
Figure legends	76
Tables	78

Chapitre 4 : Discussion et conclusion générale	87
4.1. Discussion.....	88
4.2. Conclusion et perspectives.....	89
Bibliographie.....	911

Liste des tableaux

	Page
Chapitre 1	
Tableau 1 : Principales causes de l'insuffisance aortique.....	25
Tableau 2 : Recommandations pour l'utilisation de vasodilatateurs dans l'IA chronique, ACC/AHA 2006.....	48
Tableau 3 : Principales études cliniques et expérimentales réalisées dans le contexte de l'IA chronique.....	49
Chapitre 3	
Tableau 4 : Liste des amorces QuantiTect Assay utilisées pour l'analyse de l'expression génique avec le PCR quantitatif.....	78
Tableau 5 : Les données de sacrifices après (24) semaines de traitement.....	79
Tableau 6 : Les données échocardiographiques à (24) semaines de traitement.....	80
Tableau 7 : Les données hémodynamiques à (24) semaines de traitement.....	81

Liste des figures

	Page
Chapitre 1 :	
Figure 1 : Les tuniques du cœur.....	4
Figure 2 : Le système de conduction électrique du cœur.....	7
Figure 3 : Vascularisation du cœur, vue antérieure.....	10
Figure 4 : Vascularisation du cœur, vue postérieure.....	10
Figure 5 : Schéma illustrant l'anatomie du cœur.....	11
Figure 6 : Schéma illustrant la cinétique de remplissage du ventricule gauche pendant la diastole.....	19
Figure 7 : Schéma illustrant une courbe pression-volume.....	22
Figure 8 : Schéma illustrant un cœur normal.....	27
Figure 9 : Schéma illustrant un cœur présentant une insuffisance aortique chronique.....	27
Figure 10 : Modifications dans la courbe pression-volume lors d'une insuffisance aortique compensée ou décompensée.....	29
Figure 11 : Voies de signalisation des récepteurs β -adrénergiques.....	35
Figure 12 : Désensibilisation des récepteurs β -adrénergiques par phosphorylation.....	39
Figure 13 : Le système rénine-angiotensine-aldostérone.....	43
Figure 14 : Voies de signalisation des récepteurs d'angiotensine AT1 et AT2.....	44

Liste des abréviations

α : alpha
 β : beta
 γ : gamma
 Δ : delta
A : onde de remplissage diastolique A
Ao : aorte
AC : Adénylate cyclase
ACC : American College of Cardiology
ADNc : Acide désoxyribonucléotide complémentaire
ADP : Adénosine diphosphate
AHA : American Heart Association
AMP : Adénosine monophosphate
AMPK : AMP protéine kinase active
ANG I : angiotensine I
ANG II : angiotensine II
ANP : Atrial natriuretic peptide
Ap : Artère pulmonaire
ARA : antagonistes des récepteurs de l'angiotensine II
ARNm : Acide Ribonucléique messenger
AT1a : Récepteur de l'angiotensine II de type 1a
AT1b : Récepteur de l'angiotensine II de type 1b
AT2 : Récepteur de l'angiotensine II de type 2
ATP : Adénosine Triphosphate
AVR : aortic valve replacement surgery
BNP : Brain natriuretic peptide
Carv. : carvedilol
Col I : Collagène I
Col III : Collagène III
Col V : Collagène V
COMET : Cavedilol or Metoprolol European Trial
CO : cardiac output
CTGF : connective tissue growth factor
Ctrl : contrôle
ECA : enzyme de conversion de l'angiotensine
ERK : Extracellular signal-activated kinase
DAG : diacylglycérol
DBP : diastolic blood pressure
-dP/dtmax : dérivée maximale de diminution de pression par rapport à la dérivée de temps
+dP/dtmax : dérivée maximale d'augmentation de pression par rapport à la dérivée de temps
E : onde de remplissage diastolique E
Ea : élastance artérielle
EDD : end-diastolic diameter
EF : ejection fraction

ES : end-systolic
ESD : end-systolic diameter
Ets : élastance télé-systolique
FC : fréquence cardiaque
Fig. : figure
Fn : fibronectine
g : gramme
gr : groupe
GDP : guanine diphosphate
GPCRs : Récepteurs couplés à des protéines G
GRK : kinase des récepteurs couplés aux protéines G
GTP : Guanine triphosphates
HR : heart rate
IA : insuffisance aortique
IC : insuffisance cardiaque
IECA : Inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine
IP3 : inositol 1, 4, 5-triphosphate
IRM : imagerie par résonance magnétique
Iso : isoflurane
JNK : c-Jun N-Terminal kinase
Ket/xyl : kétamine/xylazine
Kg : kilogramme
Lox : lysyl oxidase
LV : left ventricle
LVEDP : left ventricular end-diastolic pressure
MAPk : Mitogen-activated protein kinase
MEC : Matrice extracellulaire
mg : milligramme
MHz : megahertz
min : minute
mm : millimètre
MPI : myocardial performance index
mmHg : millimètre de mercure
MMP : Matrix metalloprotéinase
Na : sodium
N ou NO. : nombre
NO : oxyde nitrique
ns : non significatif
NT : non traité
OD : Oreillette Droite
OG : Oreillette Gauche
p : probability
P : pression
PA : pression artérielle
PCR : polymerase chain reaction
PI3k : Phosphatidylinositol-3-kinase
Ppia : cyclophiline a

Ptd : pression télédiastolique
Pts : pression télésystolique
PKA : protéine kinase A
PKC : protéine kinase C
PLC : Phospholipase C
PW : posterior wall
RAS : renin-angiotensin sytem
RT : reverse transcriptase
RV : right ventricle
RWT : relative wall thickness
S : systolique
SA : système adrénergique
SE ou SEM : standard error of the mean (erreur type)
SW : septal wall
SBP : systolic blood pressure
SRA : système rénine-angiotensine
SV : surcharge de volume
Syst. : systolique
TGF β : transforming growth factor beta
TIMPs : Inhibiteur de métalloprotéinases
V : volume
Vo : volume maximal du ventricule gauche à pression nulle
VA : valve aortique
VD : ventricule droit
VES : volume d'éjection systolique
VG : ventricule gauche
Vmi : valve mitrale
Vp : valve pulmonaire
Vrég : volume de régurgitation
Vtd : Volume télédiastolique
Vtri : valve tricuspide
Vts : Volume télésystolique
vs : versus
wk : week
wt : weight

Chapitre 1 :
Introduction

1.1. Morphologie et fonctionnement normal du cœur :

1.1.1. Localisation du cœur dans l'organisme :

Le cœur est l'un des cinq organes nobles du corps humain, il est logé dans le médiastin antérieur et plus précisément dans la partie antérieure et médiane du thorax. La position du cœur est orientée vers le côté gauche et vers l'avant au niveau du 5e espace intercostal gauche. De chaque côté, le cœur est délimité par les poumons; au-dessus par la trachée et les gros vaisseaux; à sa base, il repose sur le diaphragme. Le développement des procédures sophistiquées d'imagerie cardiaque, comme l'angiographie coronarienne, l'échocardiographie, la tomographie et l'IRM (imagerie par résonance magnétique), a permis de mieux connaître l'anatomie du cœur et la physiopathologie des maladies cardiaques.¹

1.1.2. Anatomie du cœur :

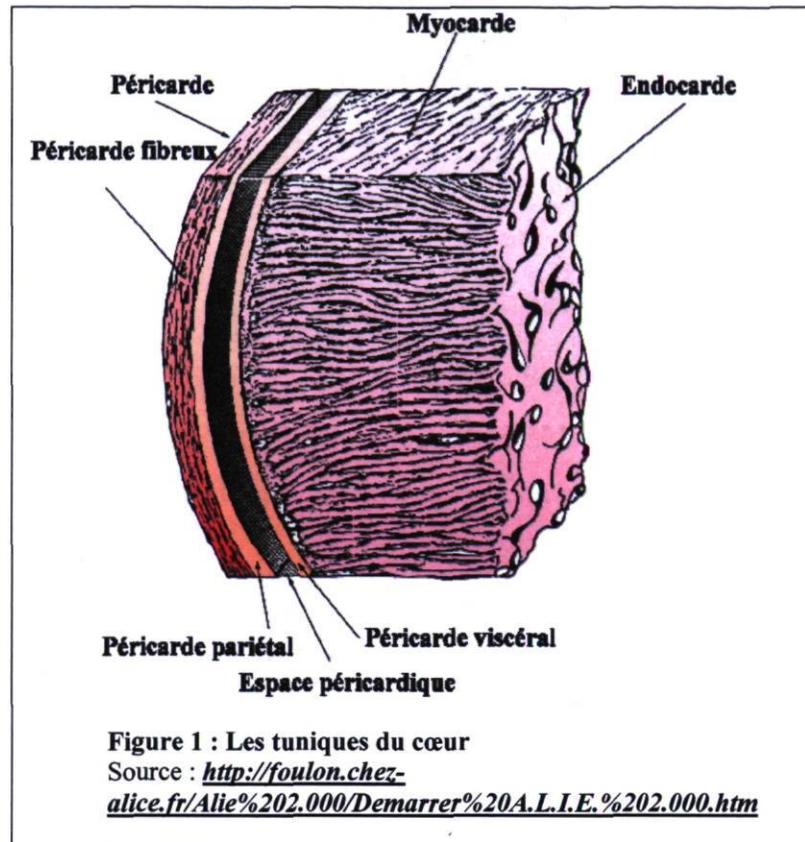
Le cœur a une forme conique, il est constitué de quatre chambres musculaires. Les ventricules gauche et droit sont les principales chambres de pompage. Les oreillettes gauche et droite délivrent le sang à leurs ventricules respectifs. Plusieurs termes sont utilisés pour définir les surfaces et bordures du cœur. L'apex est formé par la pointe du VG, il est pointé vers le bas, vers l'intérieur et vers la gauche. La base ou la surface postérieure du cœur est formé par les deux oreillettes surtout la gauche. La surface antérieure du cœur est constituée par le ventricule droit et l'oreillette droite. Tandis que, la surface inférieure du cœur est formée par les deux ventricules (surtout le ventricule gauche), cette surface inférieure en contact avec le diaphragme, est nommée aussi la surface diaphragmatique.

Le cœur et les gros vaisseaux sont entourés par un sac fibro-séreux appelé péricarde. Il est constitué de deux couches : une couche fibreuse du côté externe et une couche séreuse interne. La couche séreuse qui adhère à la paroi externe du cœur est appelé péricarde viscéral, elle forme avec la couche fibreuse externe, le péricarde pariétal. L'espace entre la couche viscérale et la couche pariétale, contient un film mince de liquide péricardique, qui donne au cœur la capacité de battre avec une moindre friction. Le péricarde est attaché aux

deux portions sternale et médiastinale des poumons droit et gauche, pour permettre au cœur de garder sa place normale dans le thorax (voir figure.1).¹

1.1.3. La structure interne du cœur :

Dans un cœur normal, on trouve quatre valves qui assurent la direction du sang en sens unique et qui préviennent le retour du sang dans le sens inverse. Les valves auriculo-ventriculaires (la valve mitrale et la valve tricuspide) séparent les oreillettes des ventricules (gauche et droite, respectivement). Les valves semi-lunaires (la valve aortique et la valve pulmonaire) séparent les ventricules des grosses artères : la valve aortique sépare le ventricule gauche de l'aorte, tandis que la valve pulmonaire sépare le ventricule droit de l'artère pulmonaire. Les quatre valves du cœur sont attachées au squelette fibreux du cœur, qui est composé d'un dense tissu conjonctif (ce squelette sert aussi de site d'attachement des muscles des oreillettes et des ventricules). La surface des valves cardiaques et la surface interne des quatre chambres du cœur sont tapissées par une couche unique de cellules endothéliales, appelée l'endocarde. Le tissu sous endocardique contient des fibroblastes, des fibres élastiques, du collagène, des veines et des nerfs (ce tissu est en continuité avec le tissu conjonctif de la couche musculaire cardiaque (le myocarde)). Le myocarde est constitué de cellules musculaires cardiaques (les cardiomyocytes). A l'extérieur du myocarde, on trouve une couche composée de tissus conjonctif et adipeux. Au niveau de cette couche, passent les gros vaisseaux sanguins et les nerfs. L'épicarde est la couche la plus externe du cœur et elle est similaire au péricarde viscéral (voir figure.1).¹



1.1.3.1. L'oreillette et le ventricule droits :

Les veines caves supérieure et inférieure et le sinus coronaire sont connectés à l'oreillette droite. Les veines caves retournent le sang désoxygéné vers l'oreillette droite. Le sinus coronaire retourne le sang des veines coronariennes vers l'oreillette droite. L'oreillette droite et le ventricule droit sont séparés par la valve tricuspide. Le ventricule droit a une forme triangulaire avec une partie supérieure ayant une forme conique, et forme une chambre de chasse qui permet le passage du sang vers l'artère pulmonaire à travers la valve pulmonaire. La paroi interne de la chambre de chasse est lisse, et le reste du ventricule droit est couvert de ponts irréguliers appelés les trabécules charnues (*trabeculae carneae*), qui donnent au ventricule droit une apparence spongieuse. Une large trabécule transversale à la cavité du ventricule est appelée la bande modératrice et dirige une branche du faisceau droit du système de conduction vers le muscle ventriculaire. Le ventricule droit contient trois muscles papillaires qui se projettent dans la chambre via les cordons

tendineux (chordae tendineae) qui sont attachés aux pourtours des feuillets de la valve tricuspide. Les feuillets sont attachés à un anneau fibreux qui soutient la position de la valve entre l'oreillette droite et le ventricule droit. La contraction des muscles papillaires en premier avant les autres régions du ventricule droit aide à aligner et à garder les feuillets de la valve tricuspide en position de fermeture en prévenant le retour du sang vers l'oreillette droite lors de la contraction ventriculaire. Au niveau de l'apex du tractus de passage du sang du ventricule droit vers l'artère pulmonaire, se trouve la valve pulmonaire (cette valve contient trois cuspidés attachés à un cercle fibreux). Durant la relaxation du ventricule droit, le recul élastique des artères pulmonaires force le retour du sang vers le cœur. Ceci va induire la fermeture de la valve pulmonaire et permettra de prévenir le retour du sang vers le ventricule droit.¹

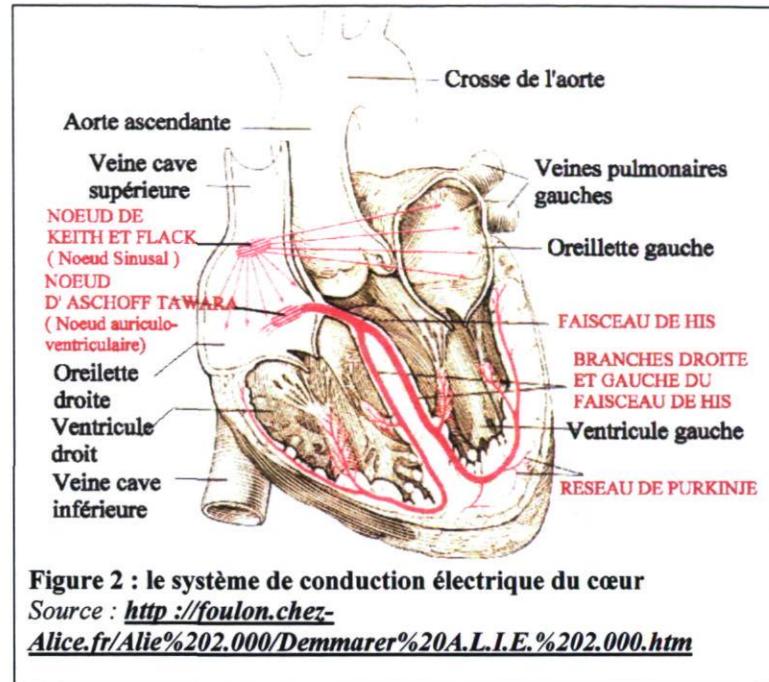
1.1.3.2. L'oreillette et le ventricule gauches :

L'oreillette gauche est connectée aux quatre veines pulmonaires au niveau de sa moitié supérieure. La paroi de l'oreillette gauche est d'environ 2 mm d'épaisseur, légèrement supérieure à celle de l'oreillette droite. La valve mitrale s'ouvre sur le ventricule gauche à travers la portion inférieure de l'oreillette gauche. La cavité du ventricule gauche a une forme conique et est plus large que celle du ventricule droit. L'épaisseur de la paroi du ventricule gauche est de 9 à 11 mm dans un cœur adulte en santé, trois fois plus épaisse que celle du ventricule droit. Le vestibule aortique est une partie de la paroi lisse de la cavité du ventricule gauche, localisée juste à la partie inférieure de la valve aortique. La majorité de la cavité du VG est couverte par les trabécules charnues, plus fines et plus nombreuses que celles du ventricule droit. La chambre du VG contient deux larges muscles papillaires, plus larges que ceux du ventricule droit. Leurs cordons tendineux sont plus épais et moins nombreux. Les cordons tendineux des muscles papillaires sont distribués au niveau des feuillets de la valve mitrale. D'une façon similaire au ventricule droit, la tension au niveau des cordons tendineux durant la contraction du VG aide au maintien et à l'alignement des feuillets de la valve mitrale les aidant à se refermer correctement et évitant un retour vers l'oreillette gauche durant la systole ventriculaire. La valve aortique sépare le VG de l'aorte. Autour de la valve aortique il y a un cercle fibreux (anneau), attaché à trois cuspidés de la

valve. Juste au-dessus des cuspidés gauche et droit de la valve aortique, dans la paroi aortique, on trouve l'origine des artères coronariennes gauche et droite.¹

1.1.4. Le système de conduction électrique :

Le système de conduction électrique est constitué de cellules spécialisées qui initient les battements du cœur et coordonnent la transmission du signal électrique au niveau des chambres du cœur. Le nœud sino-auriculaire est une petite masse de fibres musculaires cardiaques au niveau de la paroi de l'oreillette droite située à l'entrée de la veine cave supérieure. Il initie le signal électrique pour la contraction auriculaire. Le nœud auriculo-ventriculaire est situé sous l'endocarde dans la partie inféro-postérieure du septum inter-auriculaire. Dans la région distale du nœud auriculo-ventriculaire, se trouve le faisceau de His, qui perce le septum inter-ventriculaire dans la région postérieure. Dans le septum, le faisceau de His se divise en une large feuille de fibres qui continue du côté gauche du septum, nommée la branche gauche du faisceau de His. Le faisceau de His continue aussi vers la droite pour former une structure de câble compacte nommée la branche droite du faisceau de His. La branche gauche du faisceau de His est divisée en faisceau antérieur, faisceau postérieur et une petite branche. Le faisceau antérieur va se diriger antérieurement vers l'apex, pour former un plexus sous-endocardique dans la région du muscle papillaire antérieur. Le faisceau postérieur traverse vers la région du muscle papillaire postérieur et va se diviser en plexus sous-endocardique. Il diffuse par la suite vers le reste du ventricule gauche. Les plexus sous-endocardiques des deux ventricules envoient des fibres Purkinje, distribuées dans le muscle ventriculaire (voir figure.2). L'influx nerveux dans le système His-Purkinje est transmis premièrement vers les muscles papillaires et puis vers les parois des ventricules, permettant la contraction des muscles papillaires avant celle des ventricules. Cette coordination prévient la régurgitation du sang via les valves auriculo-ventriculaires.¹



1.1.5. Innervation du cœur :

Le cœur est innervé par les nerfs sympathiques et parasympathiques afférents et efférents. Les neurones sympathiques pré-ganglionnaires avec en deuxième ordre les neurones des ganglions sympathiques cervicaux traversent le cœur et les gros vaisseaux. Les fibres parasympathiques pré-ganglionnaires proviennent du noyau moteur dorsal de la médulle (medulla oblongata) et passent comme des branches du nerf vague dans le cœur et les gros vaisseaux. Les fibres synaptiques avec en second ordre les neurones sont localisés dans des ganglions. Une fourniture riche de fibres vagues afférentes au niveau postérieur et inférieur des ventricules est responsable d'importants réflexes cardiaques, tandis que les abondantes fibres vagues efférentes des nœuds sino-auriculaire et auriculo-ventriculaire sont actives pour moduler l'initiation et la transduction de l'impulsion électrique.¹

1.1.6. Vascularisation du cœur :

Les vaisseaux cardiaques sont représentés par les artères et les veines coronariennes ainsi que par les vaisseaux lymphatiques.

1.1.6.1. Les artères coronariennes :

Le muscle cardiaque est alimenté en oxygène et en nutriments par les artères coronariennes gauche et droite qui ont comme origine la racine de l'aorte juste au-dessus des cuspides de la valve aortique. Ces vaisseaux passent juste à côté de l'artère pulmonaire. La large artère coronarienne principale gauche (tronc commun) passe entre l'oreillette gauche et le tronc pulmonaire pour atteindre le feuillet auriculo-ventriculaire. Elle se divise en deux pour donner l'artère interventriculaire antérieure gauche (IVA) et l'artère circonflexe. Pendant sa descente sur la surface antérieure du VG, l'IVA donne naissance à des branches septales qui nourrissent les deux tiers du septum interventriculaire et la portion apicale du muscle papillaire antérieur. L'IVA donne aussi des branches diagonales qui nourrissent la surface antérieure du ventricule gauche. L'artère circonflexe traverse le sillon auriculo-ventriculaire gauche et passe autour de la bordure gauche du cœur pour atteindre la surface postérieure. Elle donne les branches marginales qui alimentent la paroi postérieure et latérale du ventricule gauche. L'artère coronarienne droite (CD) traverse par le feuillet auriculo-ventriculaire droit en passant entre l'oreillette droite et le ventricule droit. Elle alimente le ventricule droit en sang par les branches marginales aiguës. La CD distale donne naissance à une large branche : l'artère descendante postérieure. Ce vaisseau traverse l'aspect inféro-postérieur du cœur vers l'apex et alimente en sang les parois inférieures et postérieures des ventricules et le premier tiers du septum inter-ventriculaire. Juste avant de donner la branche descendante postérieure, la CD donne l'artère nodale auriculo-ventriculaire. A partir de ces positions épocardiques, les artères coronariennes envoient des branches perforatrices dans le muscle ventriculaire pour former une vasculature riche en branches dans les parois de toutes les chambres du cœur. A partir de ce plexus sort un nombre massif de capillaires qui forment un réseau qui entourent les fibres musculaires cardiaques. Les fibres musculaires localisées juste en-dessous de l'endocarde, particulièrement ceux des muscles papillaires

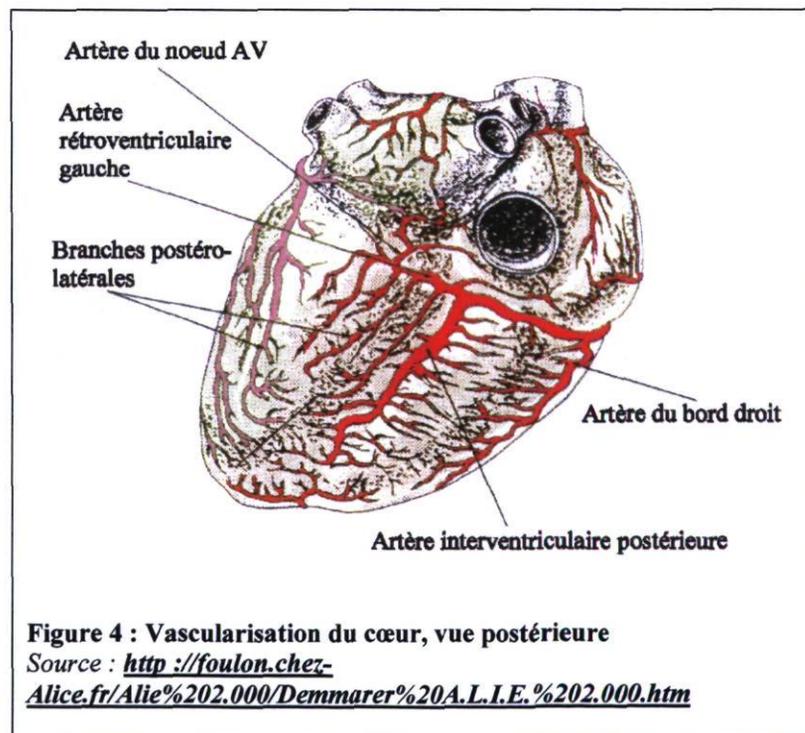
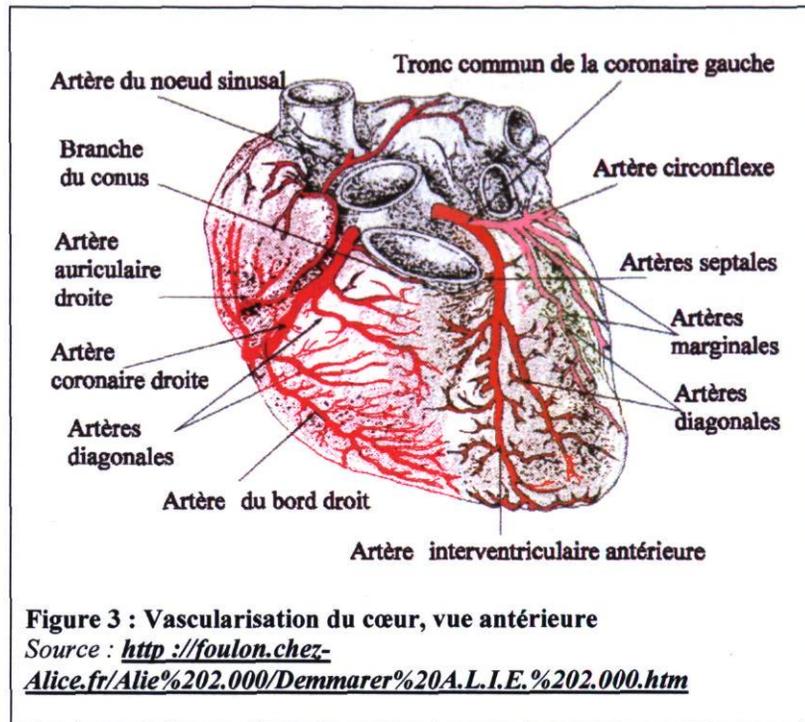
et de la partie charnue du VG, sont alimentés en sang par les branches terminales des artères coronariennes ou directement de la cavité ventriculaire par les canaux vasculaires minuscules, appelées les veines de Thébesius. Des connections collatérales (diamètre < 200 μ m) existent au niveau sous-artériolaire entre les artères coronariennes. Dans un cœur normal, quelques vaisseaux collatéraux sont visibles. Cependant en situation d'ischémie les vaisseaux collatéraux peuvent devenir plus larges et plus fonctionnels après l'obstruction d'une artère coronarienne et assurent le flux du sang vers les portions distales des vaisseaux à partir des voisins non obstrués (voir figure 3 et figure 4).¹

