



HAL
open science

Impact cardiovasculaire de la pioglitazone dans un modèle murin d'élastocalcinose

Virginie Gaillard

► **To cite this version:**

Virginie Gaillard. Impact cardiovasculaire de la pioglitazone dans un modèle murin d'élastocalcinose. Sciences pharmaceutiques. 2004. hal-01732440

HAL Id: hal-01732440

<https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01732440v1>

Submitted on 14 Mar 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

2004

FACULTE DE PHARMACIE



**IMPACT CARDIOVASCULAIRE DE LA
PIOGLITAZONE DANS UN MODELE MURIN
D'ELASTOCALCINOSE**

THESE

Présentée et soutenue publiquement

Le 2 juin 2004

pour obtenir

Le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie

par **Virginie GAILLARD**

née le 18 juin 1978

D8 2004

Membres du Jury

Président : M. Jeffrey ATKINSON, Professeur, Faculté de Pharmacie, Nancy

Juges : Mme Isabelle LARTAUD, Maître de Conférences, Faculté de Pharmacie, Nancy

M. Michel DAUÇA, Professeur, Faculté des Sciences, Nancy

M. Pierre GILLET, Professeur, Faculté de Médecine, Nancy

BU PHARMA-ODONTOL



104 067117 0

UNIVERSITE HENRI POINCARÉ – NANCY I

2004

FACULTE DE PHARMACIE

**IMPACT CARDIOVASCULAIRE DE LA
PIOGLITAZONE DANS UN MODELE MURIN
D'ELASTOCALCINOSE**

THESE



Présentée et soutenue publiquement

Le 2 juin 2004

pour obtenir

Le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie

par **Virginie GAILLARD**

née le 18 juin 1978

D3 30223

Membres du Jury

Président : M. Jeffrey ATKINSON, Professeur, Faculté de Pharmacie, Nancy

Juges : Mme Isabelle LARTAUD, Maître de Conférences, Faculté de Pharmacie, Nancy

M. Michel DAUÇA, Professeur, Faculté des Sciences, Nancy

M. Pierre GILLET, Professeur, Faculté de Médecine, Nancy

Membres du personnel enseignant 2003/2004

Doyen

Chantal FINANCE

Vice Doyen

Anne ROVEL

Président du Conseil de la Pédagogie

Pierre LABRUDE

Responsable de la Commission de la Recherche

Jean-Claude BLOCK

Responsable de la Filière officine

Gérald CATAU

Responsable de la Filière industrie

Jeffrey ATKINSON

DOYEN HONORAIRE

M. VIGNERON Claude

PROFESSEURS EMERITES

M. BONALY Roger

M. HOFFMAN Maurice

PROFESSEURS HONORAIRES

Mlle BESSON Suzanne

Mlle GIRARD Thérèse

M. JACQUE Michel

M. LECTARD Pierre

M. LOPPINET Vincent

M. MARTIN Jean-Armand

M. MIRJOLET Marcel

M. PIERFITTE Maurice

M. SCHWARTZBROD Louis

PROFESSEURS

M.	ASTIER Alain	Pharmacie clinique
M.	ATKINSON Jeffrey	Pharmacologie cardiovasculaire
M	AULAGNER Gilles	Pharmacie clinique
M.	BAGREL Alain	Biochimie
Mlle	BATT Anne-Marie	Toxicologie
M.	BLOCK Jean-Claude	Santé publique
Mme	CAPDEVILLE-ATKINSON Christine	Pharmacologie cardiovasculaire
Mme	FINANCE Chantal	Bactériologie -Immunologie
Mme	FRIANT-MICHEL Pascale	Mathématiques, physique, audioprothèse
Mlle	GALTEAU Marie-Madeleine	Biochimie clinique
M.	HENRY Max	Botanique, mycologie
M.	LABRUDE Pierre	Physiologie, orthopédie, maintien à domicile
M.	LALLOZ Lucien	Chimie organique
M.	LEROY Pierre	Chimie physique générale
M.	MAINCENT Philippe	Pharmacie galénique
M.	MARSURA Alain	Chimie thérapeutique
M.	MORTIER François	Pharmacognosie
M.	NICOLAS Alain	Chimie analytique
M.	REGNOUF de VAINS Jean-Bernard	Chimie Thérapeutique
M.	RIHN Bertrand (Professeur associé)	Biochimie
Mme	SCHWARTZBROD Janine	Bactériologie, parasitologie
M.	SIEST Gérard	Biologie, pharmacologie moléculaire
M.	SIMON Jean-Michel	Droit officinal, législation pharmaceutique
M.	VIGNERON Claude	Hématologie, physiologie

PROFESSEUR ASSOCIE

Mme GRISON Geneviève

Pratique officinale

MAITRES DE CONFERENCES

Mme	ALBERT Monique	Bactériologie - virologie
Mme	BANAS Sandrine	Parasitologie
M.	BOISBRUN Michel	Chimie Thérapeutique
Mme	BOITEUX Catherine	Biophysique, Audioprothèse
M.	BONNEAUX François	Chimie thérapeutique
M.	CATAU Gérard	Pharmacologie
M.	CHEVIN Jean-Claude	Chimie générale et minérale
M.	CHILLON Jean-Marc	Pharmacologie
M	CLAROT Igor	Chimie analytique
Mme	COLLOMB Jocelyne	Parasitologie, conseils vétérinaires
M.	COULON Joël	Biochimie
M.	DECOLIN Dominique	Chimie analytique
M.	DUCOURNEAU Joël	Biophysique, audioprothèse, acoustique
Mme	FAIVRE-FIORINA Béatrice	Hématologie
M.	FERRARI Luc	Toxicologie
Mle	FONS Françoise	Biologie végétale, mycologie
M.	GANTZER Christophe	Virologie
M.	GIBAUD Stéphane	Pharmacie clinique
Mle	HINZELIN Françoise	Mycologie, botanique
M.	HUMBERT Thierry	Chimie organique
M.	JORAND Frédéric	Santé, environnement
Mme	KEDZIEREWICZ Francine	Pharmacie galénique
Mle	LAMBERT Alexandrine	Biophysique, biomathématiques
M.	LAMPRECHT Alf	Pharmacie galénique
Mme	LARTAUD-IDJOUADIENE Isabelle	Pharmacologie
Mme	LEININGER-MULLER Brigitte	Biochimie
Mme	LIVERTOUX Marie-Hélène	Toxicologie
Mme	MARCHAL-HEUSSLER Emmanuelle	Communication et santé
Mme	MARCHAND-ARVIER Monique	Hématologie
M.	MENU Patrick	Physiologie
M.	MONAL Jean-Louis	Chimie thérapeutique
M.	NOTTER Dominique	Biologie cellulaire
Mme	PAULUS Francine	Informatique
Mme	PERDIAKIS Christine	Chimie organique
Mme	PICHON Virginie	Biophysique
Mme	ROVEL Anne	Histologie, physiologie
Mme	SAUDER Marie-Paule	Mycologie, botanique
M.	TROCKLE Gabriel	Pharmacologie
Mme	WELLMAN-ROUSSEAU Maria-Monika	Biochimie
Mme	ZINUTTI Colette	Pharmacie galénique

PROFESSEUR AGREGE

M. COCHAUD Christophe

Anglais

ASSISTANTS

Mme	BEAUD Mariette	Biologie cellulaire
Mme	BERTHE Marie-Catherine	Biochimie
M.	DANGIEN Bernard	Mycologie
Mme	MOREAU Blandine	Pharmacognosie, phytothérapie
Mme	PAVIS Annie	Bactériologie

SERMENT DES APOTHICAIRES



Je jure, en présence des maîtres de la Faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ; en aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.



« LA FACULTE N'ENTEND DONNER AUCUNE APPROBATION,
NI IMPROBATION AUX OPINIONS EMISES DANS LES
THESES, CES OPINIONS DOIVENT ETRE CONSIDEREES
COMME PROPRES A LEUR AUTEUR ».

A NOTRE PRESIDENT DE THESE

Monsieur le Professeur Jeffrey ATKINSON
Professeur de Pharmacologie Cardiovasculaire
Faculté de Pharmacie de Nancy

Vous nous avez fait le grand honneur de nous accueillir avec bienveillance dans votre Laboratoire et d'avoir inspiré et initié cette thèse.

Votre esprit critique, votre rigueur scientifique et intellectuelle sont pour nous un exemple.

Nous bénéficions chaque jour de la richesse de vos enseignements et de votre grande expérience de la recherche en Pharmacologie Cardiovasculaire.

Nous vous remercions de l'attention et de l'intérêt que vous manifestez pour notre travail ainsi que du soutien et des conseils que vous nous prodiguez.

Que cette thèse que vous avez accepté de présider et de juger soit le témoignage de toute notre estime et de notre profonde reconnaissance.

A NOTRE DIRECTEUR DE THESE

Madame le Docteur Isabelle LARTAUD

Maître de Conférences de Pharmacologie Cardiovasculaire

Faculté de Pharmacie de Nancy

Vous avez su guider avec patience et bienveillance nos premiers pas dans la recherche et nous communiquer votre chaleureux enthousiasme scientifique.

Vos connaissances et votre compétence nous ont été très précieuses pour mener à bien ce travail.

Votre disponibilité, votre sollicitude et vos conseils éclairés dans l'encadrement quotidien de nos recherches ont toujours été une aide très appréciable.

Nous tenons à vous exprimer tous nos sincères remerciements et toute notre gratitude.

A NOTRE JURY DE THESE

Monsieur le Professeur Michel DAUÇA
Professeur de Biologie Cellulaire
Faculté des Sciences et Techniques de Nancy.

Vous nous avez montré l'intérêt que vous portiez à ce travail et permis de le mener à bien en nous faisant partager la richesse de vos connaissances sur les PPARs.

Nous vous sommes particulièrement reconnaissante de votre disponibilité et de l'accueil bienveillant que vous nous avez réservé dans votre Laboratoire et de votre gentillesse à notre égard.

Nous vous remercions de votre présence dans notre jury et vous assurons de notre profond respect.

Monsieur le Professeur Pierre GILLET
Professeur de Pharmacologie
Faculté de Médecine de Nancy

Nous sommes très touchée de l'attention que vous avez porté à ce travail et de l'honneur que vous nous faites en acceptant de le juger.

Nous vous exprimons ici toute notre reconnaissance et nos respectueux remerciements.

Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance et mes remerciements pour l'aide et le soutien qu'ils m'ont apporté tout au long de ce travail à :

Madame Christine CAPDEVILLE-ATKINSON,

Monsieur Philippe GIUMMELLY,

Monsieur Patrick LIMIÑANA,

Caroline CANTINI, Arnaud MANSART et Hervé JAVELOT,

Aurore TABELLION, Frédérick AGUILAR et Jean-Martin VINCENT,

ainsi qu'à tous les membres du Laboratoire de Pharmacologie Cardiovasculaire.

Monsieur Hervé SCHOHN,

Mademoiselle Aurélie BELTZ,

ainsi qu'à tous les membres du Laboratoire "Proliférateurs de Peroxysomes".

A mon Grand-Père,

Tu attendais ce jour avec impatience.

Je t'aurais fait partager mon travail, tu m'aurais soutenue et encouragée comme tu l'as toujours fait avec tout ton amour de Papinou.

J'essaierai de toujours suivre ton exemple.

Cette thèse est pour toi. Tu me manques.

A mes Grands-Parents,

A Marie-Françoise et Brigitte,

Votre présence aujourd'hui à mes côtés aurait été pour moi une grande joie.

**A mes Parents,
A ma Grand-Mère,
A Fabienne et Jean-Noël,
A Guilhem,**

Vous avez toujours su m'entourer de tout votre amour et toute votre attention.

Vous avez toujours été présents pour me conseiller, m'écouter avec patience et me soutenir dans les moments de joie ou de doutes tout au long de mes années d'études.

Vous m'avez appris le travail, la rigueur, la volonté, l'ouverture d'esprit.
Je connais grâce à vous le sens de la famille et des valeurs humaines.

Que ce travail soit le témoignage de toute ma reconnaissance et de tout mon amour.

**A mes Oncles, Tantes, Cousins et Cousines,
A toute ma famille,**

Pour leur affection et l'intérêt qu'ils ont toujours manifesté pour mon travail.

A Olivier et Patricia,

Qui ont guidé mes premiers pas à la Faculté de Pharmacie et dont les conseils avisés m'ont toujours été très précieux.

A la "Poulette Connexion" et à tous mes amis,

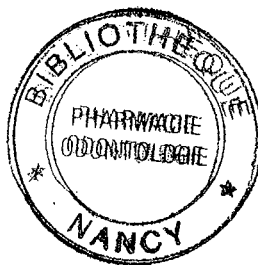
Pour les moments de joie, d'amitié et de complicité partagée qui ont toujours été et seront toujours pour moi un soutien inestimable.

A Madame Michèle GENTILHOMME-PETRONIN et au Personnel de sa pharmacie,

Qui m'ont toujours très gentiment accueillie.