1.1.6.2. Les veines coronariennes :

Les veines suivent à peu près la même distribution anatomique que les artères coronariennes. Ces vaisseaux retournent le sang des capillaires myocardiques vers l'oreillette droite via le sinus coronaire. Les veines de Thébesius fournissent une racine additionnelle potentielle pour le retour sanguin directe en petite quantité vers les chambres cardiaques (voir figure 3 et figure 4).¹

1.1.6.3. Les vaisseaux lymphatiques :

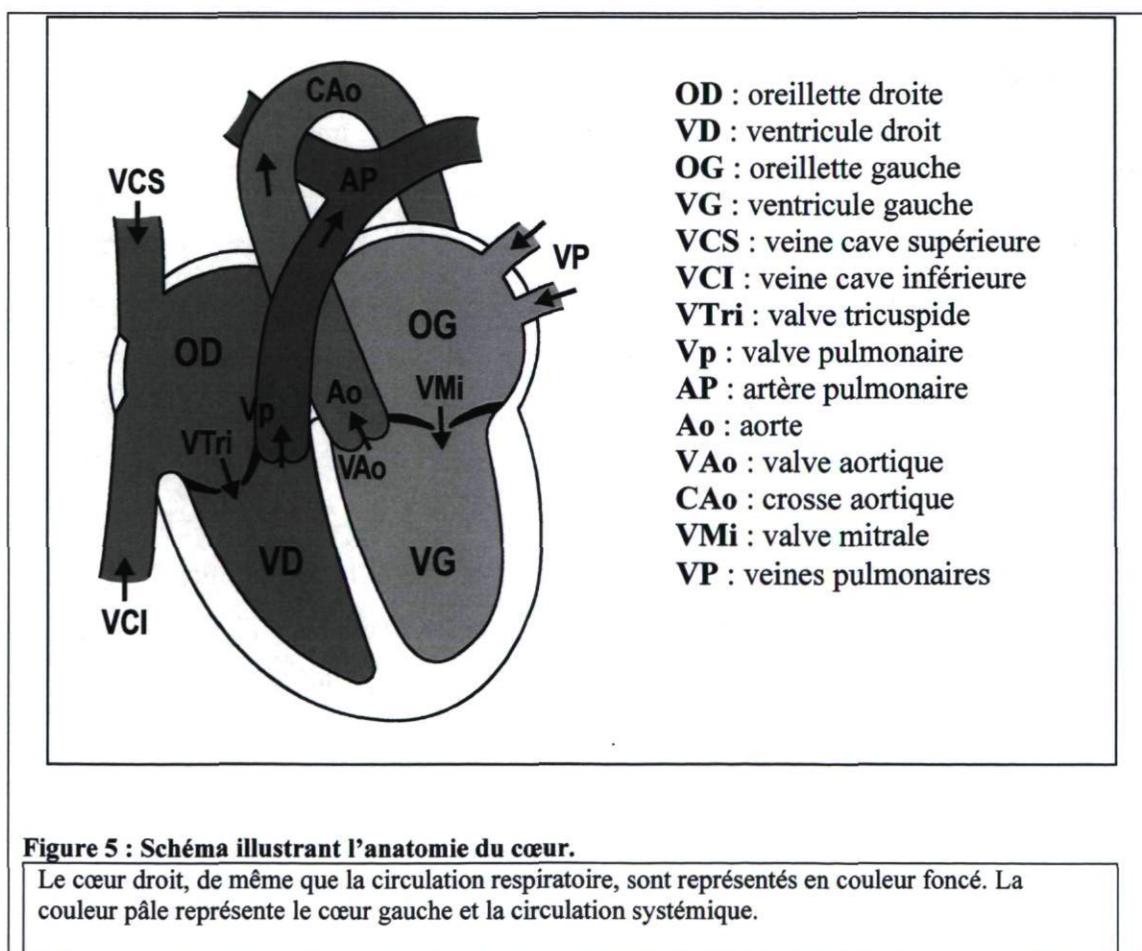
La lymphe cardiaque est drainée par un plexus étendu de vaisseaux valvés localisés dans le tissu conjonctif sous-endocardique des quatre chambres. Cette lymphe se draine dans un plexus épicaudique à partir duquel sortent plusieurs larges vaisseaux lymphatiques qui suivent la distribution des veines et artères coronariennes. Chacun de ces vaisseaux va se combiner au niveau de la gorge auriculo-ventriculaire pour former un simple conduit lymphatique, qui va sortir du cœur pour atteindre le plexus lymphatique médiastinal et par la suite le canal thoracique.¹



1.1.7. Fonctionnement normal du cœur :

Le sang désoxygéné arrive dans le cœur par les veines caves inférieure et supérieure pour entrer dans l'oreillette droite et puis il prend la direction du ventricule droit en traversant la valve tricuspide. La contraction du ventricule droit éjecte le sang vers l'artère pulmonaire et les poumons en traversant la valve pulmonaire. Au niveau des poumons, le CO₂ est libéré et l'O₂ est absorbée. Le sang riche en oxygène retourne dans le cœur par les veines pulmonaires pour arriver dans l'oreillette gauche et puis il traverse la valve mitrale pour aller vers le ventricule gauche. La contraction du VG pompe le sang riche en oxygène vers l'aorte en traversant par la valve aortique puis le sang sera distribué à l'ensemble des tissus du corps humain (voir figure.5).

Le fonctionnement normal du cœur sera revu en détail dans la partie « Fonction cardiaque ».



1.2. Structure et fonction du myocarde :

Le myocarde est composé d'un arrangement complexe de cellules, de protéines et de polysaccharides. Les cellules sont principalement représentées par les cardiomyocytes et les fibroblastes. Les protéines et les polysaccharides constituent la matrice extracellulaire. Dans un VG normal, les cardiomyocytes occupent 80% de l'espace myocardique tandis que les fibroblastes en occupent 15% et la matrice extracellulaire 5%. En terme de nombre, les fibroblastes sont plus nombreux que les cardiomyocytes (70% versus 30% respectivement).²

1.2.1. Les cardiomyocytes :

La cellule myocardique mature, appelée cardiomyocyte, mesure plus de 25 μm de diamètre et 100 μm de longueur et assure la contractilité myocardique. Cette cellule montre une bande transversale striée similaire à celle du muscle squelettique. A l'inverse des myofibrilles squelettiques multi-nucléées, les cellules myocardiques contiennent un ou deux noyaux centraux. Chaque myocyte est entouré par un tissu conjonctif riche en capillaires. Chaque cellule myocardique contient plusieurs myofibrilles qui sont des chaînes longues de sarcomères individuels. Elles constituent les unités contractiles fondamentales de la cellule. Chaque sarcomère est constitué de deux groupes de filaments de protéines contractiles qui se chevauchent. Les interactions biochimiques et biophysiques entre ces myofilaments produisent la contraction du muscle. Dans des conditions physiologiques, la longueur d'un sarcomère (la distance de Z à Z) varie entre 2,2 μm (relaxation) et 1,5 μm (contraction) pendant le cycle cardiaque. La membrane du cardiomyocyte est appelée le sarcolemme. Une région spécialisée de cette membrane, dite la strie scalariforme, est une caractéristique distincte du tissu du muscle cardiaque. C'est une ligne transversale qui traverse les chaînes des cellules cardiaques à un intervalle irrégulier. Elle représente les complexes de la jonction gap à l'interface des fibres cardiaques adjacentes et établit une continuité structurelle et électrique entre les cardiomyocytes. Un autre trait fonctionnel de la membrane cellulaire est le système

tubulaire transversal (ou le tubule T). Ce système complexe est caractérisé par des invaginations profondes du sarcolemme sous forme de doigt. D'une façon similaire à la strie scalariforme, la membrane tubulaire transverse établit des voies pour une transmission rapide des impulsions électriques pour initier la contraction. Le système tubule T augmente la zone de la surface du sarcolemme en contact avec l'environnement extra-cellulaire, permettant au transport ionique trans-membranaire d'être rapide et synchrone avec l'excitation et la relaxation.

Le réticulum sarcoplasmique (RS) est un réseau tubulaire profond, membranaire, intracellulaire et complémentaire au système tubulaire T des points de vue structurel et fonctionnel. Le RS se joint au tubule T avec des angles droits par des sacs latéraux, appelés les citernes terminales. Ces sacs contiennent la majorité du stock en calcium intra-cellulaire. La libération de ce stock est très importante pour relier l'excitation de la membrane avec l'activation de l'appareil contractile. Les sacs latéraux se joignent aussi à la strie scalariforme et au sarcolemme pour former un système complémentaire de couplage excitation-contraction. Pour couvrir l'énorme demande métabolique du cœur et le besoin d'un approvisionnement constant en ATP (adénosine triphosphate), les cardiomyocytes ont une concentration élevée en mitochondries. Ces organelles sont localisées entre les myofibrilles individuelles et constituent approximativement 35% du volume cellulaire.¹

1.2.2. Les fibroblastes cardiaques :

Les fibroblastes sont responsables principalement de la synthèse des différents constituants de la MEC (matrice extra-cellulaire). Ils assurent la synthèse des protéines de structure, d'adhésion, de régulation et d'adhérence cellulaire. Les fibroblastes aident à maintenir l'intégrité structurelle du cœur via des interactions cellule-cellule et cellule-MEC ainsi que par la synthèse et la dégradation des constituants de la MEC. Dans certaines conditions, les fibroblastes peuvent acquérir un phénotype contractile et devenir des myofibroblastes.^{2;3}

1.2.3. La matrice extracellulaire du myocarde (MEC) :

La matrice extra-cellulaire est reconnue depuis longtemps pour son rôle de structure de soutien statique au niveau du cœur, par le remplissage de l'espace vide entre les cellules cardiaques ce qui donne au tissu cardiaque une certaine homogénéité et consistance. Mais maintenant elle est aussi reconnue pour avoir un rôle important dans le développement cardiaque, dans la morphologie et dans la signalisation cellulaire. La MEC est constituée de protéines dites de structure, d'adhésion, de régulation et d'adhérence cellulaire.⁵

1.2.3.1. Les protéines de structure :

Les fibroblastes et les myofibroblastes assurent la synthèse de différentes protéines de structure de la MEC, notamment : le collagène I et le collagène III, et en moindre degré l'élastine et le collagène IV. Les fibres de collagène assurent le maintien de l'intégrité structurelle du myocarde et elles sont considérées comme le constituant structurel majeur de la MEC. Le collagène I représente 80% des protéines structurales du myocarde et assure la rigidité de ce dernier tandis que le collagène III représente 20% et donne au myocarde une compliance nécessaire au bon fonctionnement du cœur. Les deux types de protéines s'entrecroisent entre elles et forment un tissage qui remplit l'espace entre les cardiomyocytes¹⁰⁵⁻¹⁰⁷. L'élastine et le collagène IV ont un rôle d'élasticité et de résistance et relient les cellules au tissu conjonctif.⁵

1.2.3.2. Les protéines d'adhésion :

La fibronectine et la laminine constituent les protéines d'adhésion de la MEC. Elles sont synthétisées par les fibroblastes et assurent le rôle d'adhésion des cellules à la MEC. Elles assurent aussi un rôle dans la signalisation cellulaire grâce à leurs liaisons aux intégrines présentes sur la surface des cardiomyocytes.⁵

1.2.3.3. Les protéines de régulation :

Les fibroblastes secrètent des métalloprotéinases (MMPs). Elles ont un rôle de régulation de la MEC et ont la capacité de couper les protéines de structure et les protéines d'adhésion, essentiellement les collagènes, et facilitent la migration cellulaire. Elles sont secrétées suite à un stimulus externe (un étirement au niveau du myocarde, les neuro-hormones, les cytokines et les facteurs de croissance). Il existe plusieurs sous-types de MMPs, chacune ayant son substrat. Les MMP-1 et MMP-13 dégradent partiellement les collagènes fibrillaires (collagène I et collagène III) et les rendent facilement dégradables par la MMP-2 et MMP-9. Les inhibiteurs tissulaires des métalloprotéinases (TIMPs) contrebalancent l'activité des MMPs suite à leur liaison au site actif des MMPs empêchant l'interaction de ces dernières aux composantes de la MEC. Les fibroblastes du myocarde synthétisent quatre sous-types de TIMPs (1 à 4). Dans certaines cardiomyopathies humaines par exemple, la dégradation de la MEC est favorisée par un taux élevé en MMP-9 avec un taux bas en TIMP-1 et en TIMP-3, alors que le TIMP-2 reste stable. Une baisse en TIMP-4 a été démontrée chez les patients avec une cardiomyopathie ischémique.^{5;8}

1.2.3.4. Les protéines d'adhérence cellulaire :

Les principales protéines d'adhérence cellulaire sont : les intégrines, les cadhérines et les connexines. Elles assurent des liaisons spécifiques et stables entre les cellules ou entre les cellules et les différents constituants de la MEC. Les intégrines assurent la liaison des fibroblastes à la MEC tandis que les cadhérines et les connexines assurent les liaisons fibroblaste-fibroblaste et fibroblaste-myocyte.^{2;4;6;7}

1.3. Le métabolisme énergétique du cœur :

L'oxydation de différents substrats comme les acides gras non estérifiés circulants, le glucose, le lactate, le pyruvate, les acides aminés et les corps cétoniques fournit l'énergie nécessaire au fonctionnement du cœur sous forme finale d'ATP (adénosine tri-phosphates). Le produit final (ATP) du cycle de Krebs est reconstitué à partir d'ADP (adénosine diphosphates) et de phosphates. Le nombre de molécules d'ATP obtenues diffère d'un substrat à l'autre. Les acides gras ont un meilleur rendement énergétique par rapport aux autres substrats. Une molécule d'acide palmitique par exemple (16 atomes de carbone) donne 130 molécules d'ATP; une molécule de glucose (voie aérobie) donne 38 molécules d'ATP, tandis que, une molécule de lactate donne seulement 18 molécules d'ATP. Les réactions aérobies de glycolyse (en présence d'oxygène) ont un rendement énergétique supérieur par rapport aux réactions anaérobies (production d'ATP sans l'utilisation d'oxygène, par la transformation du glucose en lactate). L'oxygène est fourni au myocarde par la circulation coronarienne. Le cœur consomme au repos 30 à 35 ml/min d'oxygène (10 ml/min par 100 g de myocarde). L'anoxie induit le recours à la voie anaérobie pour produire des ATP, avec en conséquence une production de lactates.⁹

1.4. La fonction cardiaque :

1.4.1. Le cycle cardiaque :

Le cycle cardiaque est constitué de la diastole et la systole qui sont respectivement des phases de relaxation et de contraction. Pendant la diastole, les ventricules reçoivent le sang simultanément de leurs oreillettes respectives. Le ventricule gauche reçoit le sang oxygéné qui arrive des poumons et qui passe d'abord par l'oreillette gauche. Le ventricule droit reçoit le sang désoxygéné qui arrive de la circulation systémique en passant par l'oreillette droite. Pendant la systole, les deux ventricules pompent simultanément le sang. Le ventricule gauche éjecte le sang vers la circulation systémique tandis que le ventricule droit l'éjecte vers les poumons.

1.4.2. Physiologie de la diastole ventriculaire :

La diastole ventriculaire est marquée par deux phases : une phase dite de relaxation iso-volumétrique et une phase de remplissage ventriculaire. La première phase est de très courte durée par rapport à la deuxième. La phase de relaxation iso-volumétrique est marquée par une chute importante et rapide de la pression intra-ventriculaire et est comprise entre la fermeture des valves sigmoïdes et l'ouverture des valves auriculo-ventriculaires. La phase de remplissage ventriculaire commence à l'ouverture des valves auriculo-ventriculaires et se termine à leur fermeture.

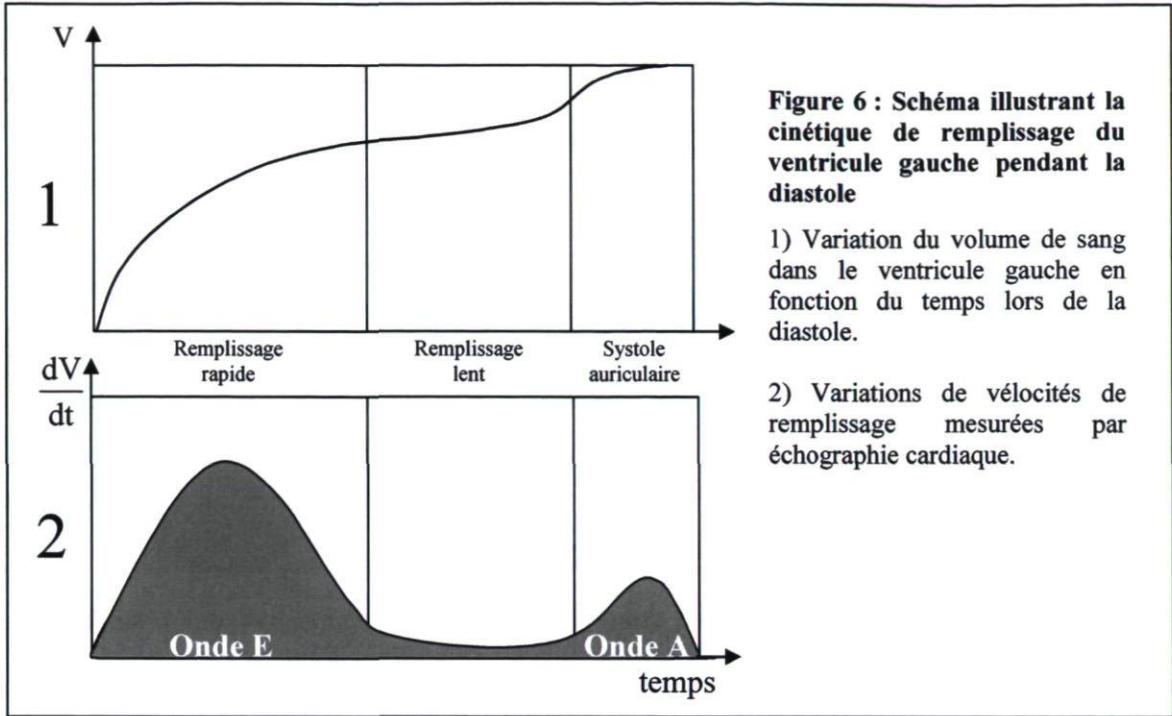
1.4.3. Physiologie de la systole ventriculaire :

La systole est aussi caractérisée par deux phases. La première est la phase de contraction iso-volumétrique qui induit la fermeture des valves auriculo-ventriculaires suite à une augmentation de la pression intra-ventriculaire. Lorsque cette pression dépasse la pression artérielle, les valves sigmoïdes vont s'ouvrir et la deuxième phase débute : la phase de contraction isotonique. Les ventricules éjectent le sang d'une façon rapide au début en raison de la pression intra-ventriculaire élevée puis, la vitesse diminue avec le

temps jusqu'à la fin de la systole marquée par la fermeture des valves sigmoïdes. Un nouveau cycle peut alors commencer.

1.4.4. Fonction diastolique :

La fonction diastolique représente la phase de remplissage des ventricules. Ce remplissage est représenté par trois phases dépendantes du gradient de pression entre les oreillettes et les ventricules. Pour la première phase, l'ouverture des valves auriculo-ventriculaires permet le passage du sang des oreillettes vers les ventricules d'une façon passive et en grande quantité (70 à 80 % du remplissage total du ventricule). Cette phase représente l'onde E du remplissage ventriculaire. La deuxième phase de remplissage, s'appelle la diastase et est caractérisée par une baisse du gradient de pression entre l'oreillette et le ventricule (par une augmentation de la pression intra-ventriculaire et une diminution de la pression intra-auriculaire). Cette étape de remplissage passif contribue pour 5% du remplissage total du ventricule. Lors de la troisième phase de remplissage, le passage du sang est dit actif et survient après la contraction auriculaire. Cette phase correspond à l'onde A du remplissage ventriculaire (représente 15% à 25% du remplissage ventriculaire total). On peut évaluer la fonction diastolique avec l'échocardiographie en analysant le flot passant à travers la valve mitrale avec le Doppler pulsé. (Voir figure 6).



1.4.5. Fonction systolique :

La fonction systolique représente la capacité contractile d'un ventricule à éjecter le sang lors de la systole. Elle est influencée principalement par quatre facteurs : la pré-charge, la post-charge, l'inotropisme et la fréquence cardiaque.

1.4.5.1. La pré-charge :

La pré-charge correspond à l'ensemble des tensions exercées sur la paroi ventriculaire à la fin de la diastole. Elle dépend du volume télé-diastolique. Selon la loi de Frank-Starling, le volume d'éjection augmente avec l'augmentation du volume télé-diastolique. Plus les cardiomyocytes sont étirés (par augmentation du volume télé-diastolique), plus leur contraction sera forte. Le VG a une réserve contractile et il peut l'adapter en fonction de la pré-charge. Cela s'explique par le rapprochement des filaments d'actine et de myosine suite à l'augmentation de la pré-charge (augmentation du volume télé-diastolique), ce qui va augmenter le nombre de sites de contact entre les deux types de filaments et demander

l'hydrolyse de plus de molécules d'ATP. Ceci va donner une plus forte contraction du VG.¹⁰

1.4.5.2. La post-charge :

La post-charge représente l'ensemble des forces qui s'oppose au sang lors de son éjection pendant la systole. La post-charge est influencée par l'impédance aortique, la résistance vasculaire périphérique, la compliance artérielle, la pression télé-diastolique aortique et la viscosité du sang. Selon la loi de Laplace, la tension exercée sur la paroi du VG est proportionnelle à la pression intra-VG et au diamètre du VG et inversement proportionnelle au diamètre de la paroi du VG. Dans un cœur normal, la post-charge augmente un peu au début de la systole et diminue de façon importante pendant le reste de la systole ce qui permet un déchargement important du cœur.

$$\text{Loi de Laplace : Tension} \propto \frac{\text{Pression} \times \text{Diamètre de la chambre}}{2 \times \text{Épaisseur des parois}}$$

Le VG face à des changements de la tension exercée sur ses parois (pré-charge) et/ou sa pression intra-ventriculaire (post-charge), tente d'ajuster soit l'épaisseur de ces parois, soit le diamètre de sa chambre ou les deux en respect des règles de loi de Laplace pour garder un niveau de contractilité avec un volume d'éjection systolique et un débit cardiaque adéquat.¹⁰

1.4.5.3. L'inotropisme :

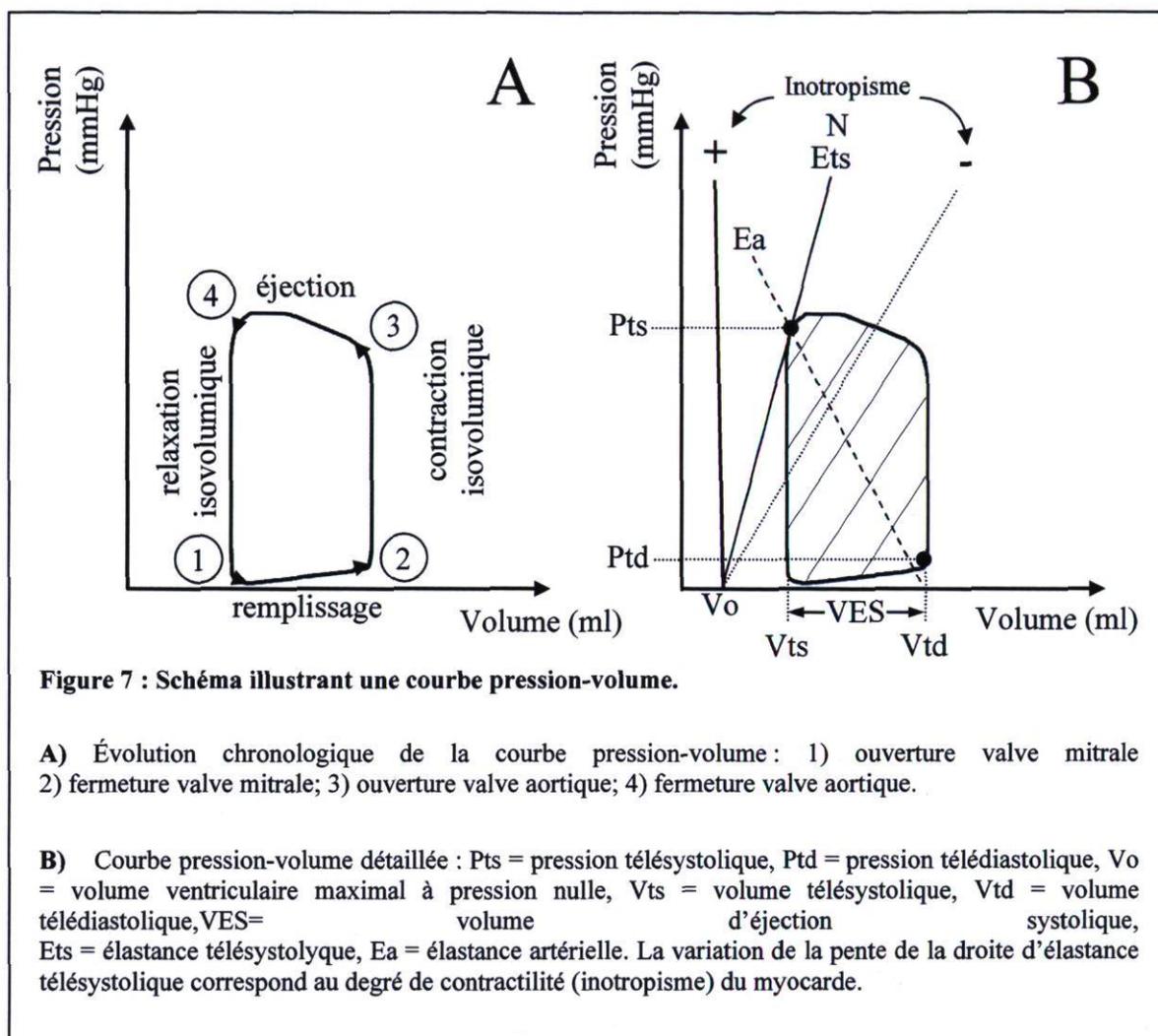
Le troisième facteur qui peut influencer la fonction myocardique est l'inotropisme. Il représente la capacité du muscle cardiaque à se contracter indépendamment de la pré-charge et de la post-charge.¹⁰

La fraction d'éjection représente le volume de sang éjecté par le VG pendant chaque systole indexé au volume télé-diastolique (VTD), elle se calcule avec la formule suivante :

$$\text{Fraction d'éjection (FE)} = \frac{\text{Volume en fin de diastole} - \text{Volume en fin de systole}}{\text{Volume en fin de Diastole}}$$

Il existe d'autres façons d'évaluer l'état contractile du myocarde dont l'analyse de la courbe pression-volume du VG. Il faut noter l'absence d'une méthode efficace pour évaluer l'inotropisme car ce dernier est influencé par la géométrie du VG. Un exemple de courbe pression-volume est présenté ci-dessous. Les chiffres correspondent aux quatre phases du cycle cardiaque : (01) la valve mitrale s'ouvre et le volume du sang intra-VG augmente graduellement jusqu'à atteindre le volume télé-diastolique (V_{td}) à la fin de la phase de remplissage diastolique; la pression augmente aussi jusqu'à atteindre la pression télé-diastolique (P_{td}). (02) la valve mitrale est fermée, le remplissage du VG est terminé et la valve aortique est encore fermée; cette phase est marquée par l'augmentation brusque de la pression ventriculaire sans modification du volume ventriculaire suite à une contraction isovolumétrique du VG. (03) La valve aortique s'ouvre et elle va permettre le vidage du VG à la systole et induire une baisse du volume intra-ventriculaire jusqu'à atteindre le volume télé-systolique (V_{ts}). (04) La valve aortique est fermée, la valve mitrale est encore fermée, la pression baisse sans modifier le volume. Cette phase est marquée par la relaxation isovolumétrique.