SOMMAIRE

LISTE DES ABREVIATIONS	4
LISTE DES TABLEAUX	6
LISTE DES FIGURES	7
INTRODUCTION GENERALE	9
ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	12
I – ELASTICITE DE LA PAROI ARTERIELLE	13
I.1 – DEFINITIONS	13
I.2 – RIGIDITE PARIETALE AORTIQUE, RISQUES ET CONSEQUENCES CARDIOVASCULAIRES	16
<i>I.2.1 – Pression pulsée et hypertension systolique isolée</i>	16
I.2.1.1 – Définitions	16
I.2.1.2 – Hypertension systolique isolée	17
I.2.1.3 – Amplification de la pression pulsée	18
I.2.1.4 – Pression pulsée et risque cardiovasculaire	19
<i>I.2.2 – Conséquences cardiaques de l'augmentation de pression pulsée</i>	20
<i>I.2.3 – Fatigue du cumul des chocs et remodelage pariétal</i>	22
<i>I.2.4 – Perturbation de la distribution des flux</i>	24
I.3 – MESURE DES PROPRIETES ELASTIQUES DE LA PAROI AORTIQUE	25
<i>I.3.1 – Mesure des variations de diamètre du vaisseau</i>	25
<i>I.3.2 – Mesure de la vitesse de transmission de l'onde de pouls</i>	27
<i>I.3.3 – Estimation de la compliance aortique à partir de modèles mathématiques</i>	28
I.4 – DETERMINANTS DE LA RIGIDITE PARIETALE	29
<i>I.4.1 – Tonus musculaire local</i>	29
<i>I.4.2 – Contrainte pariétale</i>	30
I.4.2.1 – Effet de la pression intraluminale	30
I.4.2.2 – Effet de la géométrie aortique	31
<i>I.4.3 – Composition pariétale</i>	31
I.4.3.1 – Description de la composition pariétale aortique	31
I.4.3.2 – Rôle de la média dans les propriétés élastiques de la paroi	32
<i>I.4.4 – Effets du vieillissement sur les déterminants de la rigidité pariétale</i>	33
I.4.4.1 – Modifications de la contrainte pariétale	33
I.4.4.2 – Modifications de la composition pariétale	34



I.5 – MODELES ANIMAUX DE RIGIDITE PARIETALE AORTIQUE HUMAINE	36
I.5.1 – <i>Problématique</i>	36
I.5.2 – <i>Le rat VDN</i>	37
I.5.2.1 – Développement du rat VDN	37
I.5.2.2 – Caractéristiques du modèle VDN	38
II – LES PPARS ET LEURS EFFETS BIOLOGIQUES	42
II.1 – GENERALITES	43
II.1.1 – <i>Les récepteurs nucléaires et la sous-famille des PPARs</i>	43
II.1.2 – <i>Structure des PPARs</i>	43
II.1.3 – <i>Mécanisme d'action des PPARs</i>	44
II.2 – FONCTIONS BIOLOGIQUES DES PPARS	47
II.2.1 – <i>Expression tissulaire</i>	47
II.2.2 – <i>Ligands</i>	47
II.2.3 – <i>Principales fonctions physiologiques des PPARs</i>	49
II.2.3.1 – PPAR α et métabolisme lipidique	49
II.2.3.2 – PPAR γ , différenciation adipocytaire et métabolisme glucidique	50
II.2.3.3 – PPARs et inflammation	52
II.3 – PPARS ET PATHOLOGIES CARDIOVASCULAIRES	53
II.3.1 – <i>PPARs et dysfonction cardiaque au cours de l'hypertrophie cardiaque</i>	53
II.3.2 – <i>PPARs et athérosclérose</i>	54
II.3.3 – <i>Autres effets cardiovasculaires des PPARs</i>	57
II.4 – PERSPECTIVES THERAPEUTIQUES DES PPARS	59
II.4.1 – <i>Les modulateurs spécifiques des PPARs : les SPPARMs</i>	59
II.4.2 – <i>Les co-agonistes PPARα/γ : les glitazars</i>	61
ETUDE EXPERIMENTALE	62
I – HYPOTHESE DE TRAVAIL	63
II – MATERIEL ET METHODES	65
II.1 – ANIMAUX ET TRAITEMENTS	65
II.1.1 – <i>Traitement VDN : induction de l'élastocalcinose aortique</i>	65
II.1.2 – <i>Traitement chronique par la pioglitazone</i>	66
II.1.3 – <i>Traitement aigu par la pioglitazone</i>	67
II.2 – MESURES HEMODYNAMIQUES	67
II.2.1 – <i>Implantation de cathéters artériels et veineux</i>	67
II.2.2 – <i>Mesure des paramètres hémodynamiques de base</i>	68
II.2.3 – <i>Mesure de la vitesse de transmission de l'onde de pouls</i>	69
II.3 – PRELEVEMENT DU CŒUR ET DE L'AORTE	70

II.4 – IMMUNOHISTOCHEMIE PPAR γ	72
II.5 – MESURE DU DIAMETRE INTERNE ET DE L'EPAISSEUR MEDIALE	74
II.6 – DETERMINATION DU MODULE ELASTIQUE ET DE LA CONTRAINTE PARIETALE	75
II.7 – EVALUATION DE L'ETAT DU RESEAU ELASTIQUE	75
II.8 – WESTERN-BLOT DE LA PROTEINE PPAR γ	77
II.9 – MESURE DES PARAMETRES BIOCHIMIQUES DE LA PAROI AORTIQUE	78
II.9.1 – Détermination du taux de protéines totales	78
II.9.2 – Détermination du taux de collagène	79
II.9.3 – Détermination du taux de calcium	79
II.10 – ANALYSE STATISTIQUE DES RESULTATS	79
III – RESULTATS	80
III.1 – LOCALISATION ET QUANTIFICATION DE LA PROTEINE PPAR γ	80
III.2 – ETAT DU RESEAU ELASTIQUE MEDIAL	82
III.3 – COMPOSITION DE LA PAROI	84
III.3.1 – Taux de protéines et de collagène et rapport poids sec/ poids frais	84
III.3.2 – Taux de calcium total	85
III.4 – GEOMETRIE DE L'AORTE	86
III.5 – INDICES DE RIGIDITE DE LA PAROI AORTIQUE ET PARAMETRES HEMODYNAMIQUES	87
III.6 – PARAMETRES CARDIAQUES	90
III.7 – GLYCEMIE ET EVOLUTION DU POIDS CORPOREL	91
III.8 – EFFETS DE L'ADMINISTRATION AIGUË DE PIOGLITAZONE	93
IV – DISCUSSION	94
IV.1 – PIOGLITAZONE ET RIGIDITE PARIETALE AORTIQUE	95
IV.1.1 – Pioglitazone et calcification	95
IV.1.2 – Pioglitazone, lames élastiques et inflammation	97
IV.2 – PIOGLITAZONE, PRESSION PULSEE ET HYPERTROPHIE VENTRICULAIRE GAUCHE	99
IV.3 – QUEL EST LE MEILLEUR MODELE POUR L'ETUDE DES LIENS ENTRE PPAR γ , INFLAMMATION ET MVR ?	100
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	101
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	103
Résumé de la communication affichée au 8 ^{ème} Congrès Annuel de la SFP	124
Résumé de l'article soumis à <i>Hypertension</i>	125

LISTES DES ABREVIATIONS

8-(S)HETE	Acide 8-(S) hydroxy-eicosatétraénoïque
15d-PGJ ₂	15-deoxy- $\Delta^{12,14}$ Prostaglandines J ₂
AF-1, AF-2	Activation function-1, Activation function-2, fonction activatrice
AGEs	Advanced glycation end products, produits de fin de glycation
AINS	Anti-inflammatoires non-stéroïdiens
ANOVA	Analyse de variance
bpm	Battements par minute
BSA	Bovine serum albumin, albumine sérique bovine
CMC	Carboxyméthylcellulose
CML	Cellule musculaire lisse
CP	Contrainte pariétale
D _i	Diamètre interne
DNFB	Dinitrofluorobenzène
Δl	Longueur de l'aorte entre le cathéter central et le cathéter périphérique
ΔP	Variation de pression intraluminale
Δt	Délai de transmission de l'onde de pouls entre les deux sites de mesure
ΔV	Variation de volume
V ₀	Volume artériel initial (diastolique)
EDTA	Ethylènediaminetétracétate
esm	Ecart standard à la moyenne
h	Epaisseur médiale
HCl	Acide chlorhydrique
HDL	High density lipoprotein, lipoprotéine de haute densité
HTA	Hypertension artérielle
HTSI	Hypertension systolique isolée
HVG	Hypertrophie ventriculaire gauche
Il-x	Interleukine X
J _x	Jour X
LDL	Low density lipoprotein, lipoprotéine de basse densité
MCP-1	Monocyte Chemoattractant Protein-1, protéine chimio-attractante de monocyte de type 1
ME	Module élastique

MEC	Matrice extracellulaire
ME/CP	Rapport module élastique/contrainte pariétale
ME _{inc}	Module élastique incrémental
MMP	Métalloprotéinases matricielles
MVR	Maladie des vaisseaux rigides
NO	Monoxyde d'azote
Non-VDN	Rats non traités par la vitamine D ₃ et la nicotine
PAD	Pression aortique diastolique
PAM	Pression aortique moyenne
PAS	Pression aortique systolique
PGJ ₂	Prostaglandine J ₂
PP	Pression pulsée
PBS	Phosphate buffered saline, solution saline tamponnée à pH 7,4
PF	Poids frais
Pio	Pioglitazone
Pio+	Rats traités par la pioglitazone
Pio-	Rats non traités par la pioglitazone
PPARs	Récepteurs activés par les proliférateurs de peroxyosomes
PPRE	Peroxisome proliferator response elements, éléments de réponse aux proliférateurs de peroxyosomes
PS	Poids sec
PS/PF	Rapport poids sec/poids frais
RXR	Retinoic X récepteur, récepteur nucléaire de l'acide 9-cis rétinolique
SDS	Sodium Dodécyl Sulfate
SPPARM	Selective PPAR modulator, modulateurs spécifiques des PPARs
TNF- α	Tumor Necrosis Factor alpha
TZD	Thiazolidinediones
V ₀	Volume artériel initial (diastolique)
VDN	Rats traités par la vitamine D ₃ et la nicotine
VG	Ventricule gauche + septum
VG/PC	Rapport poids du ventricule gauche + septum/poids corporel à J ₄₅
VLDL	Very low density lipoprotein, lipoprotéine de très basse densité
VOP	Vitesse de transmission de l'onde de pouls thoraco-abdominale

LISTES DES TABLEAUX

Tableau 1 : Ligands endogènes et synthétiques activateurs des différentes isoformes de PPARs.

Tableau 2 : Localisation du marquage fluorescent PPAR γ dans les coupes d'aorte issues de rats VDN ou non, traités ou non par la pioglitazone 3 mg/kg/j.

Tableau 3 : Quantification de la dégradation du réseau élastique chez les rats VDN ou non, traités ou non de J₁ à J₄₄ ou de J₁₅ à J₄₄ par la pioglitazone 3 mg/kg/j.

Tableau 4 : Composition de la paroi aortique : taux de protéines totales, taux de collagène, rapport PS/PF chez les rats VDN ou non, traités ou non de J₁ à J₄₄ ou de J₁₅ à J₄₄ par la pioglitazone 3 mg/kg/j.

Tableau 5 : Géométrie de l'aorte thoracique : D_i, h et SSCTM chez les rats VDN ou non, traités ou non de J₁ à J₄₄ ou de J₁₅ à J₄₄ par la pioglitazone 3 mg/kg/j.

Tableau 6 : Pressions aortiques centrales, contrainte pariétale, VOP, ME chez les rats anesthésiés VDN ou non, traités ou non de J₁ à J₄₄ ou de J₁₅ à J₄₄ par la pioglitazone 3 mg/kg/j.

Tableau 7 : Fréquence cardiaque et poids du VG chez les rats anesthésiés VDN ou non, traités ou non de J₁ à J₄₄ ou de J₁₅ à J₄₄ par la pioglitazone 3 mg/kg/j.

Tableau 8 : Taux de glucose plasmatique (mmol/L) chez les rats VDN ou non, traités ou non de J₁ à J₄₄ ou de J₁₅ à J₄₄ par la pioglitazone 3 mg/kg/j.

Tableau 9 : Résumé des effets des traitements VDN et Pio sur la rigidité pariétale (ME/CP), ses conséquences pathologiques (PP centrale et HVG) et ses déterminants (contrainte et composition pariétales) et sur le poids corporel.

LISTES DES FIGURES

- Figure 1 : Contraintes radiales (r), circonférentielle (C) et longitudinale (L) imposées à la surface aortique.
- Figure 2 : Représentation schématique de la relation contrainte-déformation d'un corps purement élastique et d'un corps viscoélastique comme la paroi aortique ainsi que du module élastique de Young et du module élastique incrémental.
- Figure 3 : Onde de pression artérielle avec la pression artérielle moyenne et la PP, définie comme la différence entre la pression artérielle systolique et la pression artérielle diastolique.
- Figure 4 : Evolution du contour de l'onde de pression le long de l'aorte chez l'Homme.
- Figure 5 : Onde de pression artérielle caractéristique d'un sujet jeune et d'un sujet âgé.
- Figure 6 : Influence de l'étirement cyclique sur le remodelage de la paroi artérielle et les modifications des propriétés élastiques de la paroi, soit par une voie active biochimique, soit par une voie passive biomécanique.
- Figure 7 : Principe de la mesure de la pression pulsée par tonométrie d'aplanation.
- Figure 8 : Evolution du taux de calcium plasmatique et de la paroi de l'aorte thoracique suite à un traitement VDN au jour 0.
- Figure 9 : Coupes d'aorte de rat VDN montrant la calcification intense de la paroi.
- Figure 10 : Observation des lames élastiques d'aorte de rats VDN et Non-VDN en microscopie confocale.
- Figure 11 : Schéma représentatif des conséquences de l'élastocalcinose dans le modèle VDN.
- Figure 12 : Représentation schématique de la structure de la protéine PPAR et de ses différents domaines.
- Figure 13 : Mécanisme d'action des PPARs par trans-activation.
- Figure 14 : Mécanisme d'action des modulateurs spécifiques de PPARs ou SPPARMs.
- Figure 15 : Mécanisme d'action des glitazars ou co-agonistes PPAR α/γ .