On peut évaluer la contractilité myocardique en analysant la pente de la relation pression-volume télé-systolique aussi appelée l'élastance télé-systolique (E_{ts}). Cette pente représente l'inotropisme myocardique. Une augmentation de la pente de la droite d'élastance télé-systolique signifie qu'il y a une bonne contractilité myocardique (un bon inotropisme), alors qu'une baisse de cette pente signifie qu'il y a une faible contractilité myocardique (faible inotropisme). L'analyse de la pente de la droite d'élastance artérielle (E_a) sert à évaluer la post-charge, alors que l'aire de la boucle sert à évaluer le travail myocardique (voir figure 7).



1.4.5.4. La fréquence cardiaque :

La fréquence cardiaque est l'un des paramètres majeurs qui peut influencer la fonction myocardique. Dans le cas d'une hypovolémie par exemple, la fréquence cardiaque va augmenter pour maintenir le débit cardiaque.

1.5. Fonctionnement du VG en conditions de surcharge :

Dans des conditions pathologiques, le VG peut subir deux types de surcharge : une surcharge de pression ou une surcharge de volume. La surcharge de pression est la conséquence de maladies comme l'hypertension artérielle et le rétrécissement ou sténose de la valve aortique. La surcharge de volume est souvent la conséquence d'une insuffisance de la valve mitrale ou de la valve aortique ou survient de façon physiologique suite à un entraînement soutenu en endurance chez l'athlète.

1.5.1. Surcharge de pression dans le VG :

La surcharge de pression au niveau du VG mène à une hypertrophie concentrique caractérisée par un épaissement des parois du VG souvent au profit d'une réduction du diamètre de la cavité de ce dernier. Les maladies précédemment citées induisent une surcharge de pression en augmentant la post-charge.¹¹ Le VG dans cette situation tentera d'augmenter la capacité contractile du myocarde grâce à l'épaississement des parois du VG pour normaliser le stress pariétal et pour garder une fraction d'éjection normale. À plus long terme, une hypertrophie concentrique accrue peut induire une diminution de la capacité contractile du myocarde, ce qui peut mener à une dysfonction systolique et une augmentation du volume télé-systolique et télé-diastolique au niveau du VG. Une augmentation de la pression télé-diastolique va mener à son tour à une dysfonction diastolique.

1.5.2. Surcharge de volume dans le VG :

La surcharge de volume dans le VG induit une dilatation de ce dernier (une hypertrophie excentrique). Il existe plusieurs maladies qui peuvent induire une surcharge de volume et chaque maladie a une physiopathologie bien particulière.

L'insuffisance mitrale chronique est caractérisée par un retour anormal du sang du VG vers l'oreillette gauche (OG) pendant la systole dû à une fuite au niveau de l'un des

feuillet de la valve mitrale. Pendant la diastole, le sang régurgitant retourne au VG en plus du sang de remplissage ventriculaire normal ce qui va créer une surcharge de volume au niveau du VG. Cependant la dilatation du VG va permettre de maintenir une meilleure fonction systolique et diastolique. À plus long terme, le VG devient incapable de gérer le surplus en sang et les fonctions systolique et diastolique vont baisser menant à l'insuffisance cardiaque. En comparaison avec l'IA chronique, la post-charge n'augmente pas dans la surcharge de volume induite par une insuffisance mitrale chronique.

Un entraînement physique chronique en endurance induit une augmentation du volume sanguin et en conséquence une surcharge de volume au niveau du VG (augmentation de la pré-charge). Le VG va s'hypertrophier d'une façon excentrique comme dans toutes maladies de surcharge de volume, mais cette hypertrophie est dite physiologique car elle permet d'améliorer la fonction cardiaque, est totalement réversible à l'arrêt de l'entraînement et n'est pas accompagnée de fibrose.^{12;13}

La surcharge de volume induite par une IA chronique sera abordée dans la partie suivante «l'insuffisance de la valve aortique ».

1.6. L'Insuffisance de la valve aortique :

1.6.1. Définition :

1.6.1.1. Description de la pathologie :

L'insuffisance aortique est une maladie caractérisée par une surcharge de volume au niveau du VG due à un retour anormal de sang en diastole de l'aorte vers le ventricule gauche causé par une valve aortique incompétente. Ce phénomène de surcharge de volume dans le VG oblige ce dernier à éjecter à chaque systole une quantité anormalement élevée de sang.¹

1.6.1.2. Étiologie :

L'insuffisance aortique est une pathologie qui peut survenir après une atteinte des feuillets de la valve aortique ou après une dilation de l'aorte (voir tableau 1).¹

Tableau 1: Principales causes de l'insuffisance aortique.

Des anomalies au niveau des feuillets de la valve :

D'origine rhumatismale (rhumatisme articulaire aigu);

Endocardite infectieuse;

Congénitale (valve bicuspide).

Dilatation de l'aorte :

Anévrisme aortique (Inflammation; maladie du tissu connectif (exemple, syndrome de Marfan));

La dissection aortique;

L'ectasie annulo-aortique;

Syphilis.

1.6.1.3. Physiopathologie :

L'insuffisance aortique est caractérisée par un retour du sang de l'aorte vers le ventricule gauche pendant la diastole. Le ventricule gauche doit pomper le sang normal (qui arrive par l'oreillette gauche via la valve mitrale) en plus du sang régurgitant. Plusieurs facteurs peuvent influencer le degré de sévérité de l'insuffisance aortique : le diamètre de l'orifice au niveau de la valve aortique responsable de l'entrée du sang régurgitant; le gradient de pression de part et d'autre de la valve aortique à la diastole; et la durée de la diastole.

Les anomalies hémodynamiques et les symptômes de l'insuffisance aortique aigüe diffèrent de ceux de l'insuffisance aortique chronique. Dans l'insuffisance aortique aigüe, le ventricule gauche garde sa taille normale et demeure relativement non compliant n'ayant pas eu le temps de s'adapter. Le sang régurgitant va causer une augmentation de la pression télé-diastolique du VG qui sera transmise jusqu'à l'oreillette gauche et la circulation pulmonaire pouvant provoquer une dyspnée et même un œdème pulmonaire. Une insuffisance aortique aigüe sévère est souvent considérée comme une urgence chirurgicale nécessitant souvent un remplacement valvulaire immédiat. Dans l'insuffisance aortique chronique, le ventricule gauche va s'adapter pour compenser à la surcharge de volume par une dilatation et à moindre degré une hypertrophie (voir figure.9). La dilatation améliore la compliance du VG et lui permet de gérer le volume régurgitant avec moins d'augmentation de la pression diastolique ce qui va réduire en conséquence la pression transmise à l'oreillette gauche et à la circulation pulmonaire. Grâce à la dilatation et à l'hypertrophie compensatoire dans l'IA chronique, le patient reste asymptomatique pendant plusieurs années. Mais ce remodelage progressif du VG va s'installer graduellement et va éventuellement mener à une dysfonction systolique avec une baisse du débit cardiaque et une augmentation des pressions au niveau de l'oreillette gauche ainsi qu'au niveau des vaisseaux pulmonaires. A ce stade, le patient va développer des symptômes de l'insuffisance cardiaque.

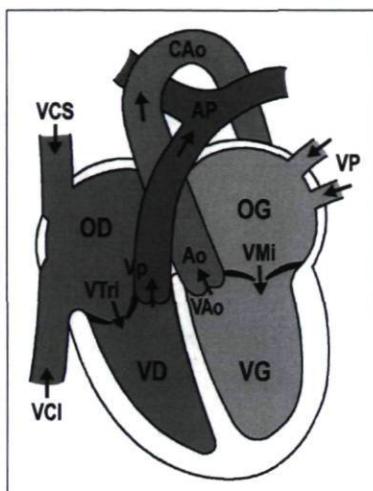


Figure 8
Cœur normal

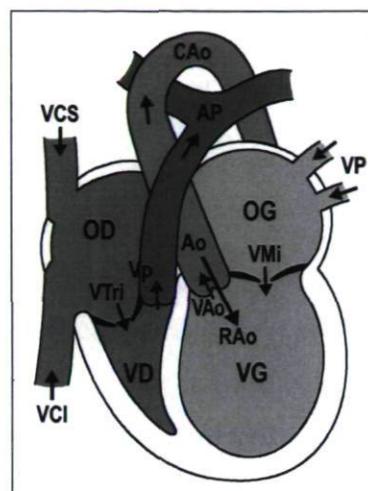


Figure 9
Cœur insuffisant aortique
Chronique

Ao = aorte; AP = artère pulmonaire; CAo = crosse aortique; OD = oreillette droite; OG = oreillette gauche; RAo = régurgitation aortique; VAO = valve aortique; VCI = veine cave inférieure; VCS = veine cave supérieure; VD = ventricule droit; VG = ventricule gauche; VMi = valve mitrale; Vp = valve pulmonaire; VP = veines pulmonaires; Vtri = valve tricuspide.

Figure 8 et Figure 9 : Schémas illustrant la morphologie de cœurs présentant une surcharge de volume (à droite) en comparaison à un cœur normal (à gauche).

1.6.2. Manifestations cliniques et évaluation :

1.6.2.1. Présentation :

Les symptômes communs de l'insuffisance aortique incluent une dyspnée pendant l'exercice, la fatigue, la baisse de tolérance à l'exercice avec des palpitations.¹

1.6.2.2. Moyens diagnostiques :

Dans l'IA chronique, la radiographie thoracique peut montrer un VG plus large, ce qu'on ne voit pas dans l'IA aigüe où on rencontre plutôt une congestion vasculaire pulmonaire. Avec l'échocardiographie-Doppler, on peut identifier et quantifier le degré de l'IA ainsi que trouver la cause de cette pathologie. La cathétérisation avec l'angiographie de contraste peut aussi être utilisée pour l'évaluation de la fonction du VG, la quantification du degré de l'IA et l'évaluation d'une co-existence avec une maladie des artères coronariennes.¹

1.6.3. Adaptation du VG suite à l'insuffisance de la valve aortique :

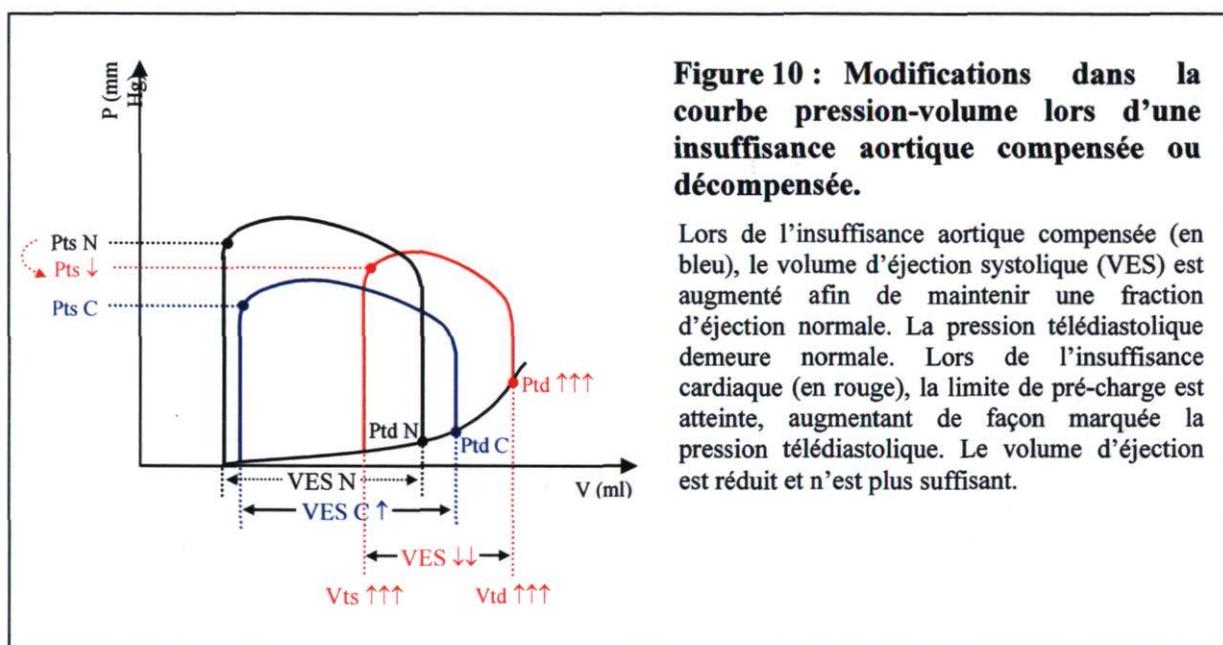
1.6.3.1. Phase aigüe d'adaptation du VG :

La surcharge de volume aigüe suite à l'atteinte de la valve aortique est considérée comme une urgence chirurgicale nécessitant souvent un remplacement valvulaire immédiat. Face à cette surcharge soudaine de volume, le VG doit s'adapter pour accueillir le surplus en sang en augmentant sa compliance et son volume télé-diastolique sans augmenter la pression de remplissage diastolique. L'augmentation du volume télé-diastolique provoque l'étirement des cardiomyocytes ce qui va provoquer l'augmentation de la contractilité de ces cellules (selon la loi de Starling).

A plus long terme, la surcharge de volume provoque une hypertrophie du VG (hypertrophie excentrique) caractérisée par une augmentation du diamètre du VG avec peu ou sans augmentation de l'épaisseur de ses parois et une réorganisation des cellules et un remodelage de la MEC du myocarde. Cette hypertrophie s'ajoute à l'augmentation de la compliance du VG pour tenter de normaliser la pré-charge et pour préserver la réserve contractile du VG en maintenant une fraction d'éjection adéquate.¹⁴

1.6.3.2. Phase chronique d'adaptation du VG :

La dilatation du VG permet au patient de rester asymptomatique pendant de nombreuses années voir des décennies. Mais à long terme, la réserve contractile du VG va s'épuiser et ce dernier va devenir moins compliant ce qui va induire une augmentation de la pression de remplissage diastolique du VG avec une baisse de la fonction diastolique du cœur. La fraction d'éjection va baisser suite à l'augmentation de la post-charge. Sans intervention chirurgicale, une surcharge de volume avec dysfonction systolique et diastolique va mener à l'insuffisance cardiaque, puis au décès du patient.¹⁵



1.6.4. Mécanismes de développement de l'hypertrophie cardiaque :

1.6.4.1. Remodelage de la MEC :

Le développement d'une hypertrophie excentrique lors d'une IA chronique survient suite à une dégradation intense de la MEC par les MMPs (surtout MMP2 et MMP9) due à une baisse de l'expression des inhibiteurs des MMPs (les TIMPs). L'expression des MMPs est stimulée suite à l'étirement des fibres ventriculaires (un stress mécanique) ainsi que par plusieurs cytokines et facteurs de croissance. La dégradation de la MEC devient plus

grande que la régénération de ses composantes. Cette condition permettra aux cardiomyocytes de se réorganiser d'une façon longitudinale et d'augmenter leur taille.¹⁶ Les fibroblastes vont devoir proliférer pour combler l'espace libéré après dégradation de la MEC et certains fibroblastes vont acquérir une propriété contractile en se transformant en myofibroblastes.^{17;18}

Le développement de l'hypertrophie est considéré initialement comme compensatoire car elle permet au cœur de garder une bonne fonction myocardique (la phase asymptomatique de la maladie) pendant plusieurs années. L'hypertrophie peut aussi induire plusieurs troubles cardiovasculaires comme des arythmies, une insuffisance coronarienne fonctionnelle et l'IC, et ainsi augmenter aussi le risque de mortalité cardiovasculaire.¹⁷

1.6.4.2. La fibrose myocardique :

La fibrose serait impliquée dans le remodelage myocardique surtout par le remplacement des cardiomyocytes hypertrophiés apoptotiques par des fibres de collagène de type I et de type III (secrétées par les fibroblastes). Une fibrose péri-vasculaire permettra aussi de rigidifier les vaisseaux et de diminuer leur irrigation et en conséquence favoriser l'ischémie et la nécrose des cardiomyocytes. La fibrose interstitielle entraîne un durcissement des parois du VG et de limiter ainsi l'étirement des cardiomyocytes. La fibrose myocardique peut favoriser une diminution de la fonction systolique par une atteinte de la contractilité suite à la nécrose cellulaire et affecter aussi la fonction diastolique par la diminution de la compliance du VG suite à l'augmentation du tissu fibreux.¹⁸

1.6.4.3. Rôle des protéines kinases activatrice de la mitogène (MAPK) :

Les MAP kinases (mitogen activated protein kinases) sont des protéines sérine/thréonine kinases. Elles peuvent être stimulées suite à l'activation d'une protéine G par un médiateur hormonal via les RCPG (les récepteurs couplées aux protéines G) ou suite à l'activation des récepteurs tyrosine kinase par des facteurs de croissance. Les MAP

kinases sont représentées par trois familles : ERK, JNK et p38. ERK est activé par des facteurs de croissance (comme l'EGF, le PDGF, le CTGF et le VEGF) ainsi que par des peptides hormonaux (comme l'ANGII, l'ET-1 et les agonistes α -adrénergiques) ou suite à un stress cellulaire. ERK, une fois activé, permet l'induction des facteurs de transcription responsables de l'activation de gènes impliqués dans la différenciation, la prolifération et la croissance cellulaire. Les deux autres MAP Kinases (JNK et p38), une fois activées suite à un stress cellulaire ou par des cytokines inflammatoires ou des peptides hormonaux, permettront l'induction des facteurs de transcription responsables de l'activation de gènes impliqués dans l'hypertrophie et le contrôle de l'apoptose cellulaire.^{11;60}

1.6.4.4. Implication du stress oxydatif :

Le stress oxydatif est un type d'agression des constituants de la cellule dû aux espèces réactives oxygénées (ROS : *Reactive Oxygen Species*) et aux espèces réactives oxygénées et azotées (RONS : N pour *Nitrogen*) oxydantes. Ces espèces sont, par définition, des radicaux libres. Par assimilation, le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) est considéré comme une ROS car en présence de fer (sous forme ionique) il se dismute en deux radicaux hydroxyle ($OH\cdot$) (Réaction de Haber-Weiss).

La production de ROS et RONS est normale pour tous les organismes vivants en aérobie et ne constitue pas en soi une situation de stress oxydant parce que la cellule dispose d'un système complexe de détoxification contre les ROS comprenant des enzymes (superoxyde dismutase, catalase, glutathion peroxydase) et de petites molécules (vitamine E, vitamine C). En situation physiologique, l'anion superoxyde ($O_2\cdot^-$) est produit essentiellement par les NADPH oxydases (NOX) dont on connaît 5 iso-enzymes et le monoxyde d'azote ($NO\cdot$) par la famille des NO synthases (3 isoformes). Le stress oxydant devient une situation pathologique dès que le système de protection est submergé par les ROS et RONS.¹⁹⁻²⁵

Le stress oxydatif est un facteur d'inflammation et de mutagenèse mais il est aussi considéré comme une cause de cancers et jouerait aussi un rôle dans la maladie

d'Alzheimer ainsi que dans plusieurs pathologies plus courantes telles que les maladies cardio-vasculaires, les accidents cérébro-vasculaires, l'arthrite rhumatoïde ou les cataractes. Les antioxydants bien dosés pourraient théoriquement diminuer ces dégâts mais cela reste à démontrer.

Le développement de l'hypertrophie ventriculaire gauche est accompagné par une augmentation de la peroxydation électrophilique des lipides par les radicaux libres et la production du 4-hydroxy-2-nonenal (HNE). La surproduction du HNE induit la formation des complexes HNE-LKB1 et l'inhibition du LKB1 et en conséquence l'inhibition de l'AMP Kinase. Sachant que le complexe LKB1-AMP Kinase inhibe la voie de signalisation mTOR/p70S6 kinase pro-hypertrophique, l'inhibition du complexe LKB1-AMP Kinase induit une sur-activation de la voie mTOR/p70S6 et une production de l'hypertrophie au niveau du VG. Il faut noter que la LKB1 est une protéine de type sérine/thréonine kinase présente chez toutes les cellules eukaryotes et l'AMP Kinase est l'une des quatorze substrats de LKB1. Une étude chez le rat a démontré que le resveratrol prévient l'inhibition du complexe LKB1-AMPK : ainsi la voie mTOR/p70S6 reste inhibée et en conséquence il y a moins d'hypertrophie.²⁶

Le resveratrol est une molécule présente en abondance dans les raisins rouges, les mûres et les cacahuètes. On lui attribue des effets bénéfiques, tels qu'une action protectrice contre le cancer, ou un effet anti-oxydant, antiviral, neuroprotecteur, anti-âge ou encore anti-inflammatoire.

1.6.4.5. Degré de capillarisation du tissu myocardique :

La densité capillaire du tissu myocardique joue un rôle important dans le remodelage myocardique dans la surcharge de volume. Une baisse de la densité capillaire dans un tissu myocardique hypertrophié peut induire une nécrose de ses cellules (par manque de nutriments et d'oxygène) et aussi une augmentation de la susceptibilité aux arythmies¹⁰⁴.

1.6.5. Implication du système adrénérgique (SA) :

Les altérations neuro-hormonales au niveau du cœur dans la surcharge de volume sont caractérisées par une hyper-activation sympathique avec des taux élevés en catécholamines et en facteurs vasoconstricteurs circulants et paracrines comme l'angiotensine, la vasopressine et l'endothéline. Un excès en catécholamines circulants a des effets à court et à long terme sur le système cardiovasculaire. A court terme, une sur-activation via la norepinephrine induit une augmentation du taux d'adénosine mono-phosphate (AMPc) intra-cellulaire par le biais de la voie de signalisation de l'adénylate cyclase. Ceci va induire une phosphorylation des canaux calciques ce qui va augmenter en conséquence l'influx du calcium vers l'intérieur des cellules. Cette augmentation de la concentration du calcium intra-cellulaire fait augmenter le nombre des ponts de couplage des filaments d'actine avec les filaments de myosine et induit une augmentation de la contractilité du muscle cardiaque (effet inotrope positif) et en conséquence le maintien du débit cardiaque. Cependant, une activation sympathique chronique induit une diminution du nombre de récepteurs β -adrénérgiques exprimés à la membrane des cardiomyocytes (down-regulation) et provoque le découplage de ces récepteurs de l'adénylate cyclase par des mécanismes encore mal connus. L'excès en catécholamines induit une toxicité dans les cardiomyocytes par une consommation accrue de l'oxygène myocardique, par une tachycardie, par l'apoptose, par une baisse du seuil d'arythmie et une activation du système rénine-angiotensine-aldostérone.

Les récepteurs adrénérgiques sont des membres de la superfamille des récepteurs couplés aux protéines G. Ils forment une interface entre le système nerveux sympathique et le système cardiovasculaire. Dans plusieurs études expérimentales et cliniques réalisées sur l'IC, on s'intéressait au blocage des récepteurs β -adrénérgiques et ceci a donné des résultats positifs.

1.6.5.1. Rôles des récepteurs β 1 et β 2-adrénergiques :

Dans le cœur humain, les récepteurs β 1 et β 2 adrénergiques sont exprimés avec un ratio de 70:30. La stimulation de ces récepteurs induit une augmentation de la contractilité cardiaque (effet inotrope positif) et une augmentation de la fréquence cardiaque (effet chronotrope positif) avec une augmentation de la vitesse de relaxation (effet lusitrope positif). L'activation de ces deux récepteurs est le mécanisme physiologique le plus puissant pour augmenter la performance cardiaque. Les récepteurs β 1 adrénergiques activent les protéines Gs tandis-que les récepteurs β 2 adrénergiques activent les protéines Gi et Gs. La signalisation impliquant la protéine Gs agit comme un accélérateur du récepteur alors que la signalisation impliquant la protéine Gi agit comme un frein au récepteur. La signalisation avec la protéine Gs induit l'activation d'une enzyme effectrice (adénylate cyclase) qui va induire la dissociation de l'adénosine triphosphate (ATP) en un second messenger, l'adénosine 3',5'- monophosphate cyclique (AMPC) qui va se lier à une protéine kinase A ou AMPC dépendante. Les résultats des séries de phosphorylations induites par la protéine kinase A sont : 1) activation des canaux calciques de type-L et les récepteurs de la ryanodine vont induire une augmentation de l'entrée de calcium dans la cellule; 2) le phospholamban, un modulateur du réticulum sarcoplasmique, va s'associer avec l'ATP dépendant de la pompe calcique ce qui va induire une accélération de la recapture du calcium par le réticulum sarcoplasmique ce qui va accélérer la relaxation cardiaque; 3) la troponine I et la myosine vont se lier à la protéine C induisant une baisse de la sensibilité des myofilaments au calcium ce qui va induire l'accélération de la relaxation des myofilaments. La signalisation avec la protéine Gi induit une diminution du niveau de l'AMP cyclique avec une activation de la protéine kinase activatrice du mitogène (MAPKinase) et contribue à la régulation de la signalisation du récepteur avec une activation de la transcription nucléaire.²⁷⁻³⁰

1.6.5.2. Rôles des récepteurs β 3-adrénergiques :

Les récepteurs β 3-adrénergiques sont inactifs dans des conditions physiologiques normales. Cependant, leurs stimulation induit un effet inotrope négatif via la voie de

signalisation de NO synthase.^{31;32} Cet effet est l'inverse de l'effet induit par la stimulation des récepteurs β_1 et β_2 adrénergiques. Cette voie de signalisation est utilisée par la cellule comme une voie de sauvetage contre les stimulations adrénergiques intenses. L'expression des récepteurs β_3 -adrénergiques augmente au niveau des cardiomyocytes du VG dans l'insuffisance cardiaque ce qui implique que ces récepteurs jouent un rôle dans le remodelage du VG pendant la progression de la maladie mais les mécanismes impliqués restent inconnus.³³ Une étude animale chez des rats insuffisants cardiaques a démontré que le carvedilol diminue l'expression des récepteurs β_3 -adrénergiques, ce qui pourra expliquer en partie les effets bénéfiques du carvedilol sur l'hypertrophie et les fonctions du VG. La même étude a comparé les effets du carvedilol (un antagoniste β -adrénergique non sélectif/ α_1 -adrénergique sélectif) versus ceux du métoprolol (un antagoniste β_1 -adrénergique sélectif) sur l'expression des récepteurs β_3 -adrénergiques et sur le remodelage et la fonction du VG. Contrairement au carvedilol, le métoprolol n'a pas d'effet sur l'expression des récepteurs β_3 -adrénergiques. Les effets du carvedilol étaient meilleurs comparativement aux effets du métoprolol sur le remodelage et la fonction cardiaque.³⁴

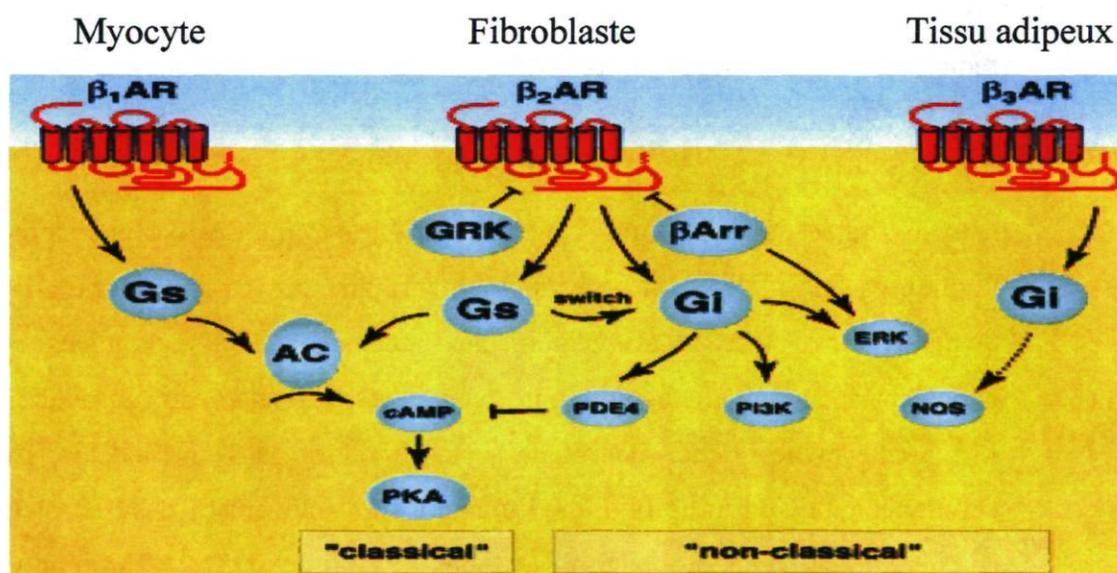


Figure 11 : Voies de signalisation des récepteurs β -adrénergiques.

Image tirée de <http://circres.ahajournals.org/content/vol93/issue10>.

1.6.5.3. Rôles des récepteurs α -adrénergiques :

Les chercheurs s'intéressaient moins à l'implication des récepteurs α -adrénergiques dans l'insuffisance cardiaque en raison des résultats non satisfaisants d'une étude clinique visant à établir le rôle du blocage des récepteurs α -adrénergiques dans l'insuffisance cardiaque. L'antagonisme des récepteurs α -adrénergiques est donc devenu une option thérapeutique oubliée pendant un certain temps jusqu'à la publication de l'étude clinique COMET qui a démontré que l'effet du carvedilol sur la survie est supérieur à celui d'un antagoniste β 1-adrénergique sélectif (métoprolol)⁸⁹.

Il existe deux classes de récepteurs α -adrénergiques (α 1 et α 2) et chacune est composée de trois sous-types. Les sous-types des récepteurs α -adrénergiques diffèrent les uns des autres au niveau de la structure, du couplage aux protéines G, de la distribution tissulaire, de la signalisation, de la régulation et des fonctions. Les artères majeures (incluant l'aorte, les artères pulmonaires, les vaisseaux mésentériques et les artères coronariennes) sont riches en récepteurs α 1-adrénergiques et l'activation de ces récepteurs par des agonistes endogènes (épinephrine et norépinéphrine) contribue à la régulation du flux sanguin par une vasoconstriction. Ces récepteurs sont impliqués dans plusieurs mécanismes physiopathologiques tels :

- L'hypertrophie des cardiomyocytes : il a été prouvé que les catécholamines sont impliquées dans la pathogenèse de l'hypertrophie des cardiomyocytes. Il a été démontré aussi que la stimulation des récepteurs α 1-adrénergiques avec la phényléphrine induit une hypertrophie de myocytes néonataux du ventricule;
- L'ischémie myocardique : une étude a pu démontrer dans un modèle d'ischémie coronarienne que l'utilisation de l'urapidil (un antagoniste des récepteurs α 1-adrénergiques) améliore significativement le flux TIMI (Thrombolysis In Myocardial Infarction), la vitesse moyenne du flux diastolique et la fonction du VG. Par contre, l'utilisation de l'aténolol (un antagoniste des récepteurs β -adrénergiques) n'améliore pas ces paramètres, ce qui implique l'importance de

l'atténuation de la vasoconstriction pour préserver la fonction du VG chez les ischémiques;

- Effets hémodynamiques : les récepteurs α 1-adrénergiques sont responsables d'une réponse de vasoconstriction post-synaptique au niveau des vaisseaux périphériques et des artères coronariennes. La stimulation de ces récepteurs ne diminue pas le flux sanguin coronarien dans des artères coronariennes normales, probablement à cause des facteurs de relaxation dérivés de l'endothélium qui vont équilibrer la balance vasoconstriction-vasodilatation. Par contre, en présence d'athérosclérose, la réponse de vasoconstriction après stimulation des récepteurs α 1-adrénergiques est largement supérieure;
- Les récepteurs α 1-adrénergiques et l'apoptose : l'apoptose est induite suite à une stimulation des récepteurs α 1-adrénergiques au niveau des cardiomyocytes. La stimulation excessive de ces récepteurs par les agonistes du système adrénergique induit une diminution du nombre des cardiomyocytes due à l'apoptose. L'apoptose diminue la fonction ventriculaire;
- Les récepteurs α 1-adrénergiques et les arrhythmies : la stimulation des récepteurs α 1-adrénergiques induit une augmentation de l'inotropie, la prolongation du temps de repolarisation et une période réfractaire effective et diminue l'automatisme des cellules Purkinje. Des études animales ont démontré que les systèmes α et β adrénergiques jouent un rôle synergique dans la genèse des arrhythmies.^{35;36}

1.6.5.4. Désensibilisation et internalisation des récepteurs adrénergiques :

Les récepteurs couplés aux protéines G (GPCRs) sont des récepteurs à sept domaines transmembranaires (TM). Cette classe de récepteurs est la plus importante des récepteurs de la membrane plasmique. La signalisation des GPCRs nécessite une interaction ligand-dépendante de trois classes distinctes de protéines : un récepteur à sept domaines TM, une protéine G hétérotrimérique avec une enzyme effectrice ou un canal ionique. La stimulation du GPCR par un agoniste active la protéine G couplée au récepteur qui à son tour va activer un effecteur (une enzyme (adenylyl cyclase) ou un canal ionique) qui va recruter un second messenger (exemple : AMPc ou le DAG) et la signalisation se poursuit jusqu'à l'obtention

de l'effet biologique. Cette signalisation se termine par une désensibilisation du récepteur par une kinase de la protéine G (GRK). Cette kinase phosphoryle le récepteur par le recrutement d'une β -arrestine qui va empêcher l'interaction de la protéine G avec le récepteur ce qui va mettre fin à la signalisation. Dans le cas des récepteurs β 2-adrénrgiques, les β -arrestines empêchent l'interaction de la protéine G avec le récepteur et recrutent aussi des enzymes qui vont dégrader les seconds messagers intra-cellulaires (exemple : la phosphodiésterase 4 type D variant 5 dépendante de l'AMPc (PDE4D5)). Suite à la dégradation de l'AMPc, le taux de cette dernière baisse et en conséquence, la PKA (protéine kinase A) est moins activée par l'AMPc réduisant les effets biologiques (mobilité cellulaire, contractilité et transcription).^{37;38}

Le récepteur GPCR désensibilisé sera internalisé par endocytose (par des protéines d'endocytose comme la clathrine, AP-2, les phosphoinositides, GAPs (GTPase activating proteins) ou GEFs (Guanine nucleotide Exchange Factors)) puis recyclé ou dégradé.^{37;38}

Une stimulation intense et prolongée des récepteurs adrénrgiques par les médiateurs du système adrénrgique (adrénaline, noradrénaline) induit une baisse de la densité de ces récepteurs à la surface des cardiomyocytes par désensibilisation puis internalisation de ces récepteurs et par une baisse de leur expression génique. La baisse de la densité des récepteurs adrénrgiques est accompagnée par une baisse de l'intensité de l'effet biologique induit par les médiateurs du système adrénrgique. Les β -bloqueurs (carvédilol, métoprol) ont démontré leurs efficacité pour restorer la densité des récepteurs adrénrgiques à la surface des cardiomyocytes.^{39;40}

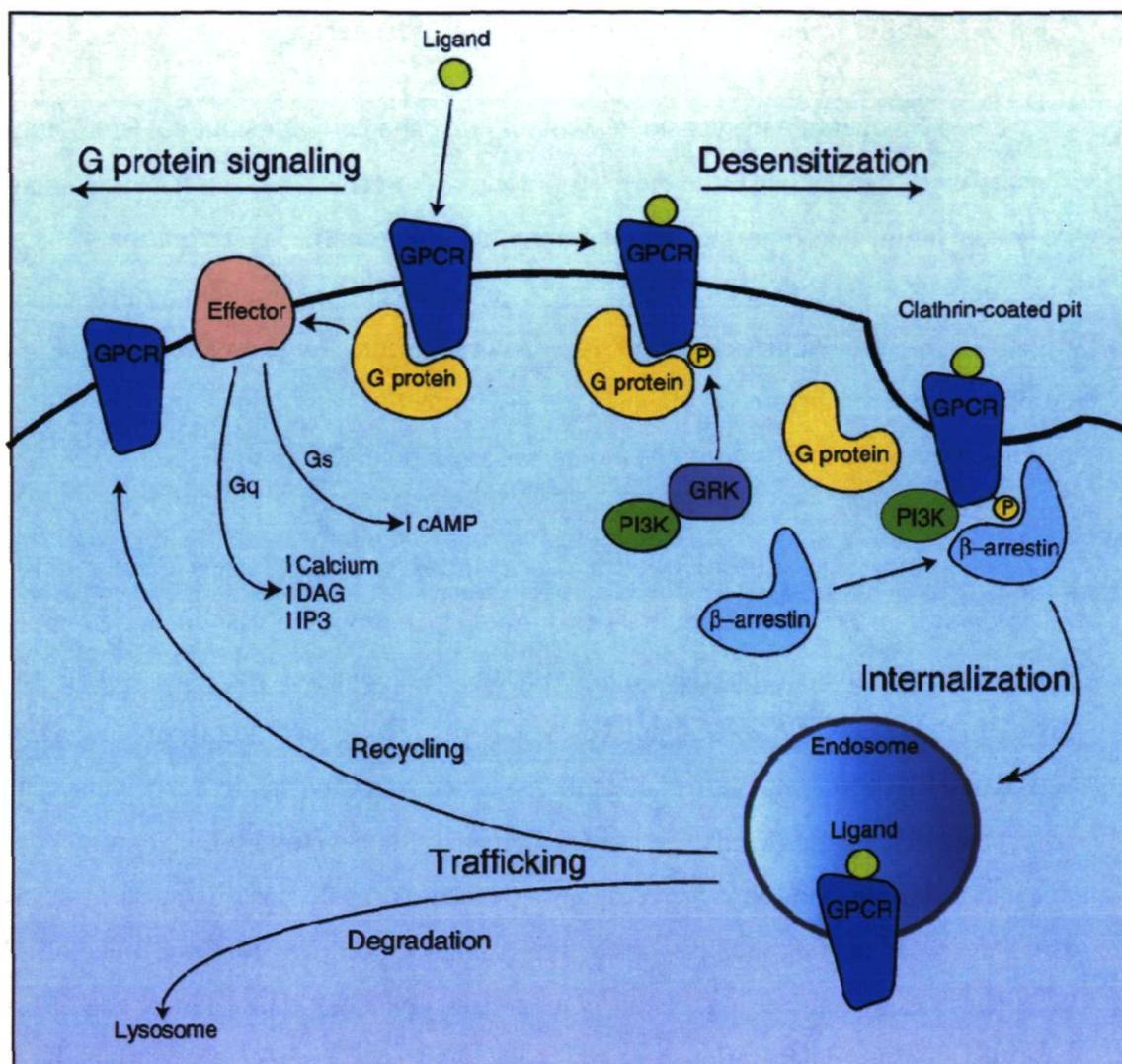


Figure 12 : Désensibilisation des récepteurs β -adrénergiques par phosphorylation.

Image tirée de: Patel P.A, Tilley D.G, Rockman H.A. Physiologic and cardiac roles of β -arrestins. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 2009; 46: 300–308.

1.6.5.5. Inhibition pharmacologique du système adrénergique :

Les β -bloqueurs sont considérés comme des agents thérapeutiques entre autres dans l'insuffisance cardiaque. Ils exercent un effet cardio-protecteur direct par : l'antagonisme de l'activation neuro-hormonale (système adrénergique), la restauration du ratio des récepteurs β_1 et β_2 , la restauration du couplage des récepteurs β -adrénergiques à l'adénylate cyclase, un effet anti-ischémique secondaire à une augmentation de la perfusion coronarienne en diastole, une baisse de la fréquence cardiaque, une diminution de la demande en oxygène myocardique et une baisse du potentiel arythmique.⁴¹⁻⁴⁴

Les β -bloqueurs diffèrent les uns des autres par leurs effets différentiels sur les récepteurs β_1 , β_2 et α -adrénergiques ainsi que par la propriété vasodilatatrice et par l'effet sympathomimétique intrinsèque. Les molécules β -bloquantes présentes sur le marché se divisent en trois générations. Les molécules de la première génération (propranolol) sont non-sélectives et ils ont une affinité égale pour les deux types de récepteurs (β_1 et β_2 -adrénergiques). Les molécules de la seconde génération (métoprolol, bisoprolol et aténolol) ont une affinité élevée pour les récepteurs β_1 , mais à haute dose ils agissent sur les deux types de récepteurs (β_1 et β_2) avec une affinité égale. La troisième génération a une propriété vasodilatatrice unique en comparaison avec les deux autres générations. Les molécules de cette génération sont non sélectives pour les récepteurs β_1 et β_2 (comme labétalol, carvédilol ou bucindolol) ou sélectives (affinité élevée pour les récepteurs β_1 comme nébivolol). Les trois molécules (labétalol, bucindolol et carvédilol) induisent une vasodilatation périphérique via un blocage des récepteurs α_1 -adrénergiques.⁴⁵⁻⁵⁰ Le nébivolol induit une vasodilatation en influençant l'endothélium qui va médier la voie L-arginine/Oxyde nitrique.⁵¹ Les β -bloqueurs vasodilatateurs donnent aussi un effet métabolique favorable par rapport aux molécules de la première et la deuxième génération.⁵² Carvédilol (vs. métoprolol) et nébivolol (vs. aténolol) ont pu rétablir la sensibilité à l'insuline dans un modèle d'insuffisance cardiaque.⁴⁴ Certains β -bloqueurs ont une activité sympathomimétique intrinsèque induite par leur agonisme partiel sur les récepteurs β -adrénergiques en plus de leur effet antagoniste du système sympathique.⁴⁴ L'acébutolol et le bucindolol peuvent atténuer la baisse de la fréquence cardiaque et

l'augmentation de la résistance vasculaire périphérique observées avec des β -bloqueurs non sélectifs.⁴⁴ Certaines β -bloqueurs ont une activité anti-oxydante (carvédilol, bisoprolol) potentiellement protectrice dans le traitement de l'insuffisance cardiaque.^{53;54}

1.6.6. Implication du système rénine-angiotensine-aldostérone (SRAA) :

Le système RAA systémique a un rôle important dans la régulation de la pression sanguine et de la perfusion rénale par l'action de l'angiotensine II et de l'aldostérone. Suite à une hypo-perfusion rénale suivie d'une baisse de la pression sanguine, les reins secrètent la rénine qui est responsable de la transformation de l'angiotensinogène (secrété par le foie) en angiotensine I qui sera transformée à son tour en angiotensine II par l'action de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA, sécrétée par les poumons et les reins). L'angiotensine II par son action sur les récepteurs AT1 induit la libération de l'aldostérone par la surrénale. L'angiotensine II et l'aldostérone induisent une réabsorption tubulaire du sodium, une rétention de l'eau avec une excrétion du potassium. L'angiotensine II induit aussi une vasoconstriction artériolaire (pour augmenter la pression sanguine) et une stimulation de la glande hypophyse pour sécréter l'hormone ADH qui va induire une réabsorption d'eau au niveau du tube collecteur (au niveau des reins). L'angiotensine II induit aussi une augmentation de l'activité sympathique. Tous ces effets de l'angiotensine II et de l'aldostérone vont permettre de rétablir la perfusion rénale et la pression sanguine.

Il a été démontré dans plusieurs études que les composantes du système RAA seraient synthétisées et sécrétées localement au niveau du myocarde et qu'elles sont impliquées dans plusieurs pathologies cardiovasculaires : il s'agit du système RAA tissulaire.⁵⁵

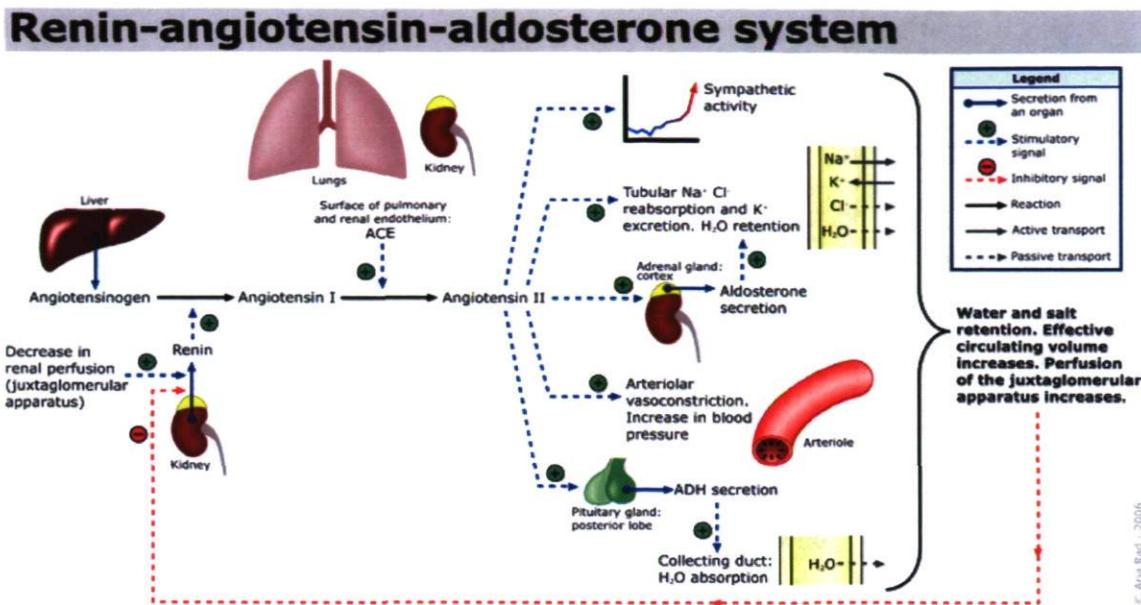


Figure 13 : Le système rénine-angiotensine-aldostérone.

Image tirée de : Encyclopédie libre Wikipédia. Système rénine-angiotensine-aldostérone.

1.6.6.1. Implication des récepteurs AT1 :

Deux types distincts de récepteurs à l'angiotensine II sont exprimés à la surface des cellules cardiaques. Ils appartiennent à la superfamille des récepteurs couplés à la protéine G.⁵⁶ La plupart des effets physiologiques de l'angiotensine II sont induits par la stimulation des récepteurs AT1. Les récepteurs AT1 et AT2 une fois activés exercent un effet antagoniste l'un envers l'autre. Les récepteurs AT1 induisent la croissance cellulaire, tandis que les récepteurs AT2 l'inhibent.⁵⁷

Plusieurs études ont démontré que l'angiotensine II exerce via les récepteurs AT1 un effet pro-hypertrophique⁵⁸, pro-arythmique⁵⁹ et pro-fibrotique⁵⁸ dans le myocarde ce qui prouve son implication dans plusieurs maladies cardio-vasculaires. Une surexpression en angiotensine II induit une augmentation de l'activité sympathique.⁶⁰

1.6.6.2. Implication des récepteurs AT2 :

Les récepteurs de type II de l'angiotensine II sont exprimés de façon prédominante pendant les périodes foetale et néonatale. Ils sont présents à un taux faible dans le myocarde adulte mais ils sont surexprimés en cas de remodelage vasculaire et myocardique. Plusieurs études animales ont démontré que la stimulation des récepteurs AT2 induit des effets antiprolifératifs au niveau des cellules lisses endothéliales et vasculaires et modifie les réponses de stimulation de croissance et de fibrogénèse au niveau du VG. Dans des modèles animaux in-vitro et in-vivo, la stimulation des récepteurs AT2 par un agoniste non peptidique « Compound 21 » induit des effets cardio-, néphro-, et vaso-protecteurs. Le Compound 21 n'a pas d'effet sur la pression sanguine mais il améliore les fonctions systolique et diastolique après un infarctus du myocarde par des mécanismes anti-apoptotiques et anti-inflammatoires.^{57;61-65}

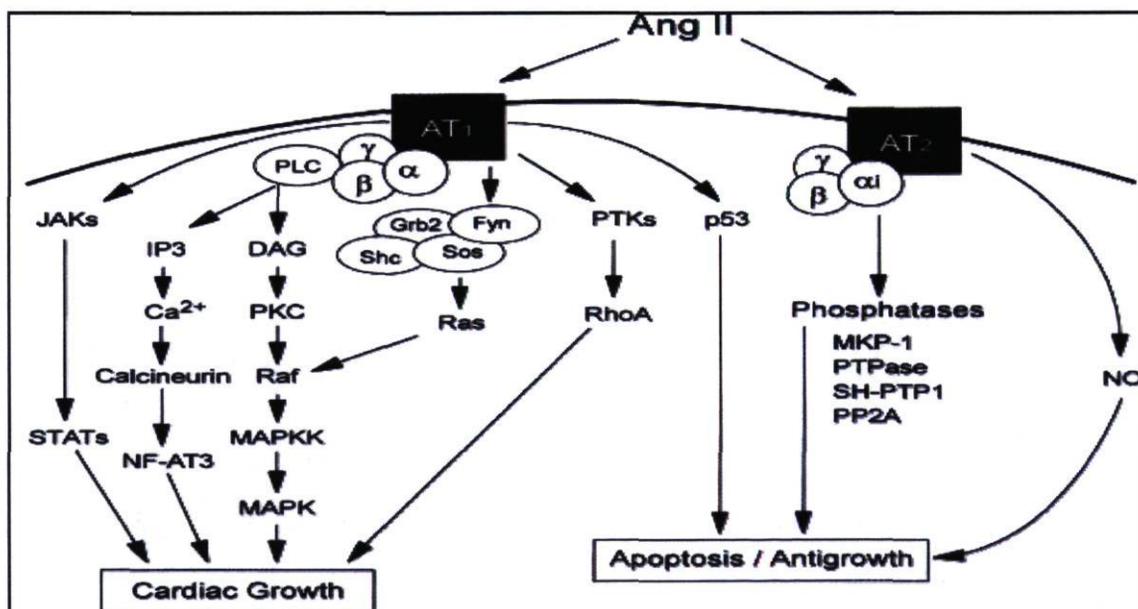


Figure 14 : Voies de signalisation des récepteurs d'angiotensine AT1 et AT2.