Figure 16 : Représentation schématique et chronologique du protocole des traitements aigu (VDN) et chronique (Pio) et effectif par groupe.

Figure 17 : Schéma de l'aorte avec l'emplacement des cathéters et des segments prélevés pour les analyses histologiques et biochimiques.

Figure 18 : Procédure expérimentale de mise en évidence de la protéine PPAR γ par immunohistochimie au niveau de coupes aortiques.

Figure 19 : Coupes d'aorte : (A) : définition de la zone d'étude, (B) : quantification du degré de dégradation du réseau élastique.

Figure 20 : Coupes aortiques d'un rat Non-VDN / Pio+, colorées au bromure d'éthidium : (A) en absence d'anticorps anti-PPAR γ , (B) en présence d'anticorps anti-PPAR γ .

Figure 21 : Quantification par Western blot de la quantité de la protéine PPAR γ chez des rats VDN ou non, traités ou non par la pioglitazone 3 mg/kg/j : (A) exemple représentatif des bandes obtenues, (B) quantification densitométrique.

Figure 22 : Coupes d'aorte montrant le réseau élastique médial, représentatives des rats Non-VDN, VDN / Pio- et VDN / Pio +.

Figure 23 : Taux de calcium total de la paroi aortique chez les rats VDN ou non, traités ou non de J₁ à J₄₄ ou de J₁₅ à J₄₄ par la pioglitazone 3 mg/kg/j.

Figure 24 : ME/CP et PP centrale chez les rats VDN ou non, traités ou non de J₁ à J₄₄ ou de J₁₅ à J₄₄ par la pioglitazone 3 mg/kg/j.

Figure 25 : Régressions linéaires entre le rapport ME/CP et le taux de calcium total de la paroi aortique chez les rats VDN : (A) tous traitements et durées confondus, et (B) dans les sous-groupes Pio+ et Pio- des rats VDN.

Figure 26 : Régression linéaire entre le rapport VG + septum/PC et le rapport ME/CP chez les rats VDN.

Figure 27 : Evolution du poids corporel entre J₀ et J₄₅ chez les rats VDN ou non, traités ou non de J₁ à J₄₄ ou de J₁₅ à J₄₄ par la pioglitazone 3 mg/kg/j.

INTRODUCTION

GÉNÉRALE

Les effets combinés de l'augmentation de l'espérance de vie, de la diminution de la natalité et de l'arrivée à l'âge de la retraite de la génération du Baby-boom ont accru la proportion de seniors au sein des sociétés occidentales. Ce contexte démographique particulier, associé à la volonté légitime de "bien" vieillir des Papy-boomers, pose aux scientifiques et aux professionnels de santé la question d'une meilleure compréhension des mécanismes du vieillissement pour peut-être parvenir un jour à en limiter les effets.

Les effets du vieillissement cardiovasculaire sont l'une des principales causes de mortalité dans les pays occidentaux. Au niveau des gros troncs artériels, ce vieillissement va se manifester par l'apparition d'une artériosclérose, s'accompagnant d'une rigidité pariétale accrue ayant elle-même des répercussions sur l'ensemble du système cardiovasculaire.

L'augmentation de la rigidité pariétale aortique avec l'âge a été définie par Safar (1989) comme "maladie des vaisseaux rigides" (MVR ou "stiff vessel disease"). L'étude de la cohorte de Framingham a permis d'estimer sa prévalence à plus de 30% chez les personnes âgées de plus de 75 ans (Kannel et coll., 1980).

La description de la MVR revêt une importance clinique majeure étant donné l'hypertension systolique isolée (HTSI) qui en résulte (Nichols et O'Rourke, 1998) et le lien entre morbidité et mortalité cardiovasculaires et HTSI (Kannel, 2003).

Cependant, à ce jour, il n'existe aucun traitement anti-artériosclérotique spécifique de la MVR, en dehors de quelques tentatives thérapeutiques médicamenteuses, majoritairement expérimentales, visant à corriger certaines de ses manifestations telles que la calcification (traitement anti-calcique, Fleckenstein et coll., 1983) ou la glycation du collagène (traitement anti-"AGEs" (advanced glycation end products), Huijberts et coll., 1993 ; Cantini et coll., 2001 ; Kass et coll., 2001). De plus, les traitements antihypertenseurs actuels tendent surtout à diminuer la composante diastolique, parfois de façon trop importante, par rapport à la composante systolique. Or, c'est uniquement cette dernière qui est augmentée dans l'HTSI.

Au cours de ce travail de thèse expérimentale, nous avons choisi d'explorer une nouvelle voie pour tenter de mieux comprendre la survenue et le développement de la MVR, qui, si elle se révélait être impliquée, pourrait permettre d'identifier de nouvelles cibles pharmacologiques. Cette nouvelle voie est basée sur des observations récentes qui nous ont

suggéré que le processus artériosclérotique pourrait être, entre autres, d'origine inflammatoire.

D'une part, cette hypothèse nous a été suggérée par plusieurs études cliniques récentes montrant une augmentation de la rigidité pariétale artérielle chez les patients souffrant de pathologies à composante inflammatoire telles que la polyarthrite rhumatoïde (Wong et coll., 2003) ou le lupus érythémateux (Selzer et coll., 2001). Plus récemment, Booth et ses collaborateurs (2004) ont observé que la vascularite systémique, modèle d'inflammation systémique était associée à une augmentation de la rigidité pariétale artérielle. D'autres travaux de la même équipe (Yasmin et coll., 2004), montrant que vitesse de transmission de l'onde de pouls (VOP) et pression pulsée (PP), toutes deux augmentées lors de la rigidification de la paroi de l'aorte, sont significativement corrélées aux taux de protéine C-réactive, suggérant ainsi que l'inflammation pourrait être impliquée dans les mécanismes de rigidification de la paroi artérielle, nous ont également conforté dans cette hypothèse.

D'autre part, Ricote et ses collaborateurs (1998b) et Duval et ses collaborateurs (2002) ont étudié la modulation de la réponse inflammatoire dans le cadre de l'athérosclérose, autre pathologie vasculaire avec inflammation pariétale et présentant des analogies avec la MVR. Ces auteurs ont ainsi montré que l'activation des PPAR γ (Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ , récepteurs activés par les activateurs de peroxyosomes de type γ), récepteurs nucléaires capables, entre autres propriétés, de moduler l'inflammation, par un ligand spécifique de la famille des glitazones ou thiazolidinediones (TZD), avait un effet bénéfique sur la progression des manifestations athérosclérotiques. A notre connaissance, aucune étude n'a été réalisée pour évaluer l'impact de l'activation des PPAR γ sur l'artériosclérose.

Ces différents éléments nous conduisent à émettre l'hypothèse d'une participation d'un processus inflammatoire dans la MVR et d'une implication des PPAR γ dans la modulation de ce processus, *via* leur activation par un ligand spécifique.

Dans une première partie bibliographique, nous nous consacrerons à la description des caractéristiques de la MVR et de ses méthodes d'exploration, ainsi qu'à l'étude des PPARs et de leurs fonctions biologiques et plus particulièrement de leur implication dans des pathologies cardiovasculaires. Dans une seconde partie, nous exposerons les expérimentations que nous avons réalisées afin de vérifier notre hypothèse de travail.

ETUDE
BIBLIOGRAPHIQUE

I – ELASTICITE DE LA PAROI ARTERIELLE

Ejecté du cœur de façon pulsatile, le sang présente à sa sortie du ventricule gauche d'importantes oscillations de pression. Les gros troncs artériels (aorte, artères fémorales, artères carotides...) ont alors pour rôle de transformer cet écoulement pulsatile en un écoulement stabilisé en pression. En effet, les gros troncs artériels peuvent recevoir instantanément le volume de sang éjecté du cœur en l'emmagasinant en partie pendant la systole puis en le restituant pendant la diastole, permettant ainsi une perfusion continue des organes. Cette fonction d'amortissement (ou effet Windkessel) n'est rendue possible que grâce aux propriétés d'élasticité de la paroi artérielle.

I.1 – DEFINITIONS

L'élasticité est la propriété physique que possède un corps de se déformer sous l'effet d'une force ou contrainte, puis de reprendre sa forme initiale lorsque la force cesse de s'exercer (Kane et Sternheim, 1986). Les propriétés d'élasticité d'un corps peuvent être étudiées grâce à des courbes contrainte/déformation. Par exemple, dans le cas des gros troncs artériels, la contrainte sera la pression intraluminale tandis que la déformation pourra être évaluée par les variations du diamètre artériel (Figure 2).

La déformation d'un corps purement élastique est instantanée et proportionnelle à la contrainte (loi de Hooke). Cependant, à cause de l'hétérogénéité de sa composition, la paroi artérielle n'est pas purement élastique mais présente plutôt un caractère viscoélastique. Ainsi, un facteur temps supplémentaire entre également en compte : la déformation consécutive à une contrainte n'est pas instantanée, de même que le retour à l'état initial.

La déformation de la paroi aortique résulte de l'application d'une contrainte qui est définie comme la force imposée par unité de surface, ou contrainte pariétale (CP). La paroi aortique supporte des contraintes s'exerçant dans 3 orientations : la pressurisation comprime la paroi de l'artère et l'amincit (contrainte radiale), mais exerce également une traction qui distend l'artère (contraintes longitudinale et circonférentielle) (Dobrin, 1978, Figure 1). Cependant, *in vivo*, la variation de longueur des artères au cours d'un cycle cardiaque n'est que de 1%. De plus, la paroi des grosses artères élastiques étant mince, il en résulte qu'à un

niveau de pression donnée, la contrainte radiale ne représente que 5% de la contrainte circonférentielle. Ainsi, les contraintes prédominantes appliquées à la paroi des grosses artères élastiques et les déformations qui en résultent se font essentiellement dans la direction circonférentielle. Il en découle que la contrainte pariétale peut être évaluée expérimentalement par la mesure des variations de diamètre interne.

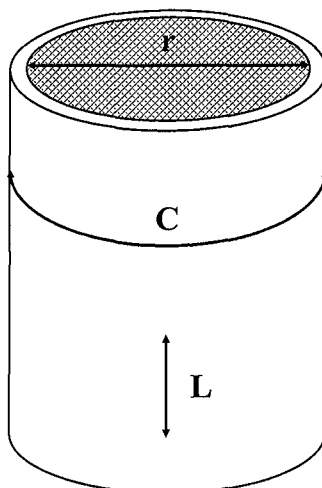


Figure 1 : Contraintes radiales (r), circonférentielle (C) et longitudinale (L) imposées à la surface aortique (d'après Dobrin 1978).

Le rapport contrainte appliquée sur déformation qui en découle permet de définir un indice d'élasticité, le module élastique de Young (ME) (Bergel, 1961). Il représente une constante caractéristique d'un matériel et plus la valeur de ce module élastique est élevée, moins le matériau est élastique. Or, la paroi artérielle étant visco-élastique, la relation contrainte-déformation n'est pas linéaire. On définit donc un module élastique incrémental ME_{inc} qui correspond à la tangente en chaque point de la relation contrainte-déformation (Figure 2). A un niveau de contrainte faible, cette relation est pratiquement linéaire et le module élastique incrémental est égal au module élastique de Young.

Le module élastique de la paroi artérielle n'est pas constant. Il varie avec l'état de déformation, le vaisseau devenant de moins en moins élastique au fur et à mesure de l'augmentation de la déformation. Cette propriété spécifique des artères permet de maintenir leur intégrité structurale dans un très large domaine de pression intraluminale (Figure 2).

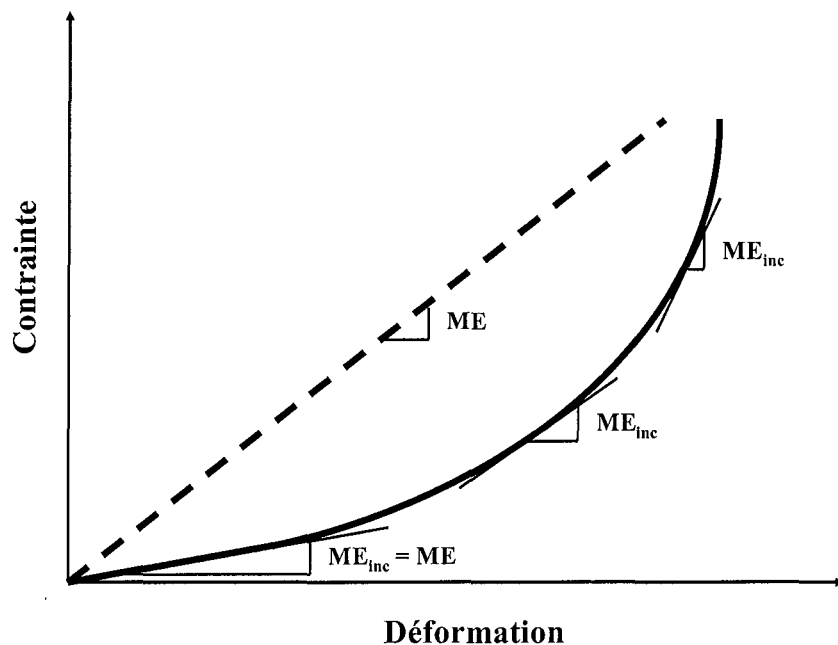


Figure 2 : Représentation schématique de la relation contrainte-déformation d'un corps purement élastique (en pointillé) et d'un corps viscoélastique (trait continu) comme la paroi aortique ainsi que du module élastique de Young (ME) et du module élastique incrémental (ME_{inc}) (d'après Dobrin, 1978).