Image tirée de D.E. Dostal / *Regulatory Peptides* 91 (2000) 1-11

1.6.6.3. Implication de l'Aldostérone :

L'aldostérone est une hormone stéroïdienne (minéralo-corticoïde) sécrétée par la *zona glomerulosa* de la surrénale. C'est le produit final du système rénine-angiotensine-aldostérone. L'aldostérone agit principalement comme régulateur majeur de l'homéostasie des fluides et des électrolytes du corps par son action sur les cellules principales du tube collecteur rénal via le récepteur des minéralocorticoïdes. Il induit une réabsorption de sodium (Na^+) et de l'eau avec une excrétion de potassium (K^+). Récemment, il a été démontré dans plusieurs études que l'aldostérone, en plus de son action classique, exerce des effets non classiques dans les tissus épithéliaux et non épithéliaux incluant l'inflammation et la fibrose responsables de dommages cardiaques, vasculaires et rénaux. L'activation des récepteurs minéralocorticoïdes induit une inflammation vasculaire, le stress oxydatif, l'hypertrophie et la fibrose cardiaque. L'hypertrophie du VG est associée à l'hyper-aldostéronisme dans l'hypertension. L'angiotensine II via l'activation des récepteurs AT1 induit la production et la libération de l'aldostérone. L'aldostérone, en revanche, induit une augmentation de l'activité de l'ACE et une surexpression des récepteurs AT1. L'angiotensine II et l'aldostérone modulent les voies de signalisation et la fonction cardiovasculaire d'une façon synergique ou via une interférence entre leurs récepteurs. Pour l'instant, il n'y a pas beaucoup d'informations concernant l'interaction entre l'angiotensine II et l'aldostérone pour produire des dommages tissulaires.⁶⁶

1.6.6.4. Inhibition pharmacologique du système RAA :

Les molécules pharmacologiques permettant de bloquer le système RAA constituent une option thérapeutique majeure dans le traitement de l'IC sévère. Le blocage du système RAA se fait à plusieurs niveaux : soit au niveau de la production de l'angiotensine II par l'inhibition de l'enzyme de conversion de l'angiotensine par des IECA⁶⁷⁻⁶⁹; soit au niveau des récepteurs de l'angiotensine II (AT1) par un antagonisme compétitif avec des ARA⁶⁹; soit par l'inhibition de l'aldostérone.⁷⁰⁻⁷⁸ La combinaison d'un IECA avec un inhibiteur d'aldostérone donne un meilleur effet dans le traitement de l'IC par une meilleure

protection de la fonction cardiaque par une diminution de l'hypertrophie ventriculaire et une diminution de la fibrose myocardique.⁷⁹

1.6.7. Prise en charge clinique de l'IA chronique :

Les patients avec une IA asymptomatiques sont suivis avec des examens périodiques par échocardiographie pour évaluer la fonction du VG. Les patients avec une IA sévère symptomatiques ou asymptomatiques mais avec une fraction d'éjection <50% doivent subir une chirurgie de remplacement valvulaire pour prévenir une détérioration progressive de la fonction cardiaque¹. Il s'agit d'une chirurgie à risque, lourde, qui coûte cher au système de santé et qui n'est pas accessible à tout le monde. Il serait très bénéfique de pouvoir retarder le recours à cette chirurgie avec un traitement pharmacologique.

1.6.7.1. Traitements pharmacologiques :

Des études cliniques réalisées pour évaluer les effets des vasodilatateurs périphériques sur l'IA chronique ont donné des résultats contradictoires. Sur la base de ces études, les guides de pratique ont longtemps recommandé l'utilisation des vasodilatateurs périphériques pour retarder le besoin d'une chirurgie de remplacement et ce jusqu'en 2006 (recommandation de classe 1, ACC/AHA). Les vasodilatateurs recommandés étaient : les bloqueurs calciques de type dihydropyridine (nifédipine, amlodipine et félodipine), les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (IECA, captopril et énalapril) et l'hydralazine. Les bloqueurs calciques de type dihydropyridine étaient utilisés pour leur effet inhibiteur de l'entrée de calcium dans les cellules musculaires lisses qui induit une vasodilatation artériolaire. Les IECA bloquent la synthèse de l'angiotensine II qui est un puissant vasoconstricteur induisant ainsi une vasodilatation. Les deux dernières classes médicamenteuses induisent une vasodilatation périphérique réduisant ainsi les résistances périphériques et diminuant la post-charge. L'hydralazine était utilisée seulement dans le cas d'une contre-indication aux vasodilatateurs précédemment cités¹⁰¹.

1.6.7.2. Les recommandations actuelles :

En 2006, les guides de pratique ont changé et l'utilisation des vasodilatateurs chez les patient IA chronique sévère asymptomatique est devenue une recommandation de classe 2B (utilisation controversée)⁸⁰ et ce suite à la publication des résultats négatifs d'une étude clinique réalisée chez des patients IA chronique sévère qui a comparé les effets de la nifédipine et de l'énalapril à un placebo.⁸¹ Une thérapie avec des vasodilatateurs demeure recommandée pour les patients IA chronique sévère symptomatique et/ou présentant une dysfonction ventriculaire mais qui ne peuvent subir une intervention chirurgicale (voir tableau 2).⁸⁰

	Indication	Classe	Évidence
1	Thérapie chronique des patients avec régurgitation sévère avec symptômes et/ou une dysfonction ventriculaire gauche chez qui la chirurgie n'est pas recommandée.	I	B
2	Thérapie à long terme chez les patients asymptomatiques avec IA sévère présentant une dilatation du VG sans dysfonction systolique.	IIb	B
3	Thérapie à court terme pour améliorer le profile hémodynamique des patients présentant une dysfonction ventriculaire sévère et des symptômes d'insuffisance cardiaque sévère dans l'attente d'une chirurgie de remplacement valvulaire.	IIa	C
4	Thérapie à long terme chez les patients asymptomatiques avec IA légère à modérée et une fonction systolique normale.	III	B
5	Thérapie à long terme chez les patients asymptomatiques présentant une dysfonction systolique et qui sont admissibles à la chirurgie de remplacement de valve.	III	C
6	Thérapie à long terme chez les patients symptomatiques avec fonction systolique normale ou une dysfonction systolique légère à modérée et qui sont admissibles à la chirurgie de remplacement de valve.	III	C

Classe I : Conditions pour lesquelles il y a une évidence et/ou un accord général que le traitement est bénéfique, utile et efficace.

Classe IIa : Conditions pour lesquelles il y a une évidence confuse et/ou une divergence d'opinion concernant l'utile et l'efficacité du traitement; en faveur de l'utilité et de l'efficacité.

Classe IIb : Conditions pour lesquelles il y a une évidence confuse et/ou une divergence d'opinion concernant l'utile et l'efficacité du traitement; utilité et efficacité incertaine.

Classe III : Conditions pour lesquelles il y a une évidence et/ou un accord général que la procédure n'est pas utile et peut même être dangereuse dans certains cas.

Évidence B : Données provenant d'une seule étude randomisée ou de plusieurs études randomisées

Évidence C : Opinion d'experts

1.6.7.3. Autres possibilités thérapeutiques :

Le système adrénergique et le système rénine-angiotensine-aldostérone sont sur-activés pendant le développement de l'IA comme dans l'IC. Des molécules pharmacologiques qui permettent de contrer les effets des deux systèmes semblent être efficaces pour diminuer l'hypertrophie du VG et améliorer la fonction cardiaque (voir Tableau 3). Les vasodilatateurs périphériques semblent être efficaces par l'amélioration des conditions de charges ainsi que par le blocage de l'angiotensine II (les IECA) impliqué dans le remodelage ventriculaire et dans la synthèse de la fibrose. Le remodelage ventriculaire et l'apparition de la fibrose surviennent avant l'apparition des dysfonctions myocardiques. Il serait alors bénéfique de focaliser sur les molécules pharmacologiques qui peuvent contrer le remodelage ventriculaire et l'apparition de la fibrose⁶⁸⁻⁶⁹.

Tableau 3 : Principales études cliniques et expérimentales réalisées dans le contexte de l'IA chronique.

Investigateur	Molécule testée	Étude	Année	Journal	Résultats
R. Scognamiglio et al ¹⁰⁸	Nifédipine	Clinique	1994	NEJM	Le traitement avec le nifédipine retarde le besoin d'une chirurgie de remplacement valvulaire.
M. Lin et al ¹⁰⁹	Enalapril	Clinique	1994	JACC	L'enalapril diminue l'hypertrophie du VG et améliore les paramètres hémodynamiques.
A. Evangelista et al ⁸¹	Nifédipine/ Enalapril	Clinique	2005	NEJM	Les deux molécules ne retardent pas le recours à une chirurgie de remplacement valvulaire et n'ont pas eu d'effet sur la dilatation du VG ni sur la fonction cardiaque.
E. Plante et al ⁶⁸	Captopril	Expérim	2004	Can. J. Physiol. Pharmacol	Le captopril préserve la fonction systolique, diminue la dilatation du VG et tend à ralentir l'hypertrophie du VG.
E. Plante et al ⁸⁸	Métoprolol	Expérim	2004	Circ	Le métoprolol réduit la dilatation du VG et préserve la fonction systolique du VG.
E. Plante et al ⁸⁶	Métoprolol	Expérim	2008	Am J Physiol Heart Circ Physiol	Le métoprolol améliore le taux de survie à un an.
E. Plante et al ⁶⁹	Nifédipine/ Captopril/ Losartan	Expérim	2009	Circ Heart Fail	Le nifédipine n'a pas d'effet sur l'IA. Le captopril et le losartan diminuent l'hypertrophie et la dilatation du VG et préserve la fonction cardiaque.
U. Sampat et al ⁹⁹	β-bloqueurs	Clinique	2009	JACC	Les β-bloqueurs améliorent le taux de survie à 5 ans.

1.7. Problématique et justification des travaux entrepris :

1.7.1. Problématique :

L'insuffisance aortique chronique est une pathologie cardiaque caractérisée par une surcharge volémique diastolique du ventricule gauche induite par une régurgitation anormale de sang de l'aorte vers le VG. Pour s'adapter, une dilatation et une hypertrophie excentrique du VG s'installe graduellement. Ces mécanismes d'adaptation préservent la fonction cardiaque pendant de nombreuses années ce qui constitue la phase compensée de l'IA chronique. Toutefois, à plus long-terme, la dilatation et l'hypertrophie du VG vont-elles-mêmes contribuer à la détérioration de la fonction cardiaque menant éventuellement à une dysfonction systolique et/ou diastolique et évoluant ultimement vers l'insuffisance cardiaque (IC). Il n'existe actuellement aucun traitement pharmacologique prouvé efficace dans cette maladie. Des évidences de l'activation du système rénine-angiotensine (SRA) et du système adrénergique (SA) lors de l'IA chronique compensée démontrent une certaine similitude avec la physiopathologie de l'IC compensée.^{55;82-84} Des études ont permis de démontrer que le SRA et le SA étaient précocement activés en présence d'une IA chronique bien avant la survenue d'une IC.^{68-69;88}

1.7.2. Choix du modèle animal de surcharge de volume :

Notre équipe de recherche a perfectionné un modèle animal d'insuffisance aortique chez le rat.⁸⁵ Ce modèle animal a été étudié sur une longue période (12 mois) pour prouver son efficacité.⁸⁶ On a pu tester plusieurs approches thérapeutiques grâce à ce modèle fiable et homogène et grâce à l'utilisation de l'échocardiographie (technique non-invasive).^{68-69;86-88} Les données échocardiographiques nous permettent de suivre l'évolution de la maladie et de comparer les groupes de rats traités versus non traités pour prouver l'efficacité d'un traitement pharmacologique in vivo et ensuite d'analyser les tissus directement in vitro.

1.7.3. Choix du traitement pharmacologique :

Notre équipe de recherche a testé dans le passé l'efficacité d'un bêta-bloqueur (métoprolol, un antagoniste sélectif des récepteurs β 1-adrénergique) sur l'hypertrophie et la fonction cardiaque et la survie chez des rats insuffisants aortiques.^{88;86} Le métoprolol a donné des résultats positifs avec une baisse de l'hypertrophie ventriculaire gauche et une amélioration de la fonction cardiaque mais jamais un retour à la normale (effets partiels) d'où l'importance de la recherche d'un traitement plus efficace encore. Des études cliniques ont démontré l'efficacité d'un traitement avec du carvedilol (un β -bloqueur antagoniste non sélectif β -adrénergique/antagoniste sélectif α 1-adrénergique) chez les IC en améliorant l'hypertrophie du VG et la fonction cardiaque.⁸⁹⁻⁹⁶ Les mêmes effets bénéfiques du carvedilol ont été observés dans des études animales d'IC.^{97;98} Nous avons choisi d'étudier l'efficacité du carvedilol, car c'est une molécule qui a la capacité de bloquer les deux types de récepteurs adrénergiques (β et α -adrénergiques) impliqués dans l'évolution pathologique de l'insuffisance aortique.

1.8. Hypothèse et objectifs de travail :

1.8.1. Hypothèse :

Le traitement avec du carvedilol va induire une baisse de l'hypertrophie du VG avec une amélioration de la fonction systolique et diastolique dans un modèle animal d'insuffisance aortique chronique grâce à son antagonisme au niveau des récepteurs adrénergiques β et α .

1.8.2. Objectif général :

L'objectif général de notre travail est de démontrer l'efficacité de cette molécule (carvedilol) sur l'hypertrophie du VG et la fonction cardiaque chez les rats insuffisants aortiques.

1.8.3. Objectifs spécifiques :

- 1) Évaluer la tolérabilité d'un traitement au carvedilol chez les rats IA chronique;
- 2) Comparer in vivo l'effet du carvedilol versus placebo chez les rats IA chronique sur :
 - a) La fonction systolique évaluée par échocardiographie,
 - b) La fonction diastolique évaluée par échocardiographie,
 - c) La dilatation du VG évaluée par échocardiographie,
 - d) L'HVG évaluée par échocardiographie;
 - e) L'hémodynamie systémique et intra VG
- 3) Comparer les effets du traitement par carvedilol versus placebo sur les tissus myocardiques prélevés :
 - a) Sur l'hypertrophie des cardiomyocytes,
 - b) La fibrose myocardique,
 - c) Le remodelage de la matrice extra-cellulaire,
 - d) L'expression des récepteurs adrénergiques.

Chapitre 2 :
Matériel et Méthodes

2.1. Procédure expérimentale :

L'induction chirurgicale d'une insuffisance aortique chez le rat est une technique invasive réalisée sous guidage échocardiographique. Elle consiste à canuler la carotide droite et d'introduire un cathéter jusqu'à arriver au niveau de la valve aortique puis faire des mouvements de va-et vient avec le cathéter pour perforer l'une des feuillets de la valve aortique et l'obtention d'une régurgitation sévère. Le degré de régurgitation est mesuré par échocardiographie avec le Doppler couleur et Doppler pulsé.

Les rats « shams » (contrôles) ont subi une opération fantôme qui consiste à faire une incision au niveau de la carotide droite suivie d'une ligature de cette dernière. Cette opération a pour but de créer les mêmes conditions chirurgicales subies par les rats IA pour éliminer les facteurs liés à l'opération en elle-même qui peuvent confondre notre protocole expérimental.

L'opération chirurgicale est réalisée sous anesthésie générale. L'animal reçoit une injection intra-péritonéale d'un mélange de kétamine-xylazine (0,2mg/kg pour la kétamine (Vetrepharm, Ont.) avec 0.75mg/kg pour la xylazine (Bayer Inc, Toronto, Ont.)). Pour limiter la souffrance due à l'opération, l'animal reçoit une injection en sous-cutanée d'un analgésique (buprénorphine, 0,2ml/kg de poids), avant l'opération, (6) heures post-chirurgie avec deux autres injections le lendemain.

2.2. L'utilisation de l'échocardiographie :

L'échocardiographie est une technique non invasive qui nous permet de mesurer plusieurs paramètres hémodynamiques du cœur avec les dimensions de ses différentes chambres grâce à une sonde trans-thoracique de 12-MHz couplée à un échographe Sonos 5500 (Philips Medical Imaging, Andover, MA.). Plusieurs échocardiographies complètes sont réalisées toute au long du protocole, sous anesthésie à l'isoflurane 1,5% : avant et pendant la chirurgie, à deux semaines post-chirurgie et à six mois du protocole. Des images

parasternales d'axe long et d'axe court ainsi que des images apicales des quatre chambres du cœur ont été prises. Les dimensions systoliques et diastoliques du VG ainsi que les dimensions des parois postérieure et septale ont été mesurées par la fonction M-mode. L'évaluation par le Doppler-couleur des quatre valves a été réalisée aussi. Avec le Doppler-pulsé et la valeur du diamètre de la chambre de chasse du VG, l'appareil peut calculer le débit aortique ainsi que le volume systolique. Le débit cardiaque est calculé par : volume d'éjection systolique x fréquence cardiaque; indexé au poids de l'animal pour avoir l'index cardiaque. La fraction d'éjection est calculée selon la méthode de Quinones et al¹⁰².

2.3. Cathérisation du VG :

Les pressions systolique, télé-diastolique et le dp/dt (positif et négatif) du ventricule gauche ont été mesurés par une technique invasive juste avant le sacrifice des animaux, sous anesthésie à l'isoflurane 1,5%, avec un appareil de cathétérisme cardiaque (Millar Instruments, Houston, TX, USA). La méthode consiste à introduire un cathéter dans la carotide droite après incision de cette dernière et de l'avancer dans l'aorte en premier lieu pour mesurer les pressions systolique et diastolique aortique et puis l'avancer encore plus pour arriver dans le VG où on mesure la pression de fin de diastole et le dp/dt (positif et négatif). Toutes ces mesures ont été prises au même moment de la journée pour tous les rats, soit en après-midi pour éviter les changements dus au moment de la journée et au cycle circadien des rats.

2.4. Sacrifice des animaux :

À 26 semaines du protocole, on a sacrifié l'ensemble des rats par une technique d'exsanguination suivi d'une injection de KCl directement dans le myocarde permettant d'arrêter le cœur en diastole. Les animaux ont été anesthésiés avant le sacrifice par une injection intra-péritonéale d'un mélange de kétamine-xylazine (0,2mg/kg pour la kétamine et avec 0.75mg/kg pour la xylazine. Dans un premier temps, on a récupéré et pesé le cœur et les poumons puis le cœur a été disséqué et les quatre chambres ont été pesées à leur tour.

Dans un deuxième temps, le VG a été coupé en petits morceaux. Un morceau de VG a été conservé dans une solution de RNA-later (Ambion, Austin, TX) à (-80°C) qui permettra de préserver les ARNm pour pouvoir faire des analyses semi-quantitatives avec la méthode du RT-PCR. Un deuxième morceau de VG a été conservé dans l'OCT (Optimal Cutting Temperature (CryoMatrix, Thermo Scientific, Fisher)) à (-80°C) pour pouvoir faire des coupes histologiques pour faire le marquage des capillaires du myocarde. Un troisième morceau de VG a été conservé dans la paraffine à (+4°C) pour pouvoir faire des coupes histologiques pour faire des analyses tissulaires par immuno-histochimie ainsi que par la coloration de Trichrome-Masson. Les morceaux de VG qui restaient ont été conservés à (-80°C) pour réaliser différents dosages d'activités enzymatiques.

2.5. Analyses quantitatives par RT-PCR :

L'extraction de l'ARNm total au niveau du VG a été réalisée sur des morceaux de VG conservés dans du RNA-Later (Ambion, Austin, TX). Une reverse transcriptase (RT) a été réalisée à partir de l'extrait d'ARNm pour avoir l'ADNc suivi d'une PCR pour faire l'amplification de ce dernier pour le rendre détectable. L'extraction de l'ARNm total est réalisée par une technique d'homogénéisation au Trizol (Invitrogen) qui permettra de lyser les membranes cellulaires par l'utilisation du polytron pour faire sortir l'ARNm des cellules. Plusieurs centrifugations sont faites pour séparer l'ARNm de l'ensemble des débris cellulaires et graisseux. Une partie de l'extrait d'ARNm (50 ng) a été converti en ADNc par l'utilisation d'un kit Reverse Transcriptase Quantitect (Qiagen, Valencia, CA). Cette technique permet de convertir l'ARNm en ADNc et d'éliminer l'ADN qui a échappé à l'étape de séparation des deux phases ARNm-ADN pendant l'extraction de l'ARNm. Après conversion de l'ARNm en ADNc, l'ADNc est dilué avec une dilution de 1/10^{ème} avec de l'eau. Puis, l'ADNc dilué (concentration final à 0,5ng/μL) est amplifié en duplicata avec une PCR quantitative dans un thermo-cycler (Rotor-Gene 6200, Corbett Life Science, Sidney, Australia) par l'utilisation d'un kit PCR QuantiTect SYBR Green avec des amorces QuantiTect spécifiques pour chaque gène (voir tableau 4). On inclut dans chaque cycle PCR un tube contrôle négatif échantillon (de l'eau à la place de l'échantillon) pour

s'assurer qu'il n'y a pas de contamination des tubes par l'ADN environnemental. Un autre tube contrôle a été inclus dans chaque cycle PCR c'est-à-dire un tube RT contrôle négatif (où on n'a pas mis d'enzyme RT dans le tube pendant l'étape de conversion de l'ARNm en ADNc) pour s'assurer que l'ADNc qu'on est en train d'amplifier provient de la conversion de ARNm en ADNc (l'étape précédente, RT). On inclut aussi dans chaque cycle de PCR plusieurs tubes comportant une série de dilution 1/10^{ème} d'un échantillon d'ADNc pour confirmer l'efficacité de la réaction d'amplification. La quantification de l'expression de chaque gène est basée sur la méthode $-2\Delta\Delta Ct$ ¹⁰³.

2.6. Quantification du degré de capillarisation du tissu myocardique :

Un morceau de VG a été conservé dans du OCT à -80°C pour chaque rat, puis coupé pour avoir des coupes histologiques de 8 µm d'épaisseur. Ces coupes ont été utilisées pour faire du marquage des capillaires à l'isoléctine B4 de *Bandeiraea simplicifolia* couplée à une peroxydase (Sigma, Mississauga, On, Canada). Trois images de trois régions différentes de chaque coupe ont été prises avec un grossissement de 200X. Le nombre de capillaires par coupe est calculé à partir de la moyenne des trois champs (images). Les lames ont été analysées à l'aveugle pour le groupe auquel l'animal appartenait.

2.7. Méthodes statistiques :

Les données statistiques sont exprimées en moyenne \pm erreur type et elles sont considérées significatives si le $p < 0,05$.

On a utilisé la méthode ANOVA bivariée pour analyser les données. Si une interaction significative était détectée, on faisait par la suite une analyse de Bonferroni pour confirmer l'interaction.

Les données et les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide du logiciel Graph Pad Prism version 4.02 de Windows de Graph Pad Software (San Diego CA).

Chapitre 3 : Usefulness of carvedilol in the treatment of chronic aortic valve regurgitation

Résumé

Introduction et objectifs : L'insuffisance ou la régurgitation de la valve aortique (IA) est une maladie caractérisée par un reflux de sang de l'aorte vers le ventricule gauche (VG) en diastole causant une surcharge de volume au niveau de ce dernier. Le VG compense cette surcharge en s'hypertrophiant de façon excentrique (dilatation) mais avec le temps, une baisse de la fonction s'installe. Il a été démontré que le système adrénergique est suractivé dans la surcharge de volume chronique. Cependant, l'efficacité des antagonistes adrénergiques n'a jamais été investiguée adéquatement dans l'IA. Nous avons donc testé l'effet du carvedilol (un antagoniste non-sélectif β -adrénergique/antagoniste α_1 -adrénergique; Carv) sur la fonction et le remodelage du VG dans un modèle de rat d'IA sévère. **Méthodes :** Quatre groupes de rats mâles Wistar ont été constitués (n=12/gr.): deux groupes avec opération fantôme traités ou non avec 30 mg/kg (po) de Carv et deux groupes ayant une IA induite par ponction rétrograde de la valve aortique eux aussi recevant ou non le Carv. Le protocole était d'une durée de 6 mois. Le suivi cardiaque des animaux se faisait par échocardiographie. Les cœurs ont été pesés et récupérés pour analyse en fin de protocole. **Résultats :** Le Carv diminue la dilatation du VG chez les IA (-15%; p<0.05) et préserve mieux la fonction systolique et diastolique du VG comparé aux animaux non traités. Le Carv normalise complètement la baisse d'expression des ARNm encodant pour les récepteurs β_1 et β_2 adrénergiques chez les IA ainsi que la sur-expression du collagène I. Le Carv tend aussi à normaliser la baisse de capillarisation myocardique observée dans l'IA. **Conclusion :** Dans notre modèle d'IA sévère chez le rat, le traitement avec le Carv a un effet global positif sur l'hypertrophie, la fonction et le remodelage du VG. De plus, ces résultats supportent l'importance du système adrénergique dans le développement de cette cardiomyopathie.

Title: Usefulness of carvedilol in the treatment of chronic aortic valve regurgitation

Short title: Carvedilol treatment for aortic valve regurgitation

Adnane Zendaoui PharmD*, Dominic Lachance PhD*, Élise Roussel MSc, Jacques Couet PhD and Marie Arsenault MD**

Groupe de Recherche sur les Valvulopathies, Centre de Recherche de l'Institut universitaire de Cardiologie et pneumologie de Québec, Université Laval, Quebec, Canada.

Article publié dans le journal *Circulation : Heart Failure*, 1 mars 2011. 4 (2) : 207-13.

* both authors have contributed equally to the manuscript

** Corresponding author: Marie Arsenault MD

Centre de recherche de l'Institut universitaire de Cardiologie et pneumologie de Québec.

2725 chemin Sainte-Foy,

Québec, (Quebec), Canada, G1V 4G5

Phone: 1-418-656-4510

Fax: 1-418-656-4544

Email: marie.arsenault@criucpq.ulaval.ca

Word count: 4096

Subject codes: [11] Other heart failure, [31] Echocardiography, [104] Structure, [105] Contractile function, [130] Animal models of human disease

Abstract

Background: Aortic regurgitation (AR) is a chronic disease for which there is currently no approved medical treatment. We previously reported in an animal model that beta blockade with metoprolol exerted beneficial effects on LV remodeling and survival. Despite the recent publication of promising human data beta blockade in chronic AR still remains controversial. More data is needed to support this potentially new treatment strategy. We hypothesized that carvedilol (CAR) might be another safe treatment option in chronic AR considering its combined beta and alpha blocking effects and proven efficacy in patients with established heart failure.