La distensibilité artérielle représente la capacité relative de distension de la paroi artérielle sous l'effet d'une contrainte. Elle est mesurée par le rapport $\Delta V / V_0 \Delta P$, en mmHg^{-1} , où V_0 représente le volume artériel initial (diastolique) et ΔV la déformation (c'est-à-dire la variation de diamètre interne) induite par une contrainte (c'est-à-dire une variation de la pression intraluminale, ΔP).

La compliance artérielle est définie comme le rapport d'une variation absolue de volume pour une variation de pression intraluminale imposée ($\Delta V / \Delta P$, $\text{mL} \cdot \text{mmHg}^{-1}$). La compliance dépend ainsi de la distensibilité artérielle mais également du volume sanguin (et donc de l'éjection ventriculaire), de la viscosité sanguine et du diamètre artériel. Il en découle que la valeur de compliance peut rester constante malgré une diminution de l'élasticité artérielle si celle-ci s'accompagne d'une dilatation du vaisseau. La compliance est l'un des facteurs responsables de la forme et de l'amplitude de l'onde de pression artérielle (Nichols et O'Rourke, 1998 ; cf. ci-dessous) et constitue la composante capacitive de la post-charge cardiaque (Westerhof et coll., 1971).

I.2 – RIGIDITE PARIETALE AORTIQUE, RISQUES ET CONSEQUENCES

CARDIOVASCULAIRES

Au cours du vieillissement, associé ou non à l'hypertension artérielle (Cox, 1979 ; Marque et coll., 1999 ; Cantini et coll., 2001) et de diverses pathologies telles que le diabète (Huijberts et coll., 1993 ; Kass et coll., 2001) ou l'insuffisance rénale terminale (Safar et coll., 2004), on observe une augmentation importante de la rigidité, ou perte de l'élasticité, de la paroi des gros troncs artériels.

Cette augmentation de la rigidité de la paroi artérielle va entraîner dans un premier temps une majoration de la PP avec apparition d'une HTSI. A terme, ceci est particulièrement délétère pour l'ensemble du système cardiovasculaire et est responsable d'une majoration des complications au niveau du cœur, des gros et des petits vaisseaux (O'Rourke et coll., 2002).

I.2.1 – Pression pulsée et hypertension systolique isolée

I.2.1.1 – Définitions

La PP est définie comme la différence entre le pic de pression systolique et la pression de fin de diastole : elle est donc le reflet des oscillations de la pression sanguine (Figure 3). Chez un individu sain, chez qui les parois artérielles sont élastiques et amortissent la PP, elle est de l'ordre de 30 à 45 mmHg (O'Rourke et coll., 2002).

L'amplitude de la PP dépend d'une part du volume d'éjection systolique, c'est-à-dire le volume sanguin éjecté par le ventricule gauche en fin de systole ; en effet, plus le volume d'éjection systolique est important, plus la différence entre pression systolique (PAS) et diastolique (PAD), donc la PP, sera importante.

D'autre part, l'amplitude de la PP dépend des caractéristiques de l'arbre artériel et des propriétés visco-élastiques de ses parois (Dart et Kingwell, 2001 ; cf. ci-dessous).

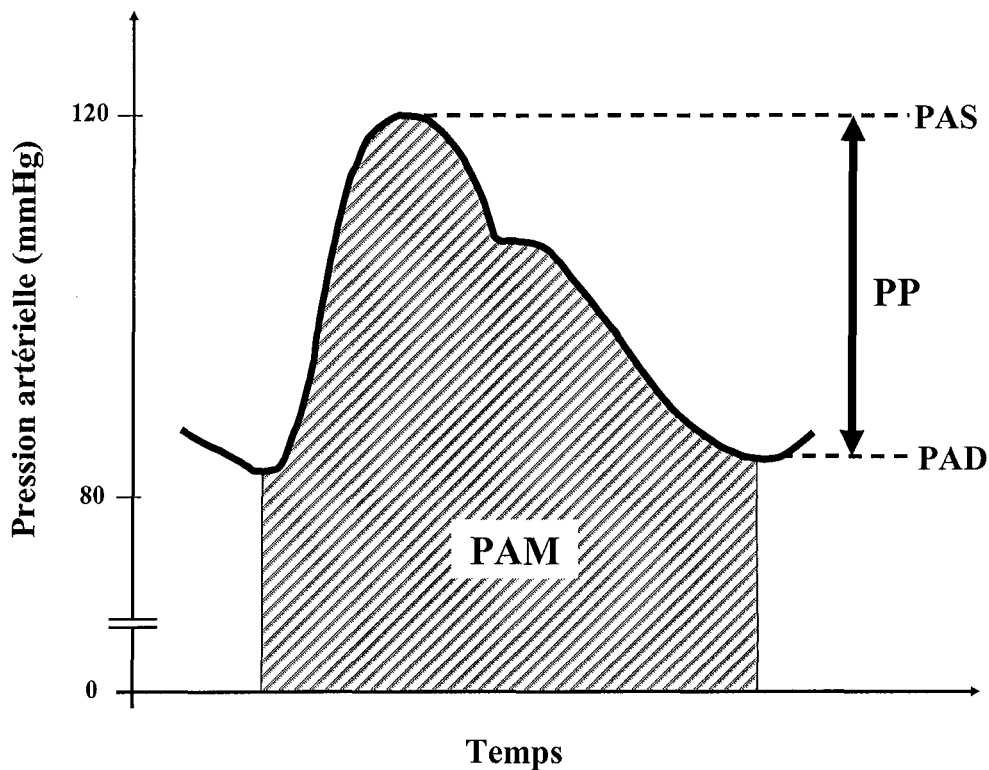


Figure 3 : Onde de pression artérielle (trait plein) avec la pression artérielle moyenne (évaluée par l'aire sous la courbe grisée, PAM). La PP est définie comme la différence entre la pression artérielle systolique (PAS) et la pression artérielle diastolique (PAD).

I.2.1.2 – Hypertension systolique isolée

Lors du vieillissement, l'augmentation de la rigidité pariétale des gros troncs artériels s'accompagne d'une perte de leurs propriétés de distensibilité. Ainsi, l'aorte ne va plus être en mesure d'amortir les oscillations de la pression artérielle : la PAD diminue, la PAS augmente, avec pour conséquence une augmentation de la PP, sans que l'on observe toutefois une augmentation de la PAM.

Parallèlement à cela, il peut exister un phénomène d'augmentation des résistances périphériques (comme dans le cas d'une hypertension artérielle (HTA) essentielle par exemple) : la PAD, la PAS, la PAM et éventuellement la PP augmentent.

La conjonction de ces deux phénomènes conduit à une conservation de la PAD avec augmentation importante de la PP et de la PAS : il s'agit d'une HTSI (HTSI). L'apparition d'une HTSI n'est donc pas uniquement le fait d'une perte de distensibilité au niveau des gros troncs artériels (Berger et Li, 1990).

I.2.1.3 – Amplification de la pression pulsée

Le signal de pression artérielle (onde de pouls) n'a pas une allure uniforme tout au long de l'arbre artériel. En tout point, il résulte de l'addition d'une onde incidente émise par l'éjection ventriculaire et d'une onde de pression réfléchie sur les bifurcations artérielles (rénales, iliaques) et artériolaires (Latham et coll., 1985) et sur les zones de changements de composition pariétale. Ainsi, en fonction de l'endroit de mesure sur l'arbre aortique, plus ou moins loin des sites de réflexion, l'onde de réflexion s'additionnera à des endroits différents sur le tracé du signal incident (Murgo et coll., 1980 ; Nichols et O'Rourke, 1998).

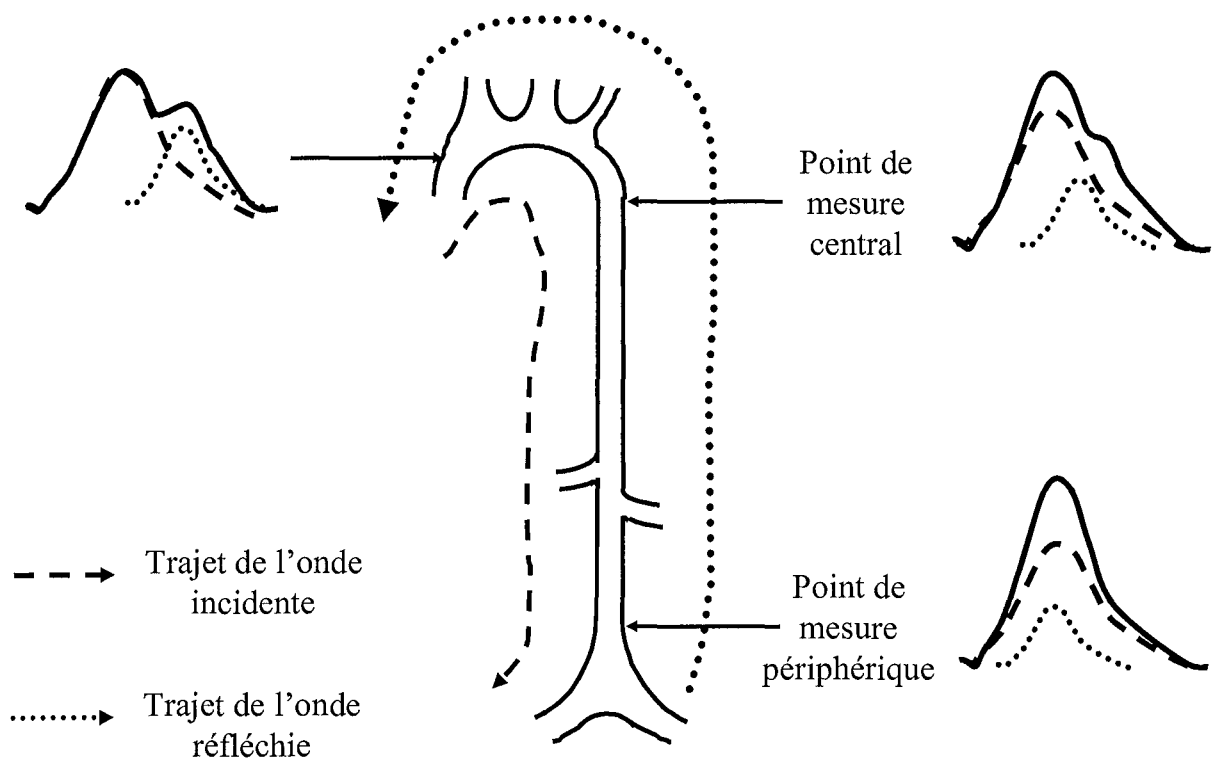


Figure 4 : Evolution du contour de l'onde de pression le long de l'aorte chez l'Homme (d'après Latham et coll., 1985). L'onde de pression (—) mesurée en tout point de l'aorte résulte de l'addition d'une onde incidente (— —) et d'une onde réfléchie (.....).

Chez l'individu jeune, plus on s'éloigne du cœur, plus la PP augmente car lorsque que le site de mesure se rapproche des sites de réflexion, les réflexions reviennent plus rapidement et s'additionnent plus précocement par rapport au cycle cardiaque. On observe

donc une amplification de la PP aortique (= PP périphérique / PP centrale) le long de l'arbre artériel, entre le point de mesure central et le point de mesure périphérique (de l'ordre de 50% chez l'Homme jeune).

En revanche, chez la personne âgée, on observe une accentuation de l'intensité des ondes réfléchies (rétrécissement du calibre artériolaire, modification de composition pariétale...). L'augmentation de la VOP consécutive à la perte d'élasticité aortique induit un trajet plus rapide de l'onde incidente et un retour plus précoce des ondes réfléchies. Ainsi, l'augmentation de la PP est proportionnellement moins importante au niveau périphérique qu'au niveau central. Il en découle que l'amplification de la PP est fortement atténuée avec l'âge chez l'Homme (15% à 50 ans, amplification nulle à 65 ans, O'Rourke et coll., 1968).

L'amplification de la PP aortique correspond donc à un paramètre hémodynamique qui reflète l'augmentation de la rigidité pariétale de l'aorte (Nichols et O'Rourke, 1998).