Methods and Results: The effects of a 6-month treatment with carvedilol 30 mg/kg/day orally were evaluated in adult Wistar rats with severe AR. Sham-operated and untreated AR animals were used as controls. Carvedilol treatment resulted in less left ventricular hypertrophy and dilatation. Ejection fraction was improved and filling pressures were reduced by carvedilol. β_1 receptor expression was also improved as well as myocardial capillary density. Those beneficial effects were noted despite the presence of drug-induced bradycardia.

Conclusions: Carvedilol exerted protective effects against volume-overload cardiomyopathy in this model of aortic valve regurgitation with preserved ejection fraction. These results suggest a protective class-effect of beta blockers. Combined with the recent publication of promising human data, our findings support the need to carefully design a prospective study in humans to evaluate the effects of beta blockers in chronic aortic valve regurgitation.

Key words:

Aortic valve regurgitation

Volume overload

Left ventricular hypertrophy

Beta blockers

Introduction:

Chronic aortic valve regurgitation (AR) is a disease for which there is no approved pharmacological treatment. Chronic AR will slowly alter the left ventricle over decades causing severe dilatation, eccentric hypertrophy and eventually diastolic and systolic heart failure. The management of patients with chronic AR is currently limited to surgical aortic valve replacement when specific clinical or echocardiographic criteria are reached (1).

Many small clinical trials have been designed over the past decades to search for an effective pharmacological treatment for AR but these trials have unfortunately been inconclusive or contradictory probably due to methodological differences or small sample size (2-4). Based on the hypothesis that the adrenergic system is over-activated early in the course of chronic AR even before heart failure occurs, we have previously evaluated the effects of beta blockade with metoprolol in an animal model of chronic AR and found that it improved LV function, reduced LV hypertrophy and increased survival (5,6). Recently, Sampat et al reported beneficial effects of beta blockers in a retrospective study of 756 patients (7). The use of beta blockers in chronic AR nevertheless remains controversial mostly in fear that drug-induced bradycardia may prolong diastole and consequently augment regurgitant time and volume. More data is needed to strengthen the hypothesis that beta blockade early in the course of chronic AR may be protective. We therefore designed the present study to evaluate another beta blocking agent: carvedilol. Considering its beta and alpha blocking properties, we hypothesized that it would improve hemodynamics and LV remodeling in rats with chronic severe AR and preserved ejection fraction.

Material and Methods:

Animal model of aortic regurgitation:

24 male Wistar rats (300-350g, Charles River, Qc, Canada) had severe AR induced by retrograde puncture of the aortic valve leaflets as previously described (8,9) and randomly divided in 2 groups (n=12/gr): 1: AR untreated and 2: AR treated with carvedilol 30 mg/kg/day orally. 20 sham operated rats were used as controls and randomly assigned to the following groups: 3: sham untreated and 4: sham treated with 30/mg/kg/day of carvedilol. AR was considered severe by echocardiography by the presence of all of the following criteria at the time of surgery: color-Doppler ratio of regurgitant jet width to LVOT diameter >50%, retrograde holo-diastolic flow in proximal descending aorta with end-diastolic velocity >18 cm/s, ratio of time-velocity integral of reversed diastolic flow to forward systolic flow in descending thoracic aorta >60% and acute increase in LV diastolic dimension during the surgical procedure. Echocardiographic criteria of AR severity had to be accompanied by an acute drop of aortic diastolic pressure of at least 30% to qualify. Animals not meeting the echographic and hemodynamic criteria were not included in the study. Drug treatment was started 2 weeks after the surgical procedure to allow recovery from the acute phase and continued for 6 months. Animals were clinically evaluated daily by experienced animal laboratory technicians for the presence of signs of heart failure (increased respiratory rate/distress and/or peripheral edema) and were weighed weekly. At the end of the protocol, surviving animals were sacrificed, hearts were quickly dissected and all cardiac chambers were weighed. LVs were snap-frozen in liquid nitrogen and kept at -80° C for further analysis. This protocol was approved by the Laval University Animal Protection Committee according to the recommendations of the Canadian Council on Laboratory Animal Care.

Echocardiography:

A complete M-Mode, 2D and Doppler echocardiogram was performed on the animals under 1.5% inhaled isoflurane anesthesia using a 12 MHz probe with a Sonos 5500 echograph (Philips Medical Imaging, Andover, MA) immediately before and during surgery and after 6 months. An echocardiogram after 2 weeks was also performed to

quantify AR before starting drug treatment to make sure all animals still met the entry criteria. Left ventricular dimensions, wall thickness, ejection fraction, diastolic function, cardiac output (ejection volume in the left ventricular outflow tract X heart rate) were evaluated as previously reported. AR was semi-quantified at each time-point as described in the previous section. Animals had to meet all the criteria of severe AR by semi-quantization at each time-point to remain included in the protocol.

Hemodynamic measurements:

Left ventricular end-diastolic pressures (LVEDP) and dP/dt (positive and negative) were measured invasively using a dedicated a 2F impedance catheter (Millar Instruments, Houston, TX) under 1.5% isoflurane anesthesia after 6 months. At other times during the protocol, systolic and diastolic blood pressures were measured non-invasively using the tail-cuff method.

Analysis of mRNA accumulation by quantitative RT-PCR:

Tissues stored frozen in RNAlater (Ambion, Austin, TX) were homogenized in Trizol (Invitrogen, Burlington, ON, Canada) and quantitative RT-PCR was conducted on the appropriate tissue samples. QuantiTech Primers (Qiagen, Mississauga, ON, Canada) used for this study are listed in Table 1. Cyclophilin A was used as a control. The quantification of gene expression was based on the $-2\Delta\Delta C_t$ method. Results are expressed relative to the sham group mRNA levels which were arbitrarily fixed at 1. Natriuretic peptide type A (ANP) and B (BNP) expressions were evaluated considering their close relation to filling pressures and symptomatic heart failure. Pro-collagens 1 and 3 as well as fibronectin expressions were studied as key components of interstitial myocardial fibrosis. The expression of myocardial adrenoreceptors β_1 , β_2 and α_1 were evaluated in the context of adrenergic blockade. The expression of key regulators of extracellular matrix (ECM) turnover (matrix metalloprotease 2 (MMP2) and tissue inhibitor of metalloprotease 1 (TIMP1) were also evaluated. The expression of lysyl oxidase was studied considering its major role in collagen fiber cross-linking. Finally, the expression of transforming growth factor beta 1 and 2 (TGF β_1 and 2) and connective tissue growth factor (CTGF) were also

studied as they are closely related to collagen and fibronectin production by myocardial fibroblasts.

Staining for capillary density measurement:

Sections of 8- μ m thickness were cut from the frozen left ventricle and were stained with isolectin B4 from *Bandeiraea simplicifolia* coupled with horseradish peroxidase (Sigma, Mississauga, Ont, Canada), and capillary density was analyzed in the subendocardial region of the LV myocardium (inner third). Pictures of three different LV fields of 8 animals per group were taken at 200X magnification. The number of capillaries per field was measured for each 3 fields and reported as a mean for each animal. The observer was blinded for the groups during the analysis.

Statistical analysis:

Results are presented as mean +/- SEM. Intergroup comparisons were done using 2-way ANOVA followed by Bonferroni post test if interaction between disease (AR) and treatment (Carv) was significant. Statistical significance was set at p values <0.05. Data and statistical analysis were performed using Graph Pad Prism version 5.02 for Windows, Graph Pad Software (San Diego CA).

Results:

Clinical data:

Carvedilol treatment was well tolerated. 4 animals died in the non-treated AR group and 3 in the AR-carvedilol group. Those deaths were sudden, occurred during the night in the awake/active cycle of the rats and were not preceded by signs of heart failure. There was no clinical heart failure in any of the animals. Body weight and tibial length (an index of growth) were similar in all groups (table 2).

Cardiac hypertrophy:

Hearts were explanted at the end of the protocol and cardiac chambers were weighed. Results are summarized in table 2. Carvedilol had no impact on the heart weight of the sham control animals. Animal with AR (treated or not) developed severe cardiac hypertrophy as shown by their increased total heart weight but carvedilol treatment significantly reduced left ventricular, right ventricular and left atrial hypertrophy.

Echocardiographic data:

The echocardiographic data obtained in anesthetized animals after 6 months of treatment are summarized in table 3. AR severity was similar in both AR groups. As expected, AR resulted in significant end-diastolic and end-systolic dilatation and eccentric remodeling (decreased relative wall thickness (RWT)). Ejection fraction remained in the normal range in AR animals although it was slightly lower than in sham groups. Carvedilol treatment in AR reduced end-diastolic and end-systolic diameters compared to untreated AR. Ejection fraction was also improved as well as the myocardial performance index (MPI).

Hemodynamic data:

Hemodynamic data obtained after 6 months in anesthetized animals are summarized in table 4. Heart rate was lower in both carvedilol groups (sham and AR). Stroke volume was not significantly affected by CAR in the AR group. The lower heart rate combined with an unchanged stroke volume resulted in a reduced calculated cardiac output in the CAR-AR compared to untreated AR. Systolic blood pressure was similar in all 4 groups. As expected in this disease both AR groups had a lower diastolic pressure and therefore an increase in pulse pressure. This was not affected by carvedilol treatment. There were no significant effects of carvedilol on $dp/dt +$ or $-$ values. LVEDP was increased in the AR group and was normalized by carvedilol treatment.

Atrial (ANP) and brain (BNP) natriuretic peptides and Follistatin-like protein 1 (fstl1) mRNA expression:

The relative expression of ANP, BNP and fstl1 mRNAs were measured after 6 months in specifically preserved LV tissues. Results are reported in figure 1. All AR groups displayed a significant increase in ANP mRNA expression as shown in the top panel of figure 1. This over-expression was significantly decreased by carvedilol treatment. BNP and Fstl1 expressions were also significantly increased in untreated AR rats and their expression was unaffected by carvedilol treatment.

Extracellular matrix (ECM) remodeling gene expression:

Results for the mRNA relative expression of collagen I, collagen III and fibronectin in LV tissue are shown in Figure 2. Collagen I mRNA expression (top panel) was increased in untreated AR animals. Carvedilol significantly reduced this over-expression of collagen I mRNA. Collagen III and fibronectin mRNA expressions were significantly increased in AR but carvedilol did not have any effect on those expressions.

The level of mRNA expression of other components of the ECM regulation (LOX1, MMP2, TIMP1, TGF β 1, TGF β 2 and CTGF) was evaluated. Results are summarized in figure 3. All expressions were increased in the AR groups compared to sham-controls.

Carvedilol tended to reduce the overexpression of LOX1 and TIMP1 while there were no significant effects on the other factors.

Adrenergic receptors:

The results of mRNA expression of adrenergic receptors β_1 , β_2 and α_1 in LV tissues are shown in figure 4. AR significantly reduced the mRNA expression of β_1 receptors in the LV tissue and normal levels were restored by carvedilol treatment. Although AR had no significant impact on β_2 receptor expression, carvedilol treatment significantly increased its expression. Myocardial α receptor mRNA expression was lower in both AR groups without any significant measurable effect of carvedilol treatment.

Capillary density in the LV myocardium:

The density of capillaries was measured in LV tissue and results are summarized in figure 5. The LVs of AR animals had a significantly lower capillary density compared to both sham groups. Carvedilol treatment tended ($p=0.08$) to normalize capillary density in AR animals.

Discussion:

The results of this study clearly demonstrate many beneficial effects of carvedilol treatment in an experimental model of severe aortic valve regurgitation with dilated hearts but still normal LV ejection fraction. AR rats treated with carvedilol for 6 months had less LV hypertrophy, less LV dilatation, improved ejection fraction and lower LV filling pressures. The mild bradycardia induced by carvedilol did not result in an increase in AR severity or stroke volume. On the contrary this mild bradycardia resulted in a decrease of cardiac output and consequently of the volume overload burden endured by the LV per minute. Carvedilol-treated AR rats also had lower LV ANP and collagen I mRNA levels. β -adrenergic receptor expression was also improved by carvedilol as well as LV capillary density. Carvedilol was well tolerated and its beneficial effects were clear despite the fact that the drug induced a slightly lower heart rate.

The issue of finding the best treatment for chronic aortic valve regurgitation remains unresolved. Vasodilators have been investigated in many small clinical trials but results have been inconsistent. The most recent treatment guidelines do not support anymore the use of vasodilators to treat chronic AR with normal ejection fraction (1). An over-activation of the adrenergic system has been reported in chronic AR models (10-15) and this finding was the basis of our previous studies of metoprolol in an experimental model of the disease. In line with our findings Sampat et al published in 2009 the results of a study of a retrospective cohort of 756 patients suggesting that beta blockers are beneficial for survival in patients with chronic AR (7). The attached editorial suggested that the recommendations not to use beta-blockers in AR patients should be removed from the treatment guidelines and that prospective large scale studies should be designed to test the effects of beta blockers in AR appropriately (16). Nevertheless fear still remains in the clinical world that beta blocker-induced bradycardia might prolong diastole and increase regurgitation time, even though this statement is not supported by any solid experimental data. It is known that patients with LV dysfunction from chronic AR respond well to beta-blocker therapy after aortic valve replacement (17). The safety of beta-blockers in patients with AR from Takayasu arteritis has been reported in a few small Japanese studies in the past but clinical data about beta-blockers in AR remains very limited (18-20).

The data we obtained in the present carvedilol study are consistent with our previous ones with metoprolol (5,6). This suggests a positive class-effect of beta-blockers to protect against volume overload cardiomyopathy induced by chronic AR while LV ejection fraction is still within normal range (in prevention of heart failure). It is noteworthy that the beneficial effects of carvedilol were present despite a relative bradycardia induced by the drug (mean of -20 bpm). This decrease in heart rate was not accompanied by an increase in AR severity or stroke volume. Although the bradycardia was modest, it was not deleterious and did not result in any negative hemodynamic impact. The rationale to choose carvedilol for this study was based on its proven effectiveness and good tolerance even in very sick patients with established systolic heart failure and on the pharmacological profile of the drug (21-23). On top of beta-blocking effects, carvedilol has been shown to have alpha-blocking properties which could theoretically be beneficial by reducing the afterload that is increased in chronic AR (24). High doses carvedilol also have theoretical anti-oxidant properties that may prove to be protective on a stressed LV myocardium. Our data confirms the β blocking effects (lower heart rate and restoration of β adrenoreceptor expression). The α blocking effects were not clearly demonstrated on measured hemodynamics (table 3) or α adrenoreceptor expression in the LV. However, direct measurements of peripheral α adrenoreceptor activity or peripheral resistance were not performed and small effects could have been missed. Peripheral α adrenoreceptor activity on explanted vessels has not been assessed and may have been positively affected by carvedilol. Considering however the lack of any measurable effects on systolic, diastolic and pulse pressures, the peripheral α blocking effect of carvedilol does not seem to be a major factor explaining the global response to the drug. However, all the pressure measurements were made on anesthetized animals. Whether measurable effects of carvedilol on these parameters would have been detected in the awake or exercising animals is a possibility that has not been assessed in this protocol.

The protective effects of carvedilol were not complete: LV hypertrophy was not totally prevented, LV dimensions did not return to normal range, BNP and follistatin-like protein 1 levels remained unaffected by carvedilol suggesting that the stress on the LV has not been completely overcome. This was expected since significant volume overload remains

present and cannot be eliminated unless mechanically corrected by valve surgery. Nevertheless, the LV remodeling process was clearly slowed and many hemodynamic parameters were significantly improved as well as the expression of many tissue components related to myocardial remodeling. Collagen I and LOX1 as well as TIMP1 over-expressions were reduced by carvedilol treatment. This suggests that carvedilol had protective effects against ECM remodeling. Carvedilol also strongly tended to improve myocardial capillary density. This increase in myocardial capillary density may have consequently improved oxygen and metabolic fuel availability and delivery to the cardiomyocytes. This may have led to optimized myocardial energetic metabolism, improved diastolic and systolic performance and decreased susceptibility of the LV to fibrosis, arrhythmia and sub-endocardial ischemia. In another animal model of the disease, bradycardial pacing improved capillary density and myocardial performance (25). However the exact mechanisms involved are not well understood.

In conclusion, carvedilol clearly exerts protective effects against volume overload cardiomyopathy in this animal model of chronic aortic valve regurgitation with dilated hearts but still normal ejection fraction. Although the protective effects of carvedilol were not complete, we did not find overall any parameters *in vivo* or on tissue analysis that were negatively affected by carvedilol treatment. These results are in line with previous data suggesting a positive class effect of beta blockers. Combined with the recent publication by Sambat et al. strongly suggesting positive effects in humans, the fear of using beta-blockers in the context of AR may be unjustified. Prospective carefully designed clinical trials testing the effects of beta blockade in AR need to be done to assess this potential new treatment avenue in a disease currently lacking any proven effective medical treatment.

Funding sources: This work was supported by operating grants to Dr Couet and Arsenault from the Canadian Institutes of Health Research (MOP-61818) and the Quebec Heart Institute Corporation.

Conflict of interest disclosures:

None to declare for all the co-authors

References:

1. Bonow RO, Carabello BA, Chatterjee K, de Leon AC Jr, Faxon DP, Freed MD, Gaasch WH, Lytle BW, Nishimura RA, O'Gara PT, O'Rourke RA, Otto CM, Shah PM, Shanewise JS, Smith SC Jr, Jacobs AK, Adams CD, Anderson JL, Antman EM, Fuster V, Halperin JL, Hiratzka LF, Hunt SA, Lytle BW, Nishimura R, Page RL, Riegel B. ACC/AHA 2006 guidelines for the management of patients with valvular heart disease. *J Am Coll Cardiol* **2006**; 48: e1-e146.
2. Mahajerin A, Gurm HS, Tsai TT. Vasodilator therapy in patients with aortic insufficiency: a systematic review. *Am Heart J* **2007**; 153: 454–461.
3. Scognamiglio R, Rahimtoola SH, Fasoli G. Nifedipine in asymptomatic patients with severe aortic regurgitation and normal left ventricular function. *N Engl J Med* **1994**; 131: 689–694.
4. Evangelista A, Tornos P, Sambola A. Long-term vasodilator therapy in patients with severe aortic regurgitation. *N Engl J Med* **2005**; 353: 1342–1349.
5. Plante E, Lachance D, Gaudreau M, Drolet MC, Roussel E, Arsenault M, Couet J. Effectiveness of beta-blockade in experimental chronic aortic regurgitation. *Circulation* **2004**; 110: 1477-1483.
6. Plante E, Lachance D, Champetier S, Drolet MC, Roussel E, Couet J, Arsenault M. Benefits of long-term beta-blockade in experimental chronic aortic regurgitation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **2008**; 294: H1888-895.
7. Sampat U, Varadarajan P, Turk R Kamath A, Khandhar S, Pai RG. Effect of beta-blocker therapy on survival in patients with severe aortic regurgitation results from a cohort of 756 patients. *J Am Coll Cardiol* **2009**; 54: 452-457.

8. Plante E, Couet J, Gaudreau M, Dumas MP, Drolet MC, Arsenault M. Left ventricular response to sustained volume overload from chronic aortic valve regurgitation in rats. *J Card Fail* **2003**; 9: 128–140.
9. Arsenault M, Plante E, Drolet MC, Couet J. Experimental aortic regurgitation in rats under echocardiographic guidance. *J Heart Valve Dis* **2002**; 11: 128–134.
10. Anzai T, Yoshikawa T, Baba A, Nishimura H, Shiraki H, Nagami K, Suzuki M, Wainai Y, Ogawa S. Myocardial sympathetic denervation prevents chamber-specific alteration of beta-adrenergic transmembrane signaling in rabbits with heart failure. *J Am Coll Cardiol* **1996**; 28:1314–1322.
11. Guzzetti S, Mennini T, Cagnotto A, Di Biasi P, Scrofani R, Mezzetti S, Cogliati C, Paglia S, Malliani A. Myocardial beta-adrenergic and muscarinic receptor density in cardiac pressure or volume overload. *J Mol Cell Cardiol* **1998**; 30: 2095–2102.
12. Suzuki M, Yoshikawa T, Wainai Y, Nagami K, Handa S. Beta-blockade prevents ventricular failure following aortic regurgitation in rabbits. *Cardiology* **1997**; 88: 418–424.
13. Xiong L, Bouanani NE, Su JB, Crozatier B. Propranolol therapy in experimental heart failure in rabbits improves cardiac response to catecholamines without beta-adrenoceptor up-regulation. *Fundam Clin Pharmacol* **1995**; 9: 522–530.
14. Yamazaki T, Uematsu T, Mizuno A, Takiguchi Y, Nakashima M. Alterations of cardiac adrenoceptors and calcium channels subsequent to production of aortic insufficiency in rats. *Arch Int Pharmacodyn Ther* **1989**; 299: 155–168.

15. Yoshikawa T, Handa S, Yamada T, Wainai Y, Suzuki M, Nagami K, Tani M, Nakamura Y. Sequential changes in sympatho-neuronal regulation and contractile function following aortic regurgitation in rabbit heart. *Eur Heart J* **1993**; 14: 1404–1409.
16. Elkayam U. Beta-blockers in the treatment of aortic regurgitation a new opportunity? *J Am Coll Cardiol* **2009**; 54:458-459.
17. Matsuyama K, Ueda Y, Ogino H. Beta-blocker therapy in patients after aortic valve replacement for aortic regurgitation, *Int J Cardiol* **2000**; 73:49–53.
18. Hashimoto Y, Tanaka M, Hata A, Kakuta T, Maruyama Y, Numano F. Four years follow-up study in patients with Takayasu arteritis and severe aortic regurgitation; assessment by echocardiography. *Int J Cardiol* **1996**; 54: 173–S176.
19. Matsuyama K, Ueda Y, Ogino H, Sugita T, Sakakibara Y, Matsubayashi K, Nomoto T, Yoshimura S, Yoshioka T. Beta-blocker therapy in patients after aortic valve replacement for aortic regurgitation. *Int J Cardiol* **2000**; 73: 49–53.
20. Moncada GA, Hashimoto Y, Kobayashi Y, Maruyama Y, Numano F. Usefulness of beta blocker therapy in patients with Takayasu arteritis and moderate or severe aortic regurgitation. *Jpn Heart J* **2000**; 41: 325–337.
21. Krum H. Tolerability of carvedilol in heart failure: clinical trials experience. *Am J Cardiol* **2004**; 93:58B-63B.
22. Packer M, Bristow MR, Cohn JN, Colucci WS, Fowler MB, Gilbert EM, Shusterman NH. Effect of carvedilol on morbidity and mortality in chronic heart failure. *N Engl J Med* **1996**; 334:1349–1355.
23. Poole-Wilson PA, Swedberg K, Cleland JGF, Di Lenarda A, Hanrath P, Komajda M, Lubsen J, Lutiger B, Metra M, Remme WJ, Torp-Pedersen C, Scherhag A, Skene A.

Comparison of carvedilol and metoprolol on clinical outcomes in patients with chronic heart failure. Results of the Carvedilol or Metoprolol European Trial. *Lancet* **2003**; 362: 7-13.

24. Shannon R, Chaudhry M. Effect of alpha1-adrenergic receptors in cardiac pathophysiology. *Am Heart J* **2006**; 152: 842-850.

25. Wright AJ, Hudlicka O, Brown MD. Beneficial effect of chronic bradycardial pacing on capillary growth and heart performance in volume overload heart hypertrophy. *Circ Res* **1989**; 64: 1205–1212.

Figure legends:

Figure 1:

mRNA expression of atrial natriuretic peptide (ANP-top panel), brain natriuretic peptide (BNP-middle panel) and follistatin-like protein 1 (fstl1- bottom panel). White columns: untreated groups; black columns: carvedilol groups. P values from 2-way ANOVA and Bonferroni post testing when applicable to evaluate disease, treatment or disease-treatment interactions (D X T) are shown to the right of each panel. *: $p < 0.05$ vs. corresponding untreated group.

Figure 2:

mRNA expression of collagen type 1 (Col I-top panel), collagen type III (Col III middle panel) and fibronectin (Fn- bottom panel). White columns: untreated groups; black columns: carvedilol groups. P values from 2-way ANOVA and Bonferroni post testing when applicable to evaluate disease, treatment or disease-treatment interactions (D X T) are shown to the right of each panel.

Figure 3:

mRNA expression of lysyl oxidase 1 (LOX1), matrix metalloprotease 2 (MMP2), tissue inhibitor of metalloprotease 1 (TIMP1), tissue growth factor beta 1 and 2 (TGF β 1 and 2) and connective tissue growth factor (CTGF). White columns: untreated groups; black columns: carvedilol groups. Solid line shows mean normal untreated sham values. *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$ and ***: $p < 0.001$ vs. normal sham group.

Figure 4:

mRNA expression of adrenergic receptors (AR) beta 1, 2 and alpha 1 (β_1 , β_2 , α_1). White columns: untreated groups; black columns: carvedilol groups. P values from 2-way ANOVA and Bonferroni post testing when applicable to evaluate disease, treatment or disease-treatment interactions (D X T) are shown to the right of each panel. **: $p < 0.01$ vs. corresponding untreated group.

Figure 5:

Myocardial capillary density. Typical examples are shown for normal sham and AR untreated rats. Bottom: quantification of myocardial capillary density per field. White columns: untreated groups; black columns: carvedilol groups. P values from 2-way ANOVA and Bonferroni post testing when applicable to evaluate disease, treatment or disease-treatment interactions (D X T) are shown to the right of the bottom panel.

Tables:**Table 1.** QuantiTect® Primer Assays used in Q-PCR analysis of gene expression.

mRNA	Symbol	Genbank Acc. No.	Amplicon size(bp)
Natriuretic peptide precursor type A	ANP	NM_012612	107
Beta-1 adrenoceptor	Adrb1	NM_012701	148
Beta-2 adrenoceptor	Adrb2	NM_012492	81
Alpha-1a adrenoceptor	Adra1a	NM_017181	103
Natriuretic peptide precursor type B	BNP	NM_031545	94
Pro-collagen-1 alpha-1	Col1a1	NM_053304	92
Pro-collagen-3 alpha-1	Col3a1	NM_032085	111
Fibronectin	Fn	NM_019143	92
Matrix metalloprotease 2	Mmp2	NM_031054	103
Follistatin-like protein 1	Fstl1	NM_024369	131
Tissue inhibitor of metalloprotease 1	Timp1	NM_053819	113
Lysyl oxidase (LOX)	Lox	NM_017061	148
Transforming growth factor beta 1	Tgfb1	NM_021578	145
Transforming growth factor beta 2	Tgfb2	NM_031131	139
Connective tissue growth factor	Ctgf	NM_022266	102
Cyclophilin A	Ppia	NM_017101	106

Table 2. Data at sacrifice

Parameters	Sham (10/10)	Sham Carv (10/10)	AR (8/12)	AR Carv (9/12)	Disease	Treatment	D x T
Body weight, g	766 ± 10.3	771 ± 17.7	740 ± 11.7	758 ± 28.0	0.33	0.55	0.73
Tibial length, mm	65.8 ± 0.30	65.6 ± 0.47	64.4 ± 0.51	65.3 ± 0.63	0.11	0.49	0.29
Heart weight, mg	1476 ± 20.5	1508 ± 45.6	2661 ± 107.3	2190 ± 91.3***	<0.0001	0.006	0.0009
LV weight, mg	1023 ± 19.7	1028 ± 31.8	1881 ± 72.4	1598 ± 59.8**	<0.0001	0.020	0.016
RV weight, mg	301 ± 5.7	287 ± 6.0	459 ± 23.5	369 ± 19.2**	<0.0001	0.0059	0.039
Left atria weight, mg	33 ± 2.4	39 ± 4.3	93 ± 10.6	56.5 ± 4.3**	<0.0001	0.034	0.0037
Lung weight, mg	2576 ± 140.9	2539 ± 159.5	3391 ± 312.4	2904 ± 248.6	0.046	0.36	0.43

Values are mean ± SEM. P values from 2-way ANOVA and Bonferroni post testing when applicable to evaluate disease, treatment or disease-treatment interactions (D X T) are shown to the right of each panel. **: p<0.01 and ***: p<0.001 vs. AR group. LV: left ventricle, RV: right ventricle.

Table 3. Echocardiography data

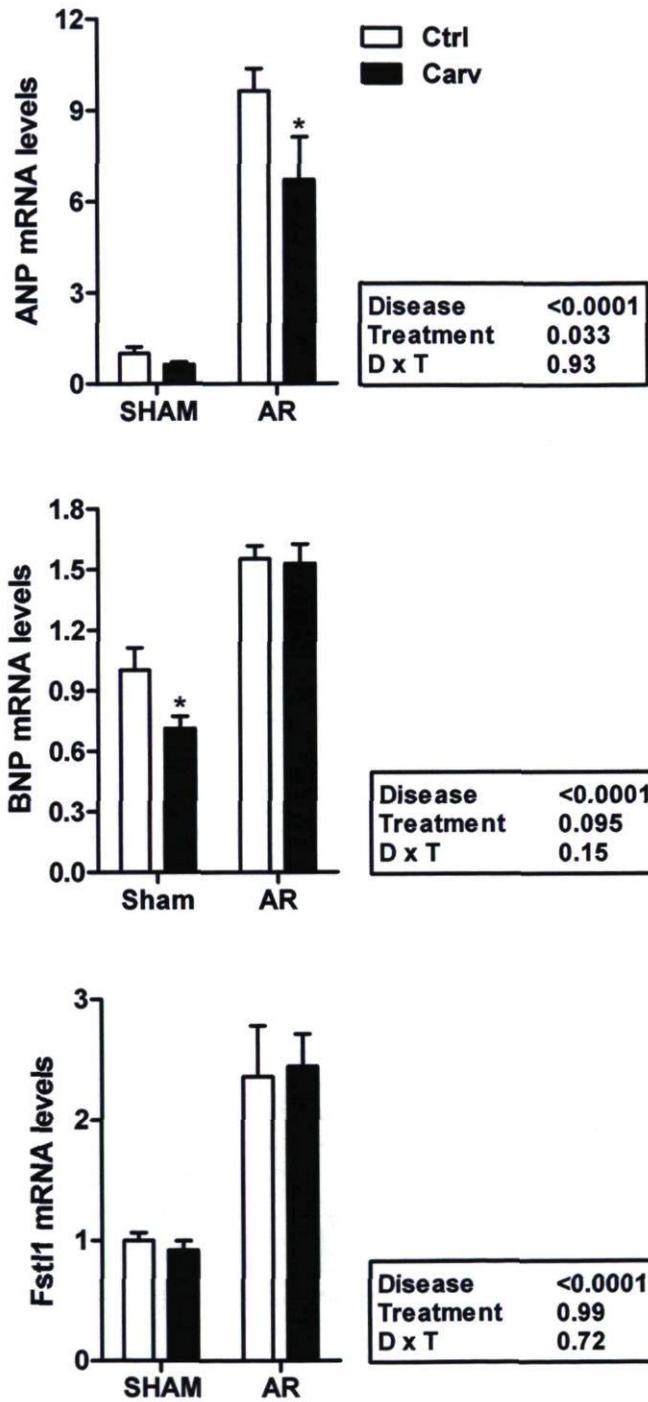
Parameters	Sham	Sham Carv	AR	AR Carv	Disease	Treatment	D x T
EDD, mm	9.2 ± 0.09	8.9 ± 0.15	12.4 ± 0.26	11.4 ± 0.37	<0.0001	0.015	0.23
ESD, mm	4.4 ± 0.10	4.4 ± 0.10	7.0 ± 0.14	6.1 ± 0.32*	<0.0001	0.0098	0.028
SW, mm	1.5 ± 0.03	1.6 ± 0.04	1.8 ± 0.02	1.6 ± 0.06*	0.0001	0.16	0.038
PW, mm	1.6 ± 0.04	1.6 ± 0.03	1.8 ± 0.03	1.8 ± 0.03	<0.0001	0.91	0.50
RWT (unitless)	0.34 ± 0.008	0.35 ± 0.006	0.29 ± 0.008	0.30 ± 0.008	<0.0001	0.10	0.71
EF, %	77 ± 0.8	76 ± 0.6	66 ± 0.5	71 ± 1.4**	<0.0001	0.036	0.0051
MPI (unitless)	0.42±0.018	0.41±0.007	0.52±0.032	0.45±0.011	0.0015	0.057	0.17
AR (% reg.)	na	na	78 ± 4.0	81 ± 4.0	na	na	na

Values are mean ± SEM. P values from 2-way ANOVA and Bonferroni post testing when applicable to evaluate disease, treatment or disease-treatment interactions (D X T) are shown to the right of each panel. *: p<0.05 and **: p<0.01 vs. AR group. EDD: end-diastolic diameter, ESD: end-systolic diameter, SW: septal wall thickness, PW: posterior wall thickness, RWT: relative wall thickness ((SW+PW)/EDD), EF: ejection fraction, MPI: myocardial performance index, AR: AR severity by echocardiographic semi-quantification. na: non applicable.

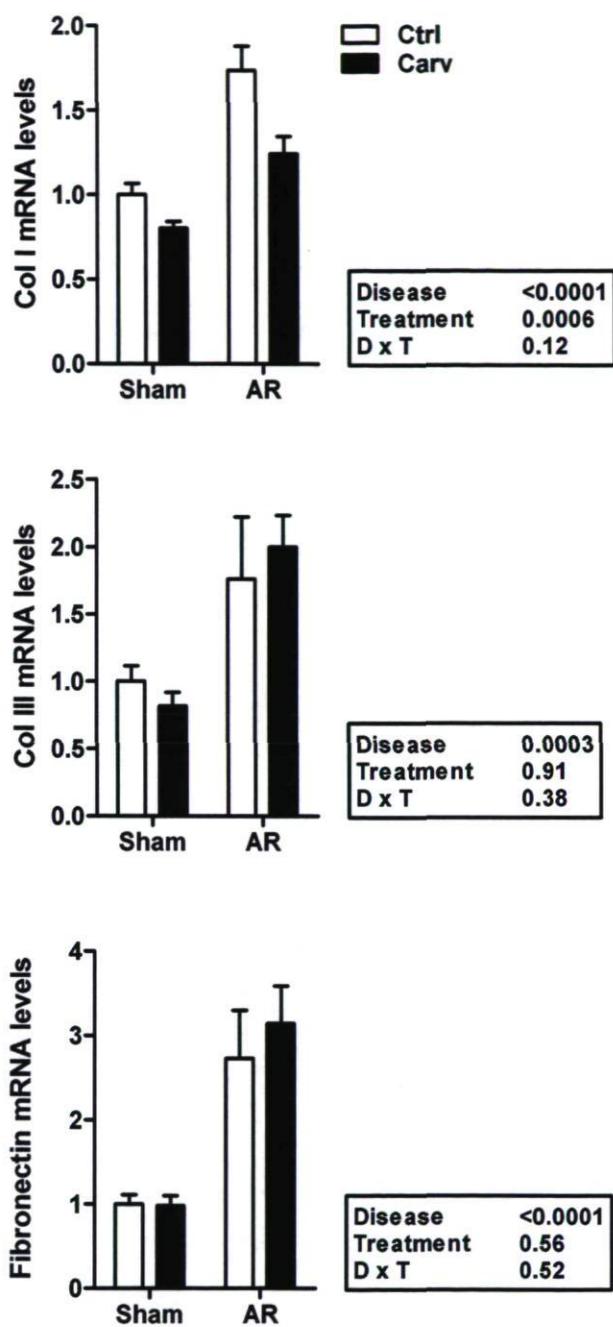
Table 4. Hemodynamics

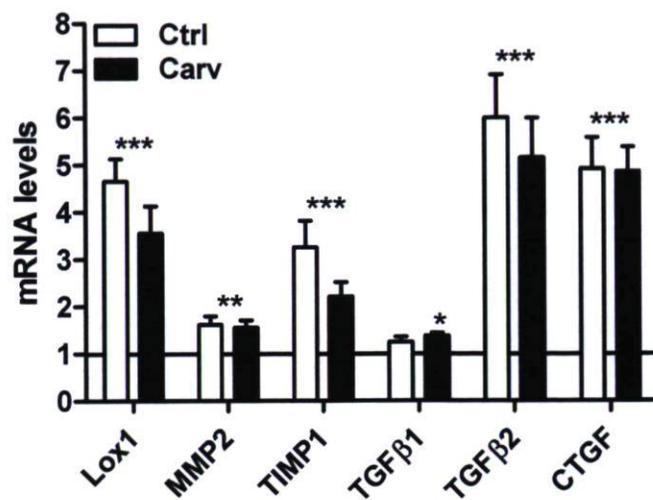
Parameters	Sham	Sham Carv	AR	AR Carv	Disease	Treatment	D x T
HR (bpm)	361± 10.2	338 ± 9.9	352 ± 11.5	331 ± 10.7	0.48	0.040	0.93
SV (µl)	231 ± 4.7	224 ± 5.5	421 ± 16.7	381 ± 29.1	<0.0001	0.19	0.37
CO (ml/min)	83 ± 2.4	75 ± 2.9	147 ± 5.4	125 ± 8.4	<0.0001	0.012	0.21
SBP (mm Hg)	116 ± 2.2	123 ± 2.4	127 ± 4.5	130 ± 5.6	0.059	0.50	0.90
DBP (mm Hg)	88± 2.3	93 ± 2.2	63 ± 3.7	70 ± 4.4	<0.0001	0.27	0.59
dP/dt max	8580 ± 141.9	7753 ± 171.6	7047 ± 339.0	7711 ± 380.2	0.089	0.85	0.11
dP/dt min	7231 ± 287.7	6640 ± 201.7	4627 ± 183.1	4700 ± 170.1	<0.0001	0.88	0.18
EDP (mm Hg)	9 ± 0.3	9 ± 0.6	15 ± 1.0	10 ± 0.5**	0.0083	0.041	0.044

Values are mean ± SEM. P values from 2-way ANOVA and Bonferroni post testing when applicable to evaluate disease, treatment or disease-treatment interactions (D X T) are shown to the right of each panel. **: p<0.01 vs. AR group. HR: heart rate; SV: stroke volume in left ventricular outflow tract by pulsed Doppler; CO: cardiac output (SV X HR); SBP: systolic blood pressure; DBP: diastolic blood pressure. EDP: end diastolic pressure.

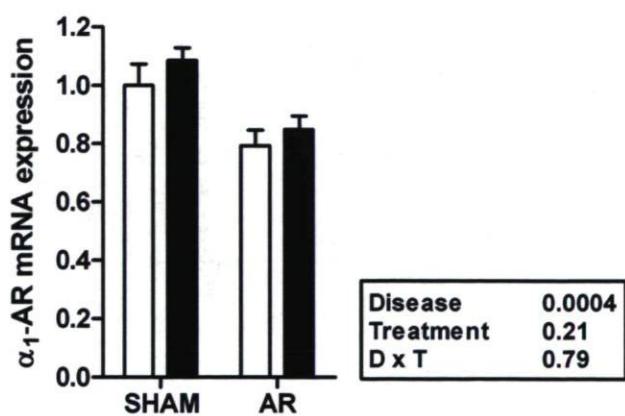
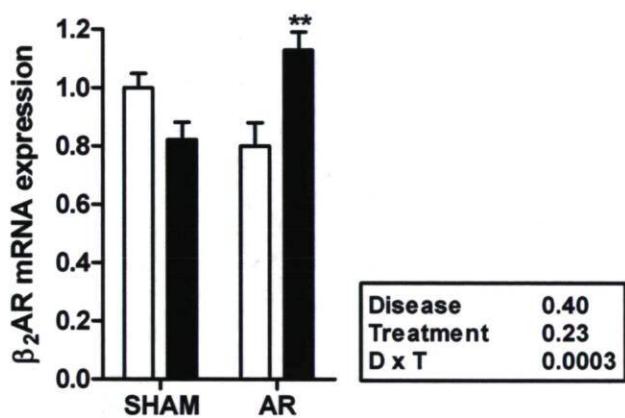
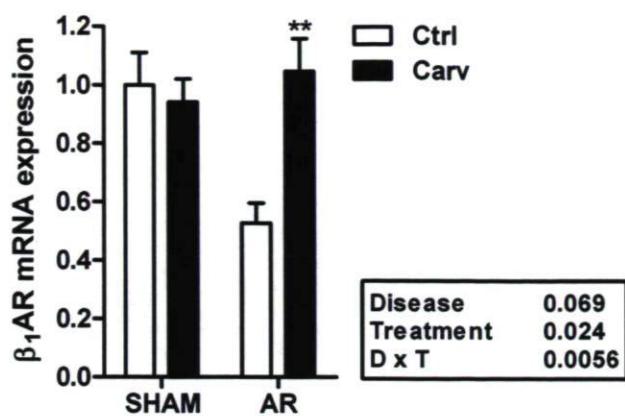


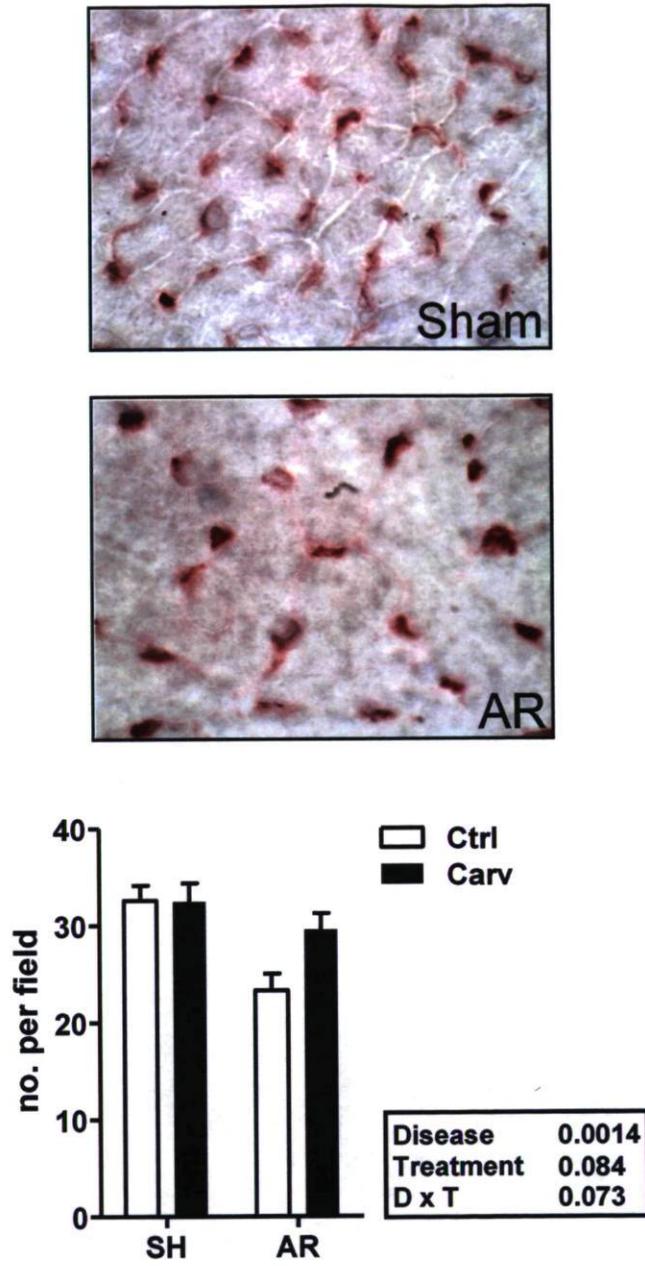
Zendaoui et al.
Figure 1





Zendaoui et al.
Figure 3





Zendaoui et al.
Figure 5

**Chapitre 4 : Discussion
et conclusion générale**

4.1. Discussion :

Un modèle animal d'insuffisance aortique chez le rat a été perfectionné par notre équipe de recherche⁸⁵ et a été étudié sur une longue période (12 mois) pour prouver son efficacité⁸⁶. Il nous a permis de tester plusieurs approches thérapeutiques grâce à sa fiabilité et à son homogénéité et grâce à l'utilisation de l'échocardiographie (technique non-invasive). Il nous a permis ainsi de suivre l'évolution de l'IA et de comparer les groupes de rats traités versus non traités pour prouver l'efficacité d'un traitement pharmacologique.^{68-69;86-88}

La présente étude nous a permis de tester l'effet d'un β -bloqueur (carvédilol, β -bloqueur non sélectif et α_1 -bloqueur sélectif) sur cette maladie. Les résultats de cette étude complètent ceux obtenus avec le métoprolol (β_1 -bloqueur sélectif) et démontrent bien l'effet classe positif des β -bloqueurs sur l'IA.^{88;86} Le carvédilol a induit une légère bradycardie possiblement via son action sur le récepteur α_1 -adrénergique mais cette bradycardie ne semble pas être néfaste pour les rats traités avec cette molécule. Le carvédilol n'a pas bloqué totalement l'hypertrophie et la dilatation du VG. Il n'a pas eu d'effet sur le BNP et FSTL1. Le carvédilol a un effet bénéfique sur le remodelage de la MEC : Col 1, Lox 1, TIMP1. Le carvédilol tend à normaliser le taux de capillarisation dans le tissu myocardique.

Le carvédilol a démontré un effet global meilleur par rapport au métoprolol sur l'hypertrophie et la dilatation du VG dû soit à l'antagonisme des récepteurs α_1 -adrénergiques ou à la non sélectivité du carvédilol envers les récepteurs β -adrénergiques. La composante α_1 du carvédilol n'a pas été démontré clairement dans notre étude considérant l'absence d'effet de cette molécule sur le niveau d'expression des récepteurs α_1 -adrénergiques ainsi que par l'absence de données sur l'activité périphérique des récepteurs α_1 -adrénergiques et sur la résistance vasculaire périphérique. L'action du carvédilol sur les trois récepteurs β -adrénergiques (β_1 , β_2 et β_3) a été démontré pour les récepteurs (β_1 et β_2) suite à la restauration de l'expression de ces derniers ainsi que par la baisse de la fréquence cardiaque; par contre l'action de cette molécule sur les récepteurs β_3 -adrénergiques n'a pas été étudiée. L'utilisation d'un β -bloqueur de la première

génération (un β -adrénergique non sélectif comme le propranolol) pourra répondre en partie à nos questions. L'effet anti-oxydant du carvedilol peut être obtenu avec des doses plus élevées qui permettront d'améliorer le remodelage myocardique mais cela reste à démontrer.

Les principales forces de notre étude sont : premièrement, notre modèle animal est un modèle homogène et très fiable pour tester l'efficacité d'un traitement sur cette maladie. Deuxièmement, on a pu tester avec ce modèle l'efficacité du carvedilol à long terme (6 mois). Troisièmement, le carvedilol a démontré un effet global meilleur par rapport au métoprolol dû à la non sélectivité de cette molécule envers les récepteurs β -adrénergiques ainsi que via son action sur les récepteurs α_1 -adrénergiques. Quatrièmement, les résultats de cette étude supportent une fois de plus l'hypothèse que le système adrénergique serait impliqué dans la physiopathologie de l'IA.

Notre étude comporte quelques limitations. Premièrement, La densité des récepteurs α -adrénergiques chez les rongeurs est supérieure à celle des primates et cela peut influencer l'interposabilité des résultats avec l'humain. Deuxièmement, le traitement a été institué assez tôt après induction de l'IA (15^{ème} jour post-opératoire) donc, il serait important de tester l'efficacité de la même molécule dans une phase plus poussée de la maladie ce qui va être proche aux situations cliniques surtout que la maladie est souvent asymptomatique aux premières années de son développement.

4.2. Conclusion et perspectives :

Le carvedilol a démontré un effet global protecteur dans un modèle animal de surcharge de volume (IA chronique sévère avec FE préservée). Les résultats de cette étude complètent les résultats de l'étude réalisée sur l'effet du métoprolol sur le même modèle animal et démontrent bien l'effet classe positif des β -bloqueurs sur cette maladie. Les résultats de l'étude clinique rétrospective de Sampat et al⁹⁹⁻¹⁰⁰ réalisée pour démontrer l'effet positif des β -bloqueurs sur cette maladie vont dans le même sens. Il serait très bénéfique de réaliser une étude clinique prospective pour démontrer l'effet bénéfique des β -

bloqueurs sur l'IA afin de trouver une médication pour cette maladie en manque d'arsenal thérapeutique. Il serait très bénéfique aussi de réaliser des études animales et cliniques pour évaluer les effets de certaines classes pharmacologiques sur cette maladie notamment les IECA, les ARA et les antagonistes de l'aldostérone en monothérapie ou en combinaison avec un β -bloqueur, sachant que les études animales réalisées par notre équipe pour évaluer l'effet du captopril (IECA)⁶⁸⁻⁶⁹ sur l'IA ont données des résultats satisfaisants notamment par le ralentissement de la dilatation du VG, l'amélioration de la fonction systolique et la diminution de l'expression des récepteurs de l'angiotensine II. Les résultats des trois études réalisées par notre équipe sur les effets du métoprolol, du captopril et du carvedilol sur l'IA viennent supporter l'hypothèse que les systèmes adrénergique et RAA seraient impliqués dans le développement de l'hypertrophie du VG dans l'IA. Des molécules pharmacologiques qui permettent de contrer les effets des deux systèmes semblent être efficaces pour diminuer l'hypertrophie du VG et améliorer la fonction cardiaque.

Bibliographie :

1. Leonard, S. L. (2007). *Pathophysiology of HEART DISEASE*. Boston, Massachusetts: Wolters Kluwer Health, Lippincott Williams and Wilkins.
2. Banerjee, I., Yekkala, K., & K. Borg, T. a. (2006). Dynamic Interactions between Myocytes, Fibroblasts, and Extracellular Matrix. *New York Academy of Sciences* , 1080: 76-84.
3. Okada, M., & Yamawaki, H. a. (2010). Angiotensin II enhances interleukin-1 beta-induced MMP-9 secretion in adult rat cardiac fibroblasts. *The Journal of Veterinary Medical Science* .
4. Zhang, Y., & M. Kanter, E. a. (2010). Remodeling of cardiac fibroblasts following myocardial infarction results in increased gap junctionintercellular communication. *Cardiovascular Pathology* .
5. Espira, L. a. (2009). Emerging concepts in cardiac matrix biology. *Can. J. Physiol. Pharmacol* , 87: 996-1008.
6. Sheikh, F., & S. Ross, R. a. (2009). Cell-Cell Connection to Cardiac Disease. *TCM* , Vol. 19, No. 6.
7. L.K. Bowers, S., & K. Borg, T. a. (2010). The dynamics of fibroblast-myocyte-capillary interactions in the heart. *Ann. N. Y. Academie. Sci.* , 1188: 143-152.
8. Adamcova, M., Potacova, A., Popelova, O., Sterba, M., Mazurova, Y., & Aupperle, H. a. Cardiac remodeling and MMPs on the model of chronic daunorubicin-induced cardiomyopathy in rabbits. Hradec Kralové, Czech Republic.
9. Vacheron, A., & Le Feuvre, C. e. (1999). *Cardiologie*. Paris: Expansion Scientifique Publications.
10. Rutishauser, W. e. (2004). *Cardiologie clinique*. Paris: Masson.
11. Roussel, E., Gaudreau, M., Plante, E., Drolet, M.-C., Breault, C., & Couet, J. a. (2008). Early responses of the left ventricle to pressure overload in Wistar rats. *Life Sciences* , 82: 265-272.
12. Lachance, D., Champetier, S., Plante, E., Bouchard-Thomassin, A.-a., Roussel, E., & Couet, J. a. (2009). Effects of Exercise in Volume Overload: Insights from a Model of Aortic Regurgitation. *Medecine and science in sports and exercise* .
13. Lachance, D., Plante, E., Bouchard-Thomassin, A.-a., Champetier, S., Roussel, E., Drolet, M.-C., et al. (2009). Moderate Exercise Training Improves Survival and Ventricular

Remodeling in an Animal Model of Left Ventricular Volume Overload. *Circulation: Heart Failure* , 2: 437-445.