I.2.1.4 – Pression pulsée et risque cardiovasculaire

L'analyse des paramètres cardiovasculaires recueillis dans la cohorte de l'étude de Framingham (Kannel et coll., 1980) a montré pour la première fois que contrairement à ce qui était largement accepté jusque là, la composante diastolique n'était pas la seule responsable des séquelles dues à l'hypertension. Kannel et ses collaborateurs (1980) ont ainsi montré qu'il existait un lien entre HTSI et complications cardiovasculaires et excès de mortalité. Plus récemment, de nombreuses études cliniques ont montré que l'augmentation de la rigidité pariétale aortique et l'élévation de PP qui en découle, sont des facteurs de risque de morbidité et mortalité cardiovasculaires chez les sujets hypertendus essentiels (Blacher et coll., 1999 ; Laurent et coll., 2001).

D'autres auteurs ont également montré que le lien entre rigidité pariétale aortique et morbi-mortalité cardiovasculaire était retrouvé aussi chez des sujets avec une PAM normale comme, par exemple, les sujets âgés avec HTSI (Meaume et coll., 2001), chez les sujets diabétiques (Lehmann et coll., 1998) et chez les sujets insuffisants rénaux au stade terminal (London et Cohn, 2002), et ce indépendamment de la valeur de PAM. Dans ces études, après correction pour l'âge, l'augmentation de la VOP aortique - paramètre témoignant de l'augmentation de la rigidité de la paroi aortique - est le facteur prédictif le plus important

pour la mortalité cardiovasculaire. Du fait de la perte des capacités d'amortissement de la paroi aortique, une diminution de la PAD peut également être observée dans ces populations et conduire à une moindre perfusion coronaire (Hansson, 1989). Cependant, dans les études de Meaume, Lehmann et London, l'importance de ce dernier facteur comme facteur de risque supplémentaire s'additionnant à celui de la rigidité pariétale aortique elle-même n'a pas été évalué.

De façon générale, dans les différentes études mentionnées ci-dessus, la rigidité de la paroi aortique est un facteur de risque d'augmentation de la mortalité cardiovasculaire (infarctus du myocarde, ischémie périphérique, accident vasculaire cérébral...). Ainsi, les conséquences délétères de la rigidité pariétale aortique concernent le cœur (cf. paragraphe I.2.2), les gros vaisseaux eux-mêmes (cf. paragraphe I.2.3) et les petits vaisseaux (impliqués dans la distribution des flux, cf. paragraphe I.2.4).

I.2.2 – Conséquences cardiaques de l'augmentation de la pression pulsée

En conditions normales, l'éjection ventriculaire est maximale lorsque le système aortique est le plus distensible. Ce mécanisme de couplage cœur-vaisseau permet de limiter l'augmentation de la pression télésystolique ventriculaire, protégeant ainsi les fibres myocardiques et permettant leur fonctionnement optimal (Nichols et coll., 1985 ; Starling, 1993). Or, la perte d'élasticité aortique âge-dépendante perturbe le couplage cœur-vaisseau. Le cœur devant éjecter dans un système plus rigide, ceci lui impose une post-charge plus importante d'où une augmentation de la contrainte télésystolique imposée au ventricule gauche. Il s'ensuit une surcharge cardiaque conduisant à terme à l'apparition d'une hypertrophie ventriculaire gauche (HVG) associée à un dysfonctionnement cardiaque (Nichols et coll., 1985). Or, il a été démontré que l'HVG est elle aussi un facteur de risque indépendant de morbi-mortalité (London et coll., 2001).

Bouthier et ses collaborateurs (1985) ont confirmé la relation significative entre le rapport "masse sur volume" du ventricule gauche – indice de l'hypertrophie – et la rigidité aortique.

Au niveau fonctionnel, la majoration de la PAS sans changement de la PAM conduit à une diminution de la performance cardiaque (Safar, 1989). Pour O'Rourke et ses collaborateurs (1992), l'augmentation de la pression systolique se traduit au niveau des performances cardiaques par un travail cardiaque excessif avec un déficit de perfusion coronaire par rapport à un sujet jeune et sain (Figure 5). Une diminution de la PAD pourra également accentuer ce déficit de perfusion coronaire.

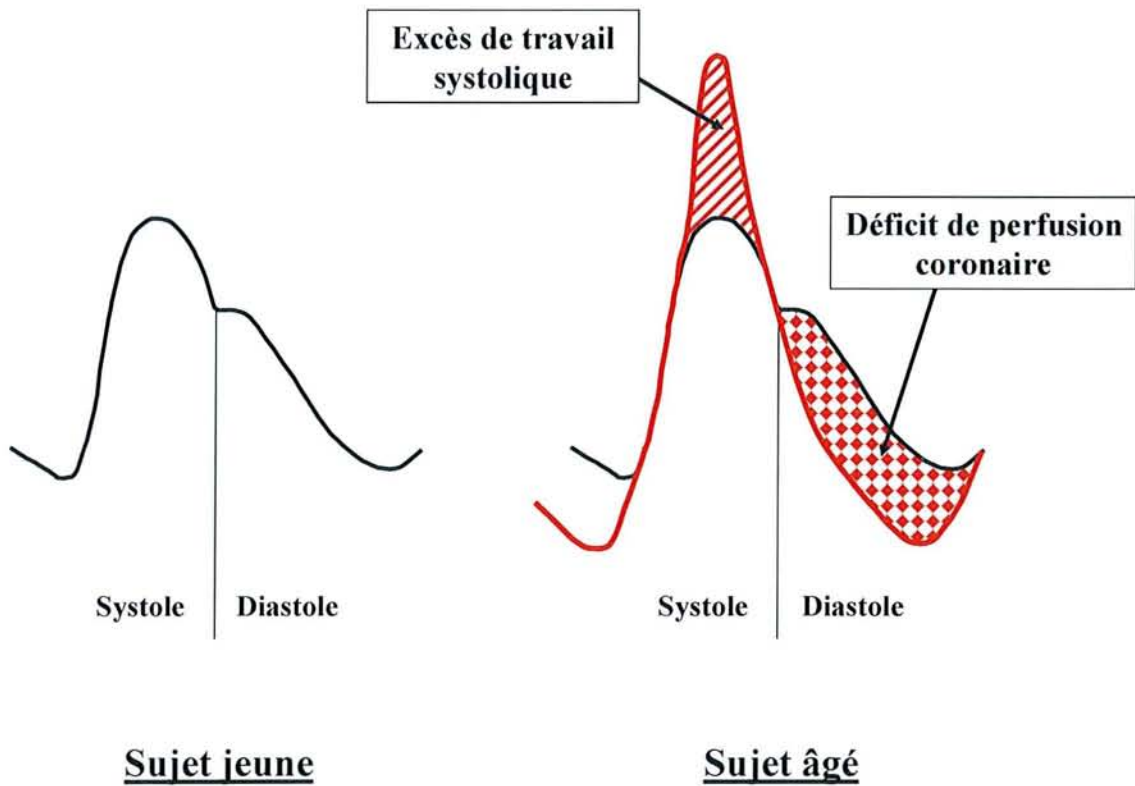


Figure 5 : Onde de pression artérielle caractéristique d'un sujet jeune (en noir) et d'un sujet âgé (en rouge). Les zones hachurées représentent les différences de performances cardiaques entre les 2 sujets.

1.2.3 – Fatigue du cumul des chocs et remodelage pariétal

A chaque éjection (ou cycle) cardiaque, les biomatériaux constitutifs de la paroi artérielle subissent un étirement cyclique, responsable d'une fatigue, dépendante à la fois du nombre de cycles et de l'amplitude de chaque cycle (O'Rourke, 1990). Au niveau physiologique, l'âge et la fréquence cardiaque vont jouer sur le nombre de cycles, tandis que la PP est l'équivalent clinique de l'amplitude de l'étirement cyclique (Laurent et coll., 2001).

Ce processus de "fatigue du cumul des chocs" ou "fatigue des biomatériaux" est amplifié par l'augmentation de la PP et entraîne un remodelage de la paroi artérielle. Le remodelage pariétal désigne tout changement structural de la paroi artérielle et plus particulièrement ici une hypertrophie pariétale et une augmentation du diamètre interne (D_i). Laurent et ses collaborateurs (2001) proposent deux voies complémentaires pour expliquer l'influence de la PP sur le remodelage pariétal (Figure 6):

(1) une voie biochimique active : l'étirement cyclique est un déterminant majeur du phénotype des cellules musculaires lisses (prolifération, migration, apoptose, dégradation de la matrice extracellulaire (MEC), Leung et coll., 1976) en stimulant l'expression de nombreux gènes de ces cellules, notamment ceux des protéines de la MEC (collagène, métalloprotéinases (MMP), ...),

(2) une voie biomécanique passive : l'augmentation de la PP entraîne une majoration de l'étirement cyclique et par conséquent une fatigue accrue des biomatériaux, pouvant se manifester notamment par des microdissections ou des fragmentations des lames élastiques pariétales.

Boutouyrie et ses collaborateurs (1999) ont montré que la PP carotidienne, à l'inverse de la PAM et de la PP brachiale, était un déterminant indépendant de la dilatation et de l'épaississement de la paroi de l'artère carotide, suggérant ainsi que la PP locale influence plus le remodelage pariétal que la PAM.

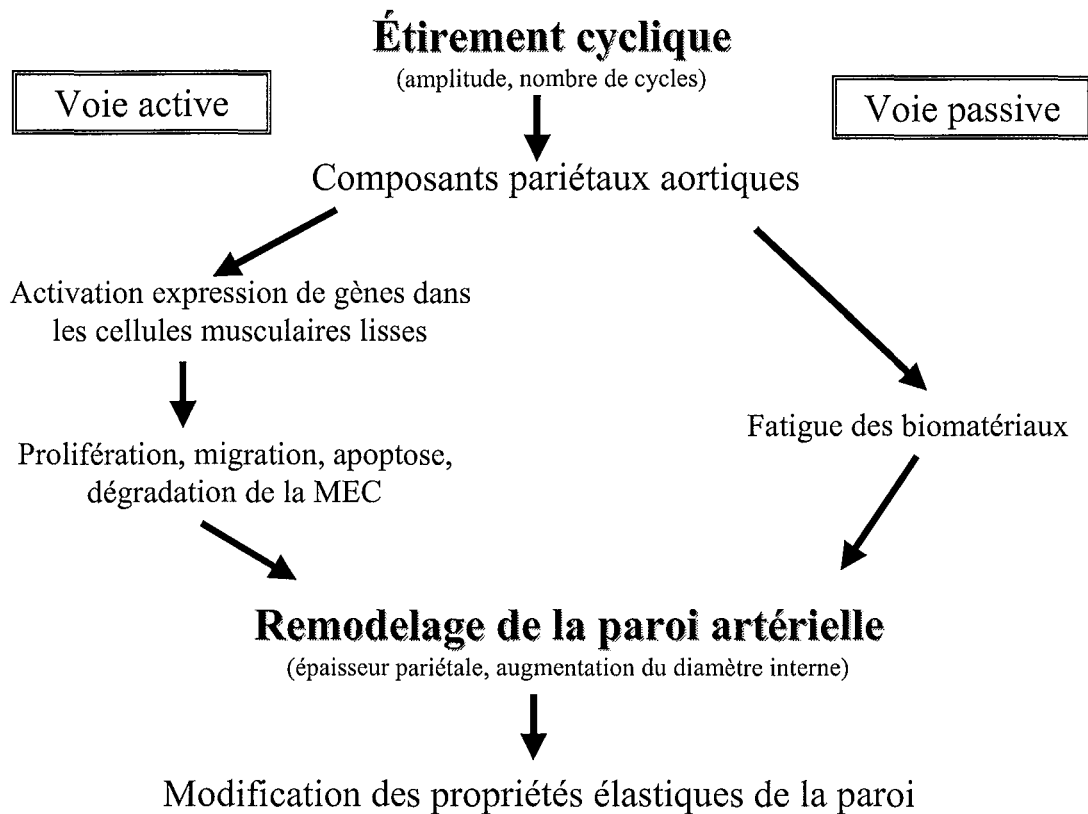


Figure 6 : Influence de l'étirement cyclique sur le remodelage de la paroi artérielle et les modifications des propriétés élastiques de la paroi, soit par une voie active biochimique, soit par une voie passive biomécanique (d'après Laurent et coll., 2001).

L'augmentation de la PP et l'amplification de la fatigue du cumul des chocs qui en résulte vont donc amplifier la dégradation de la MEC et favoriser le remodelage pariétal aortique, qui va lui même auto-entretenir la rigidité pariétale.

Ce processus de fatigue du cumul des chocs fragilise donc la paroi artérielle et plus particulièrement la média et l'adventice, conduisant à un stress pariétal croissant, à une dilatation et à la formation d'un anévrisme. L'évolution naturelle de l'anévrisme est une augmentation inéluctable de son calibre avec, à terme, rupture de l'anévrisme.

Par ailleurs, ce processus pourrait également expliquer l'apparition plus fréquente d'artérites des membres inférieurs plus importante chez les sujets ayant une VOP aortique plus élevée (Lehmann et coll., 1998).

1.2.4 – Perturbation de la distribution des flux

Comme nous venons de le décrire, l'augmentation de la rigidité de la paroi aortique lors du vieillissement s'accompagne d'une perte des propriétés de compliance des gros troncs artériels et d'une élévation de la PP. Les gros troncs artériels n'assurant plus leur rôle d'amortissement de la pression artérielle, on peut imaginer que ceci puisse avoir des répercussions au niveau des petites artères. Il pourrait en effet en découler une fatigue des biomatériaux avec amplification de la dégradation de la MEC de la paroi des petits vaisseaux ou modification d'expression génique des CML avec une perturbation de la régulation des débits périphériques (cérébraux, rénaux...).

Cette hypothèse pourrait expliquer l'incidence plus élevée d'accidents vasculaires cérébraux observée chez les sujets présentant une VOP aortique plus élevée (Lehmann et coll., 1998). Ainsi, Laurent et ses collaborateurs (2003) ont montré que la rigidité pariétale aortique était un facteur prédictif indépendant d'accidents vasculaires cérébraux fatals chez les patients présentant une HTA essentielle.

Cependant, aucune corrélation n'a été observée entre la PP et la mortalité d'origine cérébrovasculaire (Benetos et coll., 1997b).

I.3 – MESURE DES PROPRIETES ELASTIQUES DE LA PAROI AORTIQUE

De nombreuses techniques d'évaluation *in vitro* des propriétés visco-élastiques de la paroi artérielle ont été développées depuis les années 1960. Ces méthodes sont généralement basées sur des mesures de D_i et de ses variations (en estimant que $\Delta V \approx \Delta D_i$, cf. ci-dessus) en réponse à une variation de pression intraluminale. Cependant, bien que l'expérimentation *in vitro* permette un contrôle précis des forces appliquées, le facteur le plus limitant des études *in vitro* de l'aorte réside dans la restriction de l'étude du vaisseau même, en faisant abstraction de l'ensemble cardiovasculaire en tant que système. De plus, les segments artériels présentent une rigidité accrue *in vitro* par rapport à celle observée *in vivo* (Dobrin, 1978) et une rétractation longitudinale importante lors de l'excision, rétractation elle-même variable avec le vieillissement et l'hypertension. Ainsi, ces modifications observées *in vitro* pourraient rendre caduque l'hypothèse selon laquelle la CP peut être estimée à partir des variations de diamètre interne.

L'ensemble de ces limites est à l'origine du développement de différentes techniques de mesure de l'élasticité de la paroi aortique *in vivo*, *via* des mesures de diamètre du vaisseau, de VOP ou *via* une estimation à partir de modèles mathématiques.

I.3.1 – Mesure des variations de diamètre du vaisseau au cours d'un cycle cardiaque

Ce type de techniques, utilisables tant chez l'Homme que chez l'animal, est basé sur la mesure des variations systolo-diastoliques du diamètre et de la pression intraluminale du vaisseau étudié au cours du cycle cardiaque (Lacolley et coll., 2002b). Les variations de diamètre sont mesurées par un système d'écho-tracking Doppler vasculaire mis au point par Hoeks et ses collaborateurs (1985).

La technique d'écho-tracking Doppler s'appuie sur une méthode ultrasonore permettant de suivre l'écho des parois vasculaires au cours du cycle cardiaque. Ceci peut être réalisé chez le rat anesthésié ou non (Van Gorp et coll., 1996), cette dernière expérimentation étant cependant assez contraignante car nécessitant une habitude de l'animal à l'apposition de la sonde. La technique d'écho-tracking Doppler présente l'avantage de pouvoir répéter les

mesures du module élastique incrémental jour après jour sur un même animal, permettant ainsi, par exemple, le suivi de l'efficacité d'un traitement chronique, avec la possibilité de varier les conditions expérimentales. Cependant, il faut souligner la difficulté de replacer précisément la sonde toujours exactement au même endroit.

Parallèlement à cela, la PP est souvent mesurée de façon non-invasive par tonométrie d'aplanation. Cette technique se base sur l'apposition sur l'artère carotide d'une sonde munie d'un capteur sensible aux variations de pression qui permet l'enregistrement continu de la pression au cours du cycle cardiaque. Le principe de base de la tonométrie d'aplanation consiste à "écraser" l'artère à l'aide d'un tonomètre. Ceci impose donc que l'artère repose sur un support solide et que la pression exercée par le tonomètre soit d'une part suffisamment faible pour ne pas occlure l'artère et modifier la pression intraluminaire et d'autre part suffisamment forte pour égaler la pression exercée par le sang sur la paroi artérielle.

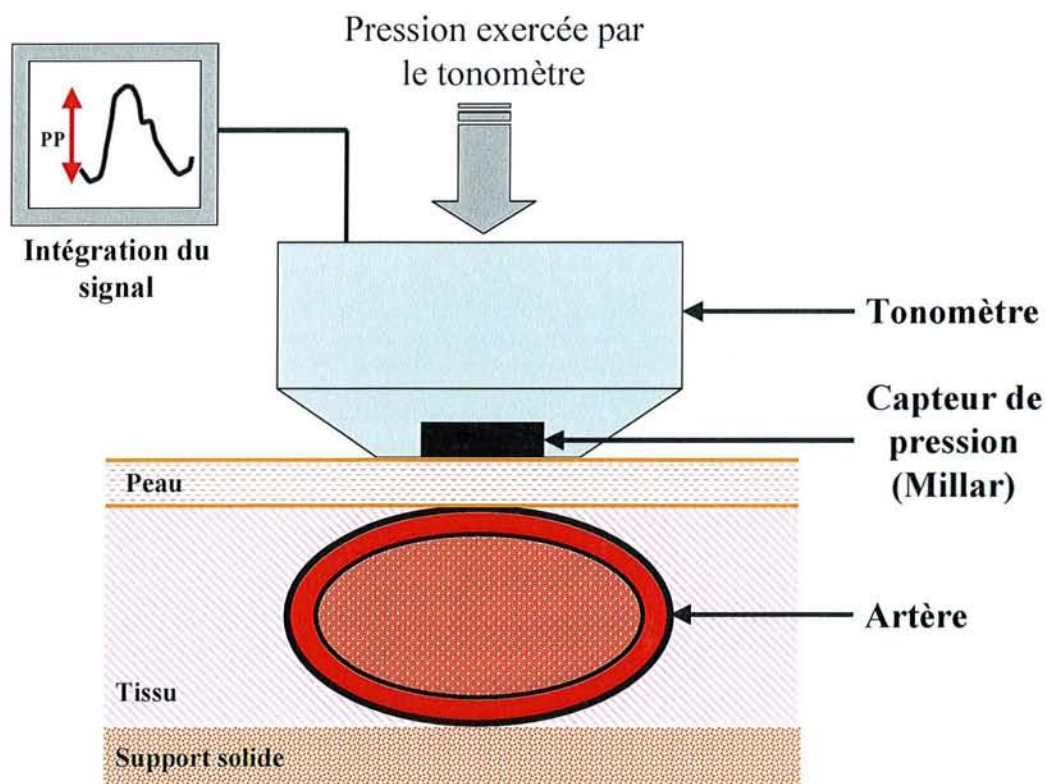


Figure 7 : Principe de la mesure de la pression pulsée par tonométrie d'aplanation (d'après O'Rourke et coll., 1992).

1.3.2 – Mesure de la vitesse de transmission de l'onde de pouls

L'enregistrement de la VOP est la méthode la plus ancienne d'évaluation des propriétés élastiques de la paroi artérielle (Roy, 1880 ; Bazett et Dryer, 1922). Elle est aujourd'hui utilisée tant chez l'animal (Niederhoffer et coll., 1997b) que chez l'homme (O'Rourke et coll., 2002). Cette technique se base sur le fait que plus la paroi artérielle est rigide, plus l'onde de pouls se propage rapidement le long de l'arbre artériel.

La VOP (cm/s) est définie comme le rapport entre la distance (Δl , cm) entre 2 sites de mesure (thoracique et abdominal) de signaux de pression aortique et le temps (Δt , s) nécessaire à l'onde pour parcourir cette distance :

$$VOP = \Delta l / \Delta t.$$

Le délai entre 2 ondes de pression enregistrées en 2 sites du tronc artériel peut être défini comme :

- le temps séparant les "pieds" des ondes de pression,
- le temps d'arrivée sur l'onde distale d'un signal externe généré au niveau de l'onde proximale,
- le décalage de temps nécessaire pour superposer, suite à une translation sur l'axe des temps, le "front", ou augmentation diastolo-systolique de la pression artérielle, de l'onde de pression distale sur le front de l'onde de pression proximale.

Pour une artère à paroi mince (rapport épaisseur pariétale/rayon interne $< 0,1$ (Milnor, 1989)), la précision du calcul du ME par la mesure de la VOP dépend essentiellement de la précision atteinte dans la détermination de Δt .

En connaissant la VOP et le diamètre interne de l'aorte, il est alors possible de calculer le ME (10^6 dynes/cm²) selon l'équation de Moens-Korteweg :

$$ME = (VOP^2 \times D_i \times \rho) / h$$

où ρ = densité sanguine (1,05 g/cm³) h = épaisseur médiale (μ m)

Outre une évaluation de l'élasticité de la paroi aortique, l'étude de l'onde de pouls présente aussi l'intérêt d'apprécier des modifications de l'amplification de la PP le long de l'arbre artériel et des phénomènes de réflexions d'ondes. O'Rourke et ses collaborateurs (1992) ont également suggéré que l'étude qualitative de l'onde de pouls apporte des informations supplémentaires dans le diagnostic des altérations cardiovasculaires pathologiques chez l'Homme et pourrait permettre la mise en place d'une thérapeutique mieux adaptée.

I.3.3 – Estimation de la compliance aortique à partir de modèles mathématiques

L'un des modèles le plus fréquemment utilisé est le modèle de Windkessel, qui par analogie avec un circuit électrique, assimile le système artériel à un circuit à deux éléments comprenant une capacitance qui se décharge dans une résistance selon une loi mono-exponentielle (O'Rourke et coll., 2002). Cette représentation simple de la circulation artérielle peut être utilisée dans la partie diastolique de la courbe de pression artérielle. La compliance est alors calculée comme le rapport entre la constante de temps de la décroissance diastolique de la courbe de pression et la résistance périphérique et nécessite donc la mesure du débit cardiaque.

Liu et ses collaborateurs (1986) ont amélioré la méthode de calcul de la compliance à partir du même modèle. La compliance est alors calculée en fonction de l'aire sous la courbe entre deux points de la descente diastolique, choisis en fin de diastole afin de s'affranchir de l'influence du contour de l'onde de pression diastolique, les ondes réfléchies se surajoutant en début de diastole.

Quelle que soit la méthode utilisée pour l'évaluation de la rigidité pariétale aortique chez l'Homme, la première conférence de consensus sur la rigidité artérielle (O'Rourke et coll., 2002) a permis la définition d'un certain nombre de recommandations afin d'en normaliser la mesure, notamment en tenant compte de l'âge du patient et des conditions de mesure (O'Rourke et coll., 2002).

I.4 – DETERMINANTS DE LA RIGIDITE PARIETALE

Il existe plusieurs déterminants à la rigidité pariétale qui la modifient à différents degrés. Ainsi, d'après Milnor (1990), le tonus local dû à la contractilité des cellules musculaires lisses médiales, la contrainte et la composition pariétales ont une influence directe dans les conditions physiologiques sur la rigidité pariétale aortique. Nous verrons également comment ces paramètres évoluent au cours du vieillissement et jouent d'autant plus sur le développement de la rigidité pariétale aortique.

I.4.1 – Tonus musculaire local

L'impact du tonus des cellules musculaires lisses sur l'élasticité pariétale reste un sujet de controverse, en particulier pour les gros troncs artériels tels que l'aorte ou l'artère carotide. Certains auteurs concluent que l'élasticité pariétale augmente suite à une relaxation des cellules musculaires lisses artérielles (Gaballa et coll., 1998) et d'autres suite à une activation (Dobrin et Rovick, 1969). Enfin, une autre école conclut à l'absence d'impact du tonus musculaire sur l'élasticité aortique (Niederhoffer et coll., 1997a), dans les situations physiologiques.

Cependant, on ne peut exclure chez l'homme l'influence d'une vasoconstriction périphérique, provoquant des ondes de réflexions plus importantes et donc une augmentation de la PP. En revanche, chez le rat, du fait de la taille plus petite de l'animal, l'effet du tonus musculaire local dû aux cellules musculaires lisses semble être moins déterminant pour la rigidité pariétale aortique (Milnor, 1990, p. 296).

Par ailleurs, il a été suggéré que l'endothélium, par sa capacité à libérer des substances vasoactives, peut moduler les propriétés élastiques (Levy et coll., 1990) en modifiant le tonus vasomoteur.

I.4.2 – Contrainte pariétale

Comme prédit par la relation contrainte/déformation vue précédemment (Figure 2), plus la CP augmente, moins la déformation est importante, donc plus la paroi artérielle sera rigide.

L'équation de Lamé permet de calculer la CP (10^6 dynes/cm² avec 1 mm Hg = 1334 dynes/cm²) tel que :

$$CP = (PAM \times D_i) / 2h$$

Ainsi, toute augmentation du D_i et/ou de la pression intraluminale ou toute diminution de l'épaisseur pariétale, induisant une majoration de la CP, augmentera la rigidité pariétale aortique.

I.4.2.1 – Effet de la pression intraluminale

La pression intraluminale intervient dans la mesure où son élévation rigidifie les parois des artères, de manière indépendante de leur géométrie et de leur composition de base (Armentano et coll., 1995). En effet, cette augmentation de la pression intraluminale, engendrant une augmentation de la CP, conduit au transfert progressif de la charge hémodynamique des composants les plus extensibles car à faible module élastique (fibres élastiques et cellules musculaires lisses), vers les composants les moins extensibles, à fort module élastique (fibres de collagène) (Roach et Burton, 1957).