14. Lachance, D., Plante, E., Roussel, E., Drolet, M.-C., & Couet, J. a. (2008). Early Left Ventricular Remodeling in Acute Severe Aortic Regurgitation: Insights from an Animal Model. *The Journal of Heart Valve Disease* , 17: 300-308.

15. Plante, E., Couet, J., Gaudreau, M., Dumas, M.-P., & Drolet, M.-C. a. (2003). Left Ventricular Response to Sustained Volume Overload From Chronic Aortic Valve Regurgitation in Rats. *Journal of Cardiac Failure* , Vol. 9, No. 2.

16. A. Souders, C., & L.K. Bowers, S. a. (2009). Cardiac Fibroblast: The Renaissance Cell. *Circulation Research* , 105: 1164-1176.

17. Kakkar, R. a. (2010). Intramyocardial Fibroblast Myocyte Communication. *Circulation Research* , 106: 47-57.

18. Leask, A. (2010). Potential Therapeutic Targets for Cardiac Fibrosis: TGF, Angiotensin, Endothelin, CCN2, and PDGF, Partners in Fibroblast Activation. *Circulation Research* , 106: 1675-1680.

19. Dalla Libera, L., Ravara, B., Gobbo, V., Danieli. Betto, D., Germinario, E., Angelini, A., et al. (2009). Skeletal muscle proteins oxidation in chronic right heart failure in rats: Can different beta-blockers prevent it to the same degree? *International Journal of Cardiology* .

20. Serpillon, S., C. Floyd, B., S. Gupte, R., George, S., Kozicky, M., Neito, V., et al. (2009). Superoxide production by NAD(P)H oxidase and mitochondria is increased in genetically obese and hyperglycemic rat heart and aorta before the development of cardiac dysfunction. The role of glucose-6-phosphate dehydrogenase-derived NADPH. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* , 297: H153-H162.

21. Koitabashi, N., Arai, M., Tomaru, K., Takizawa, T., Watanabe, A., Niwano, K., et al. (2005). Carvedilol effectively blocks oxidative-stress-mediated downregulation of sarcoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase 2 gene transcription through modification of SP1 binding. *Biochemical and Biophysical Research Communications* , 328: 116-124.

22. Mochizuki, M., Yano, M., Oda, T., Tateishi, H., Kobayashi, S., Yamamoto, T., et al. (2007). Scavenging Free Radicals by Low-Dose Carvedilol Prevents Redox-Dependent Ca²⁺ Leak Via Stabilization of Ryanodine Receptor in Heart Failure. *J Am Coll Cardiol* , 49: 1722-32.

23. Wang, R., Miura, T., Harada, N., Kametani, R., Shibuya, M., Fukagawa, Y., et al. (2006). Pleiotropic Effects of the beta-Adrenoceptor Blocker Carvedilol on Calcium Regulation during Oxidative Stress-Induced Apoptosis in Cardiomyocytes. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* , vol. 318, No. 1.

24. Sgobbo, P., Pacelli, C., Grattagliano, I., & Villani, G. a. (2007). Carvedilol inhibits mitochondrial complex I and induces resistance to H₂O₂-mediated oxidative insult in H9C2 myocardial cells. *Biochimica et Biophysica Acta* , 1767: 222-232.
25. Spallarossa, P., Garibaldi, S., Altieri, P., Fabbi, P., Manca, V., Nasti, S., et al. (2004). Carvedilol prevents doxorubicin-induced free radical release and apoptosis in cardiomyocytes in vitro. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* , 37: 837-846.
26. W. Dolinsky, V., Y.M. Chan, A., Robillard. Frayne, I., E. Light, P., & Des Rosiers, C. a. (2009). Resveratrol prevents the Prohypertrophic Effects of Oxidative Stress on LKB1. *Circulation* , 119: 1643-1652.
27. B. Bartholomeu, J., S. Vanzelli, A., P.L. Rolim, N., C.B. Ferreira, J., R.G. Bechara, L., Y. Tanaka, L., et al. (2008). Intracellular mechanisms of specific beta-adrenoceptor antagonists involved in improved cardiac function and survival in a genetic model of heart failure. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* , 45: 240-249.
28. Nagatomo, Y., Yoshikawa, T., Kohno, T., Yoshizawa, A., Baba, A., Anzai, T., et al. (2009). A Pilot Study on the Role of Autoantibody Targeting the beta1-Adrenergic Receptor in the Response to beta-blocker therapy for Congestive Heart Failure. *Journal of Cardiac Failure* , Vol. 15, No. 3.
29. Ahmet, I., Morrell, C., & G. Lakatta, E. a. (2009). Therapeutic Efficacy of a Combination of a beta1-Adrenoreceptor (AR) Blocker and beta2-AR Agonist in a Rat Model of Postmyocardial Infarction Dilated Heart Failure Exceeds That of a beta1-AR Blocker plus Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitor. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* , 331: 178-185.
30. Mansur, A. J., Seleri. Fontes, R., Airoidi. Canzi, R., Nishimura, R., Pereira. Alencar, A., Pedroso de Lima, A. C., et al. (2009). Beta-2 adrenergic receptor gene polymorphisms Gln27Glu, ArgI 6Gly in patients with heart failure. *BMC Cardiovascular Disorders* , 9-50.
31. Pott, C., Steinritz, D., Napp, A., Bloch, W., & H.G. Schwinger, R. a. (2006). On the function of beta3-adrenoceptors in the human heart: signal transduction, inotropic effect and therapeutic prospects. *Wien Med Wochenschr* , 15-16: 451-458.
32. Rozec, B. a. (2006). Beta3-Adrenoceptors in the cardiovascular system: Putative roles in human pathologies. *Pharmacology and Therapeutics* , 111: 652-673.
33. Dessy, C. a.-L. (2010). Beta3-Adrenergic Receptors in Cardiac and Vascular Tissues: Emerging Concepts and Therapeutic Perspectives. *Advances in Pharmacology* , Volume 59.
34. Zhao, Q., Wu, T.-G., Jiang, Z.-F., Chen, G.-W., Lin, Y., & Wang, L.-X. (2007). Effect of beta-Blockers on beta3-Adrenoceptor Expression in Chronic Heart Failure. *Cardiovasc Drugs Ther* , 21: 85-90.

35. Shannon, R. a. (2006). Effect of alpha1-adrenergic receptors in cardiac pathophysiology. *Progress in Cardiology* .
36. Wang, G.-Y., Yeh, C.-C., C. Jensen, B., & J. Mann, M. a. (2010). Heart failure switches the RV alpha1-adrenergic inotropic response from negative to positive. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* , 298: H913-H920.
37. A. Patel, P., & G. Tilley, D. a. (2009). Physiologic and cardiac roles of beta-arrestins. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* , 46: 300-308.
38. L. Ritter, S. a. (2009). Fine-tuning of GPCR activity by receptor-interacting proteins. *Molecular cell biology* , Volume 10.
39. Nozawa, T., Igawa, A., Yoshida, N., Maeda, M., Inoue, M., Yamamura, Y., et al. (1998). Dual-Tracer Assessment of Coupling Between Cardiac Sympathetic Neuronal Function and Downregulation of beta-Receptors During Development of Hypertensive Heart Failure of Rats. *Circulation* , 97: 2359-2367.
40. Flesch, M., Ettlbruck, S., Rosenkranz, S., Maack, C., Cremers, B., Schluter, K.-D., et al. (2001). Differential effects of carvedilol and metoprolol on isoprenaline-induced changes in beta-adrenoceptor density and systolic function in rat cardiac myocytes. *Cardiovascular Research* , 49: 371-380.
41. Zhan, D.-Y., Morimoto, S., Du, C.-K., Wang, Y.-Y., Lu, Q.-W., Tanaka, A., et al. (2009). Therapeutic effect of beta-adrenoceptor blockers using a mouse model of dilated cardiomyopathy with a troponin mutation. *Cardiovascular Research* , 84: 64-71.
42. Arslan, S., Erol, M. K., Bozkurt, E., Acikel, M., Gundogdu, F., & Atesal, S. a. (2007). Effect of beta-blocker therapy on left atrial function in patients with heart failure: comparison of metoprolol succinate with carvedilol. *Int J Cardiovasc Imaging* , 23: 549-555.
43. Medeiros, A., Vanzelli, A., Rosa, K., & Irigoyen, M. a. (2008). Effect of exercise training and carvedilol treatment on cardiac function and structure in mice with sympathetic hyperactivity-induced heart failure. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* , 41: 812-817.
44. Javed, U. a. (2009). Beta-Adrenergic Blockers for Chronic Heart Failure. *Cardiology in Review* , Volume 17, Number 6.
45. Sponer, G., Stein, K., & Buller-Beckmann, B. a. (1987). Studies on the Mode of Vasodilating Action of Carvedilol. *Journal of Cardiovascular Pharmacology* , 10: S42-S48.
46. Strein, K., Sponer, G., & Muller-Beckmann, B. a. (1987). Pharmacological Profile of Carvedilol, a Compound with beta-Blocking and Vasodilating Properties. *Journal of Cardiovascular Pharmacology* , 10: S33-S41.

47. Tanaka, M., Masumura, H., & Tanaka, S. a. (1987). Studies on the Antihypertensive Properties of Carvedilol, a Compound with beta-Blocking and Vasodilating Effects. *Journal of Cardiovascular Pharmacology* , 10: S52-S57.
48. Kawada, T., Ishibashi, T., Nakazawa, M., & Satoh, S. a. (1990). Adrenoceptor-Blocking Activity and Cardiohemodynamic Effects of Carvedilol in Animals. *Journal of Cardiovascular Pharmacology* , 16: 147-153.
49. Hashimoto, H., Kanda, A., & Hubo, H. a. (1991). Features of the Acute Hypotensive Action of Carvedilol and Its Ameliorating Effect on Myocardial Ischemia. *Journal of Cardiovascular Pharmacology* , 18: S22-S28.
50. Sponer, G., Strein, K., & Bartsch, W. a.-B. (1992). Vasodilatory Action of Carvedilol. *Journal of Cardiovascular Pharmacology* , 19: S5-S11.
51. Maffei, A., Di Pardo, A., Carangi, R., Carullo, P., Poulet, R., T. Gentile, M., et al. (2007). Nebivolol Induces Nitric Oxide Release in the Heart Through Inducible Nitric Oxide Synthase Activation. *Hypertension* , 50: 652-656.
52. A. Fonseca, V. (2010). Effects of beta-blockers on glucose and lipid metabolism. *Current Medical Research and Opinion* , Vol. 26, No. 3, 615-629.
53. Dalla. Libera, L., Ravara, B., Gobbo, V., Danieli. Betto, D., Germinario, E., & Angelini, A. a. (2005). Skeletal muscle myofibrillar protein oxidation in heart failure and the protective effect of Carvedilol. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* , 38: 803-807.
54. Grimm, D., Huber, M., C. Jabusch, H., Shakibaei, M., Fredersdorf, S., Paul, M., et al. (2001). Extracellular Matrix Proteins in Cardiac Fibroblasts Derived from Rat Hearts with Chronic Pressure Overload: Effects of Beta-receptor Blockade. *J Mol Cell Cardiol* , 33: 487-501.
55. K.W. Ma, T., K.H. Kam, K., & P. Yan, B. a.-Y. (2010). Renin-angiotensin-aldosterone system blockade for cardiovascular diseases: current status. *British Journal of Pharmacology* , 160: 1273-1292.
56. Fillion, D., Lemieux, G., Basambombo, L. L., Lavigne, P., Guillemette, G., & Leduc, R. a. (2010). The Amino-Terminus of Angiotensin II Contacts Several Ectodomains of the Angiotensin II receptor AT1. *Journal of Medicinal Chemistry Article* , 53: 2063-2075.
57. Miura, S. I., Matsuo, Y., Kiya, Y., & S. Karnik, S. a. (2010). Molecular mechanisms of the antagonistic action between AT1 and AT2 receptors. *Biochemical and Biophysical Research Communications* , 391: 85-90.

58. Dab, H., Hachani, R., Hodroj, W., Sakly, M., & Bricca, G. a. (2009). Differential control of collagen synthesis by the sympathetic and renin-angiotensin systems in the rat left ventricle. *Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical* , 151: 106-110.
59. Lewinski, D. V., Kockskamper, J., Rubertus, S.-U., Zhu, D., Schmitto, J. D., A. Schondube, F., et al. (2008). Direct pro-arrhythmogenic effects of angiotensin II can be suppressed by AT1 receptor blockade in human atrial myocardium. *European Journal of Heart Failure* , 10: 1172-1176.
60. Zhang, G. X., Kimura, S., Murao, K., Yu, X., Obata, K., & Matsuyoshi, H. a. (2010). Effects of Angiotensin Type I Receptor Blockade on the Cardiac Raf/MEK/ERK Cascade Activated via Adrenergic Receptors. *Journal of Pharmacological Sciences* .
61. E. Schmieder, R. (2010). Angiotensin II-Type 2 Receptor: Emerging Target for Cardiovascular Protection. *American Journal of Hypertension* , Volume 23, Number 3.
62. Kaschina, E., Grzesiak, A., Li, J., Foryst-Ludwig, A., Timm, M., & Rompe, F. a. (2008). Angiotensin II Type 2 Receptor Stimulation, A Novel Option of Therapeutic Interference With the Renin-Angiotensin System in Myocardial Infarction? *Circulation* , 118: 2523-2532.
63. E. Schmieder, R., Erdmann, J., Delles, C., Jacobi, J., Fleck, E., & Hilgers, K. a. (2001). Effect of the Angiotensin II Type 2-Receptor Gene (+1675 G/A) on Left Ventricular Structure in Humans. *Journal of the American Journal of Cardiology* , 37: 175-82.
64. Ott, C., I. Titze, S., K. Schwarz, T., Kreutz, R., F. Hilgers, K., M.W. Schmidt, B., et al. (2007). High sodium intake modulates left ventricular mass in patients with G expression of + 1675 G/A angiotensin II receptor type 2 gene. *Journal of Hypertension* , 25: 1627-1632.
65. Li, Y., Saito, Y., Kuwahara, K., & Rong, X. a. (2009). Guanylyl Cyclase-A Inhibits Angiotensin II Type 2 Receptor-Mediated Pro-Hypertrophic Signaling in the Heart. *Endocrinology journal* , 150: 3759-3765.
66. M. Carey, R. (2010). Aldosterone and cardiovascular disease. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* , 17: 194-198.
67. Igawa, A., Nozawa, T., Yoshida, N., Fujii, N., Kato, B. I., Inoue, M., et al. (2002). Effects of the Angiotensin-converting Enzyme Inhibitor Enalapril on Sympathetic Neuronal Function and beta-adrenergic Desensibilisation in Heart Failure after Myocardial Infarction in Rats. *Jpn Heart J* , 43: 675-688.
68. Plante, E., Gaudreau, M., Lachance, D., Drolet, M.-C., Roussel, E., Gauthier, C., et al. (2004). Angiotensin-converting enzyme inhibitor captopril prevents volume overload cardiomyopathy in experimental chronic aortic valve regurgitation. *Can. J. Physiol. Pharmacol* , 82: 191-199.

69. Plante, E., Lachance, D., Beaudoin, J., Champetier, S., Roussel, E., & Arsenault, M. a. (2009). Comparative Study of Vasodilators in an Animal Model of Chronic Volume Overload Caused by Severe Aortic Regurgitation. *Circulation: Heart Failure* , 2: 25-32.
70. Mulder, P., Mellin, V., Favre, J., Vercauteren, M., Remy-Jouet, I., Monteil, C., et al. (2008). Aldosterone synthase inhibition improves cardiovascular function and structure in rats with heart failure: a comparison with spironolactone. *European Heart Journal* , 29: 2171-2179.
71. Tsukashita, M., Marui, A., Nishina, T., Yoshikawa, E., Kanemitsu, H., Wang, J., et al. (2008). Spironolactone alleviates late cardiac remodeling after left ventricular restoration surgery. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery* , 136: 58-64.
72. Nagata, K., Obata, K., Xu, J., Ichihara, S., Noda, A., Kimata, H., et al. (2006). Mineralocorticoid Receptor Antagonism Attenuates Cardiac Hypertrophy and Failure in Low-Aldosterone Hypertensive Rats. *Hypertension* , 47: 656-664.
73. Tsukamoto, O., Minamino, T., Sanada, S., Okada, K.-i., Hirata, A., Fujita, M., et al. (2006). The Antagonism of Aldosterone Receptor prevents the Development of Hypertensive Heart Failure Induced by Chronic Inhibition of Nitric Oxide Synthesis in Rats. *Cardiovascular Drugs and Therapy* , 20: 93-102.
74. Kang, Y.-M., Zhang, Z.-H., F. Johnson, R., Yu, Y., Beltz, T., Johnson, A. K., et al. (2006). Novel Effect of Mineralocorticoid Receptor Antagonism to Reduce Proinflammatory Cytokines and Hypothalamic Activation in Rats With Ischemia-Induced Heart Failure. *Circulation Research* , 99: 758-766.
75. Ohtani, T., Ohta, M., Yamamoto, K., Mano, T., Sakata, Y., Nishio, M., et al. (2007). Elevated cardiac tissue level of aldosterone and mineralocorticoid receptor in diastolic heart failure: beneficial effects of mineralocorticoid receptor blocker. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* , 292: R946-R954.
76. V. Westcott, K., & S. Huang, B. a. (2009). Brain renin-angiotensin-aldosterone system and ventricular remodeling after myocardial infarct: a review. *Can. J. Physiol. Pharmacol* , 87: 979-988.
77. H.H. Leenen, F. (2007). Brain Mecanisms Contributing to Sympathetic Hyperactivity and Heart Failure. *Circulation Research* , 101: 221-223.
78. Jing, L., Li, W.-M., Zhou, L.-J., Li, S., & Kou, J.-J. a. (2008). Expression of Renin-Angiotensin System and Peroxisome Proliferator-Activated Receptors in Alcoholic Cardiomyopathy. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* , Vol 32, No 11.
79. Hamdani, N. a. (2010). Treatment of Heart Failure With Normal Ejection Fraction. *Current Treatment Options in Cardiovascular Medicine* .

80. O. Bonow, R., A. Carabello, B., Chatterjee, K., C. de Leon, A., P. Faxon, D., & D. Freed, M. a. (2006). ACC/ AHA 2006 Guidelines for the Management of Patients With Valvular Heart Disease: A Report of the American College of Cardiology / American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Writing Committee to Revise the 1998 Guidelines... *Circulation* , 114: e84-e231.
81. Evangelista, A., Tornos, P., Sambola, A., & Permanyer-Miralda, G. a.-S. (2005). Long-Term Vasodilator Therapy in Patients with Severe Aortic Regurgitation. *N Engl J Med* , 353: 1342-9.
82. Esler, M. (2010). The 2009 Carl Ludwig Lecture: pathophysiology of the human sympathetic nervous system in cardiovascular diseases: the transition from mechanisms to medical management. *J Appl Physiol* , 108: 227-237.
83. Triposkiadis, F., Karayannis, G., Giamouzis, G., Skoularigis, J., & Louridas, G. a. (2009). The Sympathetic Nervous System in Heart Failure, Physiology, Pathophysiology, and Clinical Implications. *Journal of The American College of Cardiology* , 54: 1747-62.
84. S. Floras, J. (2009). Sympathetic Nervous System Activation in Human Heart Failure, Clinical Implications of an Updated Model. *Journal of The American College of Cardiology* , 54: 375-85.
85. Arsenault, M., Plante, E., & Drolet, M.-C. a. (2002). Experimental aortic regurgitation in rats under echocardiographic guidance. *J Heart Valve Dis* , 11: 128-34.
86. Plante, E., Lachance, D., Champetier, S., Drolet, M.-C., Roussel, E., & Arsenault, M. a. (2008). Benefits of long-term beta-blockade in experimental chronic aortic regurgitation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* , 294: H1888-H1895.
87. Plante, E., Couet, J., Gaudreau, M., Dumas, M.-P., & Drolet, M.-C. a. (2003). Left Ventricular Response to Sustained Volume Overload From Chronic Aortic Valve Regurgitation in Rats. *Journal of Cardiac Failure* , Vol. 9, No. 2.
88. Plante, E., Lachance, D., Gaudreau, M., Drolet, M.-C., Roussel, E., & Arsenault, M. a. (2004). Effectiveness of beta-Blockade in Experimental Chronic Aortic Regurgitation. *Circulation* , 110: 1477-1483.
89. A. Poole-Wilson, P., Swedberg, K., G.F. Cleland, J., Di Lenarda, A., Hanrath, P., Komajda, M., et al. (2003). Comparison of carvedilol and metoprolol on clinical outcomes in patients with chronic heart failure in the Carvedilol Or Metoprolol European Trial (COMET): randomised controlled trial. *The Lancet* , 362: 7-13.
90. Kveiborg, B., Major-Peterson, A., Christiansen, B., & Torp-Pedersen, C. (2007). Carvedilol in the treatment of chronic heart failure: Lessons from The Carvedilol Or Metoprolol European Trial. *Vascular Health and Risk Management* , 3: 31-37.

91. L. Bauman, J. a. (2004). Pharmacodynamics of beta-Blockers in Heart Failure: Lessons from the Carvedilol Or Metoprolol European Trial. *Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics* , 9: 117-128.
92. G.F. Cleland, J., P. Coletta, A., Freemantle, N., Ahmed, D., & Rubis, P. a. (2010). Clinical trials update from the American Heart Association meeting 2009: HEAAL, FAIR-HF, J-CHF, HeartMate II, PACE and a meta-analysis of dose-ranging studies of beta-blockers in heart failure. *European Journal of Heart Failure* , 12: 197-201.
93. E. Udelson, J., J. Pressler, S., & Sackner-Bernstein, J. a. (2009). Adherence With One Daily Versus Twice Daily Carvedilol in Patients With Heart Failure: The Compliance and Quality of Life Study Comparing One-Daily Controlled-Release Carvedilol CR and Twice-Daily Immediate-Release Carvedilol IR in Patients... *Journal of Cardiac Failure* , Vol. 15, No. 5.
94. Nishiyama, K., Tsutamoto, T., & Yamaji, M. a. (2009). Dose-Dependent Prognostic Effect of Carvedilol in Patients With Chronic Heart Failure. *Circulation Journal* , 73: 2270-2275.
95. M. Gomez-Soto, F., P. Romero, S., A. Bernal, J., A. Escobar, M., L. Puerto, J., L. Andrey, J., et al. (2009). Mortality and Morbidity of newly diagnosed heart failure with preserved systolic function treated with beta-blockers: A propensity-adjusted case-control populational study. *International Journal of Cardiology* .
96. S. Go, A., Yang, J., H. Gurwitz, J., Hsu, J., & Lane, K. a. (2008). Comparative Effectiveness of Different beta-Adrenergic Antagonists on Mortality Among Adults With Heart Failure in Clinical Practice. *Arch Intern Med* , 168: 2415-2421.
97. Hanada, K., Asari, K., Saito, M., Kawana, J.-i., & Mita, M. a. (2008). Comparison of pharmacodynamics between carvedilol and metoprolol in rats with isoproterenol-induced cardiac hypertrophy: Effects of carvedilol enantiomers. *European Journal of Pharmacology* , 589: 194-200.
98. He, H., Wang, W., Zhang, H., Ma, L., Wu, H., & Wang, P. a. (2006). Fosinopril and Carvedilol Reverse Hypertrophy and Change the Levels of Protein Kinase C and Components of its Signaling Complex. *Cardiovasc Drugs Ther* , 20: 259-271.
99. Sampat, U., Varadarajan, P., Turk, R., Kamath, A., & Khandhar, S. a. (2009). Effect of Beta-Blocker Therapy on Survival in Patients With Severe Aortic Regurgitation: Results From a Cohort of 756 Patients. *Journal of the American College of Cardiology* , 54: 452-457.
100. Elkayam, U. (2009). Beta-Blockers in the The Treatment of Aortic Regurgitation: A New Opportunity? *Journal of the American College of Cardiology* , 54: 458-459.
101. Bonow, R., Carabello, B., Edmunds, L., Fedderly, B., Freed, M., & Gaasch, W. a. (1998). Guidelines for the management of patients with valvular heart disease: executive

summary. A report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation* , 1949-1984.

102. Quinones, M., Waggoner, A., & Reduto, L. a. (1981). A new simplified and accurate method for determining ejection fraction with two-dimensional echocardiography. *Circulation* , 64: 744-53.

103. Livak, K., & Schmittgen, T. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2⁻($\Delta\Delta C(T)$) Method. *Methods* , 25: 402-408.

104. Miyachi, M., Yazawa, H., Furukawa, M., Tsuboi, K., Ohtake, M., Nishizawa, T., et al. (2009). Exercise training alters left ventricular geometry and attenuates heart failure in dahl salt-sensitive hypertensive rats. *Hypertension* , 53: 701-7.

105. Janicki, J. a. (2002 December). The role of myocardial fibrillar collagen in ventricular remodeling and function . *J Card Fail* , 8(6 Suppl): S319-S325.

106. Lopez, B., Gonzalez, A., Querejeta, R., & Larman, M. a. (2006 July). Alterations in the pattern of collagen deposition may contribute to the deterioration of systolic function in hypertensive patients with heart failure . *J Am Coll Cardiol* , 4;48(1):89-96.

107. Norton, G., Tsotetsi, J., Trifunovic, B., Hartford, C., Candy, G., & Woodiwiss, A. (1997 September). Myocardial stiffness is attributed to alterations in cross-linked collagen rather than total collagen or phenotypes in spontaneously hypertensive rats. *Circulation* , 16;96(6): 1991-8.

108. Scognamiglio, R., Rahimtoola, S., Fasoli, G., & Nistri, S. a.-V. (1994). Nifedipine in asymptomatic patients with severe aortic regurgitation and normal left ventricular function. *NEJM* , Volume 331, Number 11.

109. Lin, M., Chiang, H., Lin, S., Chang, M., N. Chiang, B., & Kuo, H. a. (1994). Vasodilator Therapy in Chronic Asymptomatic Aortic Regurgitation: Enalapril Versus Hydralazine Therapy. *JACC* , 1046-53.