Une augmentation chronique de la pression intraluminale, comme celle observée dans l'HTA, induit donc une augmentation du ME de la paroi artérielle qui se traduit par une augmentation de la VOP (Amin et coll., 1996) et une diminution de la compliance artérielle. Cependant, différentes études (Hayoz et coll., 1992 ; Laurent, 1995 ; Armentano et coll., 1995) ont montré que la distensibilité artérielle de sujets hypertendus jeunes est similaire à celle de sujets normotendus lorsqu'elle est déterminée dans une gamme de pression identique. Ceci n'est pas le cas chez les sujets hypertendus âgés dont les gros troncs artériels présentent une rigidité intrinsèque même à PAM normale (Marque et coll., 1999).

I.4.2.2 – Effet de la géométrie aortique

Lors d'un accroissement chronique du diamètre interne de l'aorte, une hypertrophie pariétale se développe et compense dans un premier temps cette augmentation du diamètre, maintenant ainsi la CP à un niveau normal. Cette hypertrophie implique néanmoins des modifications de la composition pariétale (Mulvany, 1993), elle-même déterminant important de l'élasticité de la paroi artérielle (cf ci-dessous).

En conséquence, les modifications chroniques de géométrie, impliquant une dilatation et une hypertrophie pariétale, aboutissent finalement à une augmentation de la rigidité aortique.

I.4.3 – Composition pariétale

I.4.3.1 – Description de la composition pariétale aortique

La paroi aortique se compose de trois tuniques concentriques distinctes. A partir de la lumière vasculaire, on trouve :

(1) l'intima, composée de l'endothélium et de la limitante élastique interne. Son organisation en couche monocellulaire confère à l'intima une faible influence sur l'élasticité de la paroi (Burton, 1954) mais l'endothélium est néanmoins capable de libérer des substances vasoactives pouvant modifier le tonus vasomoteur.

(2) la média, délimitée par les limitantes élastiques interne et externe, est essentielle dans la détermination des propriétés mécaniques de la paroi (cf. ci-dessous).

(3) l'adventice, composée de fibres de collagène et d'élastine, assure la liaison avec les tissus conjonctifs adjacents. Elle pourrait jouer un rôle important dans l'élasticité de la paroi, seulement pour des niveaux de pression élevés (Dobrin 1978) et dans la résistance à la rupture des anévrismes.

I.4.3.2– Rôle de la média dans les propriétés élastiques de la paroi

La média assure l'essentiel des propriétés élastiques de la paroi. Elle ne contient généralement qu'un seul type cellulaire, la CML vasculaire, s'appuyant sur une MEC composée en majeure partie d'élastine, de collagène et de protéoglycannes (Wolinsky et Glagov, 1967).

Au sein de la média, la répartition et la quantification de ces différents éléments peuvent être étudiées histologiquement en deux (histomorphométrie, Corman et coll., 1998) ou trois dimensions (microscopie confocale, Giummelly et coll., 1998). Les taux de collagène et d'élastine peuvent être également mesurés *via* le dosage de l'un de leurs acides aminés caractéristiques (respectivement hydroxyproline (Neuman et Logan, 1950 ; Cantini et coll., 2001) et desmosine et isodesmosine (Giummelly et coll., 1995)), éventuellement après une séparation basée sur leur solubilité différente (Michel et coll., 1994). Il est à noter cependant que les résultats obtenus peuvent varier selon la technique utilisée (Cantini et coll., 2001).

❖ Elastine et collagène

L'élastine représente environ 40% de la média de l'aorte thoracique (Apter, 1967), puis son taux diminue au fur et à mesure qu'on s'éloigne du cœur vers les artères de résistance. C'est une protéine élastomérique très extensible, vectrice des propriétés de distensibilité des gros troncs artériels. Dans la média, l'élastine est organisée en un réseau de lames élastiques continues, parallèles et concentriques.

Le collagène représente environ 15% de la média des gros troncs artériels (Apter, 1967). Les fibres de collagène sont très peu extensibles mais leur organisation en réseau leur confère cependant une certaine flexibilité. Le rôle physiologique des fibres de collagène est de maintenir l'intégrité de la structure vasculaire en résistant aux forces de traction. Les modifications des collagènes induisent des pertes graves de la cohésion du tissu conjonctif pariétal.

❖ Cellules musculaires lisses vasculaires

Les CML occupent 40 à 50% de la média aortique (Apter, 1967). Les propriétés mécaniques des CML sont fonction de leur état de contractilité : à l'état relâché, les CML sont très extensibles mais le ME du muscle lisse contracté peut facilement augmenter d'un

facteur 10. Cependant l'influence global du tonus musculaire local (cf. paragraphe I.4.1) reste minime par rapport aux autres déterminants de la rigidité pariétale aortique.

La média artérielle se présente comme un empilement de faisceau (ou feuillet) musculo-élastiques (Clark et Glagov, 1985). Chaque feuillet consiste en un groupe de CML et de fibres de collagène délimité par des fibres élastiques orientées suivant le grand axe des cellules. Cette disposition permet une distribution uniforme des contraintes mécaniques au sein des vaisseaux.

❖ MEC et interactions cellules-matrices

Entre les fibres élastiques, se trouve la matrice interstitielle, composée de collagènes fibrillaires (majoritairement de type III), de diverses protéines de structure (fibronectine, téna-scine) et de protéoglycannes. Les CML sont entourées individuellement d'une membrane basale (collagène de type IV, laminines, protéoglycannes). Les branchements latéraux entre les fibres élastiques et la surface cellulaire permettent de coupler chaque feuillet élastique au suivant. Les connections ainsi organisées coordonnent la tension des lames élastiques à la tension active globale des CML.

Les liaisons entre les CML et la MEC impliquent des protéines d'adhésion du type fibronectine et leurs récepteurs membranaires, les intégrines et constituent de véritables structures d'attachement, visibles en microscopie électronique, les plaques denses (Lacolley et coll., 2002a).

I.4.4 – Effet du vieillissement sur les déterminants de la rigidité pariétale

I.4.4.1 – Modifications de la contrainte pariétale

Au cours du vieillissement cardiovasculaire chez l'Homme, on observe généralement un allongement de l'aorte (Gerstenblith et coll., 1976) ainsi qu'une altération de sa capacité de rétractation (Learoyd et Taylor, 1966). Une dilatation apparaît progressivement, le rayon interne aortique s'élevant de 9% par décennie entre 20 et 60 ans chez l'Homme (Nichols et coll., 1985), et une hypertrophie pariétale se développe. De même, le rapport h / D_i augmente (Milnor, 1990, p. 52-53).

Ainsi, chez l'Homme, la compliance aortique varie peu jusqu'à 60 ans car l'augmentation progressive de la rigidité pariétale arotique est compensée par une dilatation et une élongation qui augmentent le vouleme aortique. Après 60 ans, l'augmentation de la rigidité pariétale aortique devient proportionnellement plus importante que l'augmentation de volume et la compliance aortique diminue. Ceci entraîne alors une augmentation de la contrainte ventriculaire télésystolique et une dysfonctionnement du couplage cœur-vaisseaux (Milnor, 1990).

Ainsi, chez le sujet âgé ne souffrant pas d'HTA essentielle, la PAM n'est pas modifiée, tandis que le le diamètre et l'épaisseur médiale augmentent parallèlement. Au final, la contrainte pariétale évolue donc peu avec l'âge.

I.4.4.2 – Modifications de la composition pariétale

Au cours du vieillissement cardiovasculaire, la composition de la paroi aortique va présenter des modifications, tant d'un point de vue qualitatif que d'un point de vue quantitatif.

❖ Modifications quantitatives

Avec l'âge, une activité élastolytique augmentée (Hornebeck et coll., 1978) pourrait être impliquée dans le processus de destruction progressive de l'intégrité du réseau élastique (Toda et coll., 1980 ; Lakatta et coll., 1987). Parallèlement à cela, et bien qu'une diminution de la protéolyse soit observée avec l'âge (Monnier et coll., 1984), plusieurs études montrent que le vieillissement ne s'accompagne pas d'une accumulation de collagène (ou fibrose) dans la paroi aortique (Niederhoffer et coll., 1997b ; Marque et coll., 1999 ; Cantini et coll., 2001), mises à part quelques exceptions (Corman et coll., 1998). En fait, ce ne sont pas tant les modifications quantitatives liées à l'âge qui vont influencer la rigidité pariétale aortique mais plutôt les modifications qualitatives.

❖ Modifications qualitatives

Entre l'enfance et l'âge de 90 ans, le taux de calcium total de la paroi artérielle est multiplié par 50 à 100 (Fleckenstein et coll., 1983). Cette accumulation intense de calcium, ou calcinose, n'est pas homogène : le calcium va se déposer en "plaques" et préférentiellement au niveau des lames élastiques les plus proches de la lumière (Eliot et Mac Grath, 1994). La fixation du calcium sur l'élastine, ou élastocalcinose, induit une augmentation de la rigidité pariétale *via* des modifications à la fois structurales (dans l'association des composants des fibres élastiques) et fonctionnelles (altérations des propriétés élastiques par diminution des interactions hydrophobes) (Rucker et coll., 1974).

De même, des altérations de l'état du collagène peuvent intervenir et favoriser la rigidité pariétale aortique telles que l'augmentation du rapport collagène de type I (de module élastique plus élevé) sur collagène de type III (Deyl et coll., 1987) ou l'accumulation lente et progressive d'AGEs suite à une glycation non enzymatique (Cantini et coll., 2001 ; Kass et coll., 2001). En effet, les AGEs sont responsables d'une désorganisation de l'assemblage des protéines matricielles et du pontage des protéines, en particulier du collagène (Bulckaen et Puisieux, 2003)

L'hypertrophie pariétale observée au cours du vieillissement résulte d'altérations aussi bien au niveau des cellules musculaires lisses (CML) que de la matrice extracellulaire (MEC). On observe une hypertrophie et/ou une hyperplasie des CML qui s'accompagnent d'une altération des réponses contractiles et relaxantes de ces cellules (Folkow et Svanborg, 1993) et une augmentation des taux de glycosamines dans la MEC (Bouissou et coll., 1987).

❖ MEC et liaisons cellules-matrice

Les modifications au cours du vieillissement des autres protéines matricielles et en particulier des protéines d'adhésion sont moins connues. Les taux de fibronectines plasmatiques sont fortement augmentés chez l'homme âgé, mais aucun lien direct entre les taux plasmatiques circulants de cette glycoprotéine et son accumulation tissulaire n'a été établi *in vivo* (Lacolley et coll., 2002a).

En résumé, les effets du vieillissement sur les déterminants de la rigidité pariétale aortique concerne peu la contrainte pariétale et des modifications quantitatives de la composition pariétale. En revanche, les atteintes qualitatives (calcinose, glycation, modification du rapport collagène I/III, dégradation du réseau élastique et peut-être interactions cellules-matrice) semblent avoir quant à elles un plus fort retentissement. Il convient donc de trouver un modèle animal capable de mimer ces différents aspects, au moins en partie.

I.5 – MODELES ANIMAUX DE RIGIDITE PARIETALE AORTIQUE HUMAINE

1.5.1 – Problématique

Le point critique de toutes les études physiopathologiques et pharmacologiques en expérimentation animale reste de trouver un modèle animal mimant au mieux les caractéristiques de la pathologie humaine.

Dans le cas du vieillissement cardiovasculaire chez l'Homme, l'apparition et le développement d'une rigidité pariétale aortique résulte de la somme des altérations des différents déterminants de l'élasticité artérielle. Ainsi, on observe notamment une calcinose artérielle d'apparition très progressive (le taux de calcium augmente de 50 à 100 fois entre 0 et 90 ans, Fleckenstein et coll., 1983) accompagnée d'une glycation des fibres de collagène (ce qui les rend encore plus rigides) et d'une augmentation du rapport collagène/élastine.

Une solution simple pourrait être d'utiliser des rats âgés (30 mois ou plus). Cependant, ce modèle se révèle être assez imparfait pour mimer la physiopathologie du vieillissement cardiovasculaire humain car si le rat âgé de 30 mois développe bien une glycation des fibres de collagène (Cantini et coll., 2001), il ne présente qu'une calcification relativement faible par rapport au rat jeune (taux de calcium multiplié par 2 ou 3, Kieffer et coll., 2000).

Le simple vieillissement naturel n'étant pas suffisant pour obtenir chez le rat une rigidité pariétale aortique aux caractéristiques comparables à celles observées chez l'Homme, il a donc été nécessaire de développer des modèles animaux afin d'étudier la MVR. Plusieurs possibilités sont alors envisageables en fonction des caractéristiques de la MVR que l'on

souhaite accentuer : calcification intense, dégradation du réseau élastique, fibrose, glycation, altérations des interactions cellules-MEC...

Au cours de cette étude, nous avons choisi de nous intéresser plus particulièrement à l'une de ces caractéristiques de la MVR, la calcification intense de la paroi aortique (Atkinson, 1999). Plusieurs modèles ont été développés afin d'induire une calcification de la paroi aortique chez l'animal. Ainsi, il a été notamment montré que l'administration de warfarine et de vitamine K1 (Essalihi et coll., 2003), de même que l'administration de fortes doses de vitamine D₃ et de nicotine (modèle VDN, cf. ci-dessous) provoquaient une calcification de la paroi aortique avec pour conséquences une rigidification de cette paroi et l'apparition d'une HTSI. Ce dernier modèle, le rat VDN, que nous avons choisi d'utiliser au cours de ce travail, a fait l'objet de nombreuses études au laboratoire qui ont permis de décrire ses principales caractéristiques.

1.5.2 – Le rat VDN

Haas et coll. (1958) ont été les premiers à décrire les effets vasculaires de l'hypervitaminose D. Leurs travaux leur ont ainsi permis de développer un modèle expérimental de calcinose pariétale "accélérée" chez le jeune rat, obtenue par l'administration de doses massives de vitamine D₃ et de nicotine. Ce modèle a par la suite été repris et modifié successivement par Fleckenstein (1985) puis Atkinson et ses collaborateurs (Henrion et coll. 1991b, Atkinson 1992).

1.5.2.1 – Développement du modèle VDN

Le modèle original de Fleckenstein (1985) consistait en l'administration d'une forte dose de vitamine D₃ suivie d'administrations bi-quotidiennes de nicotine pendant 5 jours. Les rats traités présentaient une forte calcification de leurs artères et mouraient dans les 6 jours suivant l'administration de vitamine D₃. L'administration simultanée de fortes doses d'inhibiteurs calciques permettait de protéger les rats de l'effet léthal d'un tel traitement : ces observations ont apporté des informations fondamentales pour le développement de la classe des inhibiteurs calciques.

Afin d'obtenir un modèle d'artériosclérose "viable" à moyen terme, Atkinson et ses collaborateurs (Thorin et coll., 1990 ; Henrion et coll. 1991b, Atkinson, 1992) ont modifié le modèle proposé par Fleckenstein afin d'en limiter la toxicité. Le modèle ainsi proposé, le rat VDN, consiste en l'administration d'une dose unique de vitamine D₃ (300 000 UI/kg) suivie dans la même journée par deux administrations de nicotine (25 mg/kg) espacées de 8 heures à de jeunes rats âgés d'environ 2 mois.

La mortalité engendrée par ce traitement n'est plus que d'environ 10% dans la première semaine après le traitement VDN (Marque et coll., 2001a). Les rats présentent une perte d'environ 20% du poids corporel pendant la première semaine puis retrouvent une croissance normale. Les effets du traitement VDN se maintiennent à long terme (au moins jusqu'à l'âge de 14 mois, Atkinson et coll., 1994).

1.5.2.2 – Caractéristiques du modèle VDN

L'administration d'une dose supra-toxique de vitamine D₃ provoque chez les rats traités une hypercalcémie transitoire pendant environ 6 jours (Figure 8, Kieffer et coll., 2000), due au relargage de calcium à partir du tissu osseux et à la nourriture. Le calcium se dépose ensuite dans différents organes, avec une concentration variable selon les tissus : aorte thoracique > aorte abdominale > artère carotide > rein > artère caudale > cœur > artère mésentérique (Henrion et coll., 1991a).

L'administration de nicotine entraîne une libération très importante d'adrénaline et de noradrénaline, provoquant une vasoconstriction importante des cellules musculaires lisses vasculaires voire une nécrose favorisant la libération du calcium intracellulaire (Hass et coll., 1958). En absence de nicotine, la calcification pariétale est plus faible (Niederhoffer, données non publiées).

En ce qui concerne plus particulièrement l'aorte thoracique, l'hypervitaminose D associée à la nicotine produit donc rapidement une calcinose pariétale durable d'intensité comparable à celle observée chez l'Homme âgé. Le taux de calcium tissulaire total dans la paroi aortique est multiplié par un facteur 30 à 50. Les sites principaux de fixation du calcium sont les fibres élastiques médiales les plus internes (Henrion et coll., 1991b ; Niederhoffer et coll., 1997a). (Figure 9).

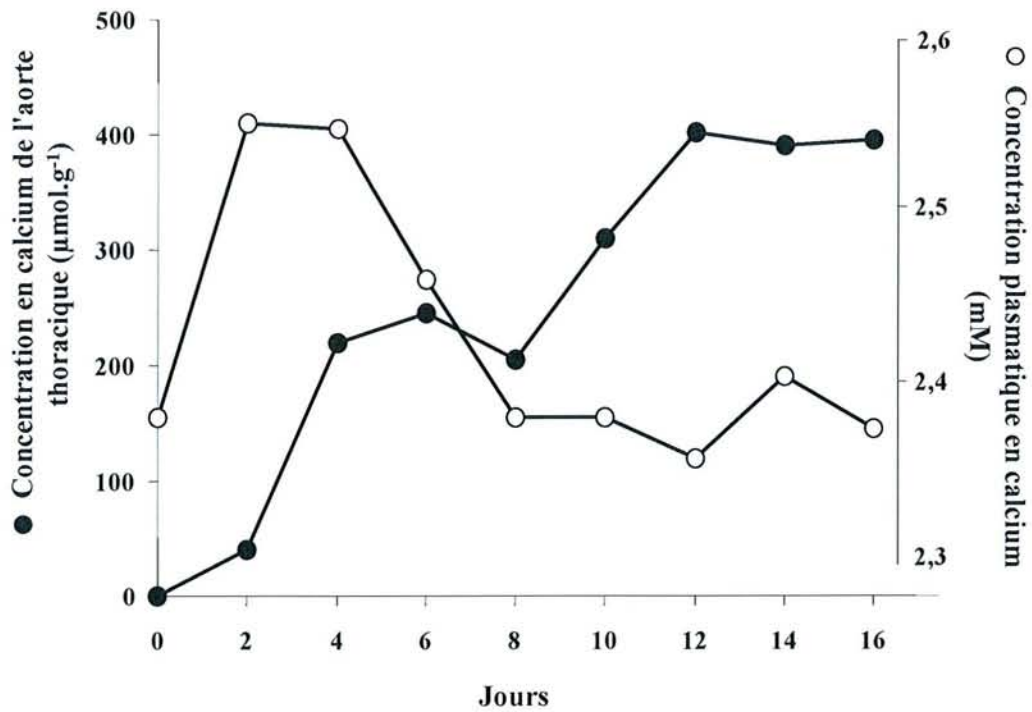


Figure 8 : Evolution du taux de calcium plasmatique (○) et de la paroi de l'aorte thoracique (●) suite à un traitement VDN au jour 0 (d'après Kieffer et coll., 2000).

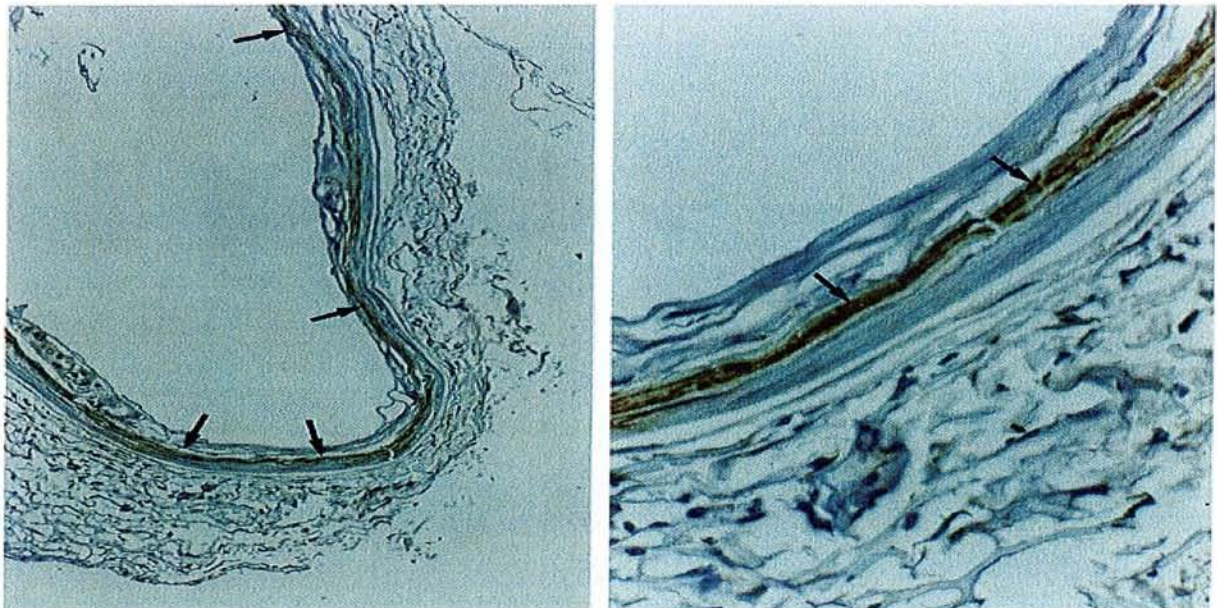


Figure 9 : Coupes d'aorte de rat VDN montrant la calcification intense de la paroi (désignée par les flèches, en marron, coloration de Von Kossa). Grossissement x100 (gauche), x400 (droite) (d'après Niederhoffer et coll., 1997a).

Cette élastocalcinose médiale sous forme de dépôts calciques non homogènes, entraîne progressivement une fracturation des lames élastiques. A terme, le réseau élastique médial est fragmenté et désorganisé (Figure 10).

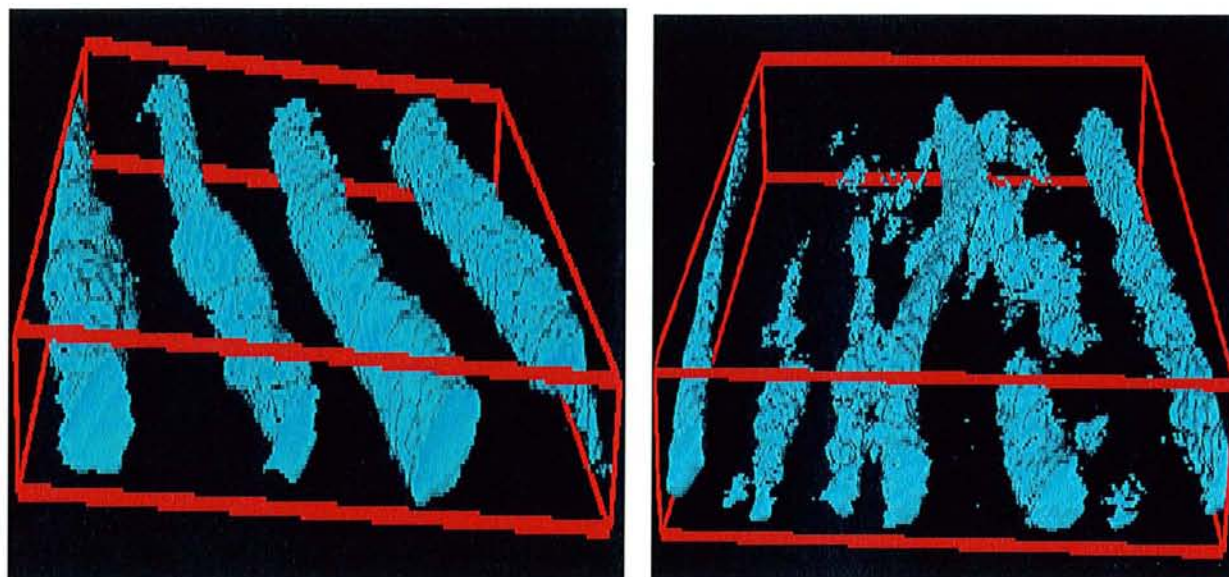


Figure 10 : Observation des lames élastiques d'aorte de rats VDN (à droite) et Non-VDN (à gauche) en microscopie confocale (d'après Giummelly et coll., 1998).

Plusieurs études réalisées au laboratoire sur le rat VDN (Thorin et coll., 1990 ; Henrion et coll., 1991a et 1991b ; Atkinson et coll., 1994 ; Tatchum-Talom et coll., 1995 ; Niederhoffer et coll., 1997a et 1997b ; Lartaud-Idjouadiene et coll., 1999 ; Kieffer et coll., 2000 ; Marque et coll., 2001a) ont mis en évidence plusieurs caractéristiques communes avec les effets du vieillissement cardiovasculaire : augmentation de la VOP, du ME pariétal aortique, de la PP, apparition d'une HTSI et d'une HVG avec adaptation des myocytes pour maintenir les performances cardiaques. La PAM et le volume d'éjection systolique quant à eux ne sont pas modifiés.

Au sein du modèle VDN, la cascade d'événements serait la suivante (Figure 11) : l'élastocalcinose entraîne une altération des propriétés fonctionnelles et une dégradation des fibres élastiques aboutissant à une augmentation du ME et donc de la rigidité pariétale. La rupture du réseau élastique de maintien entraîne une dilatation artérielle qui stabilise dans un

premier temps la compliance artérielle. Mais la rigidité pariétale artérielle est telle que malgré la dilatation, la compliance diminue (Atkinson et coll., 1994 ; Lartaud-Idjouadiene et coll., 1999). L'élastocalcinose est associée à une élévation de la PP et de la CP cyclique. Le couplage de ces deux phénomènes pourrait potentiellement provoquer de nouvelles cassures des fibres élastiques, exposant ainsi de nouveaux sites de fixation pour le calcium. Ce système de rétroaction positive amplifierait l'élastocalcinose et l'augmentation consécutive de rigidité, dépassant au-delà d'un seuil critique les capacités compensatrices de la vasodilatation.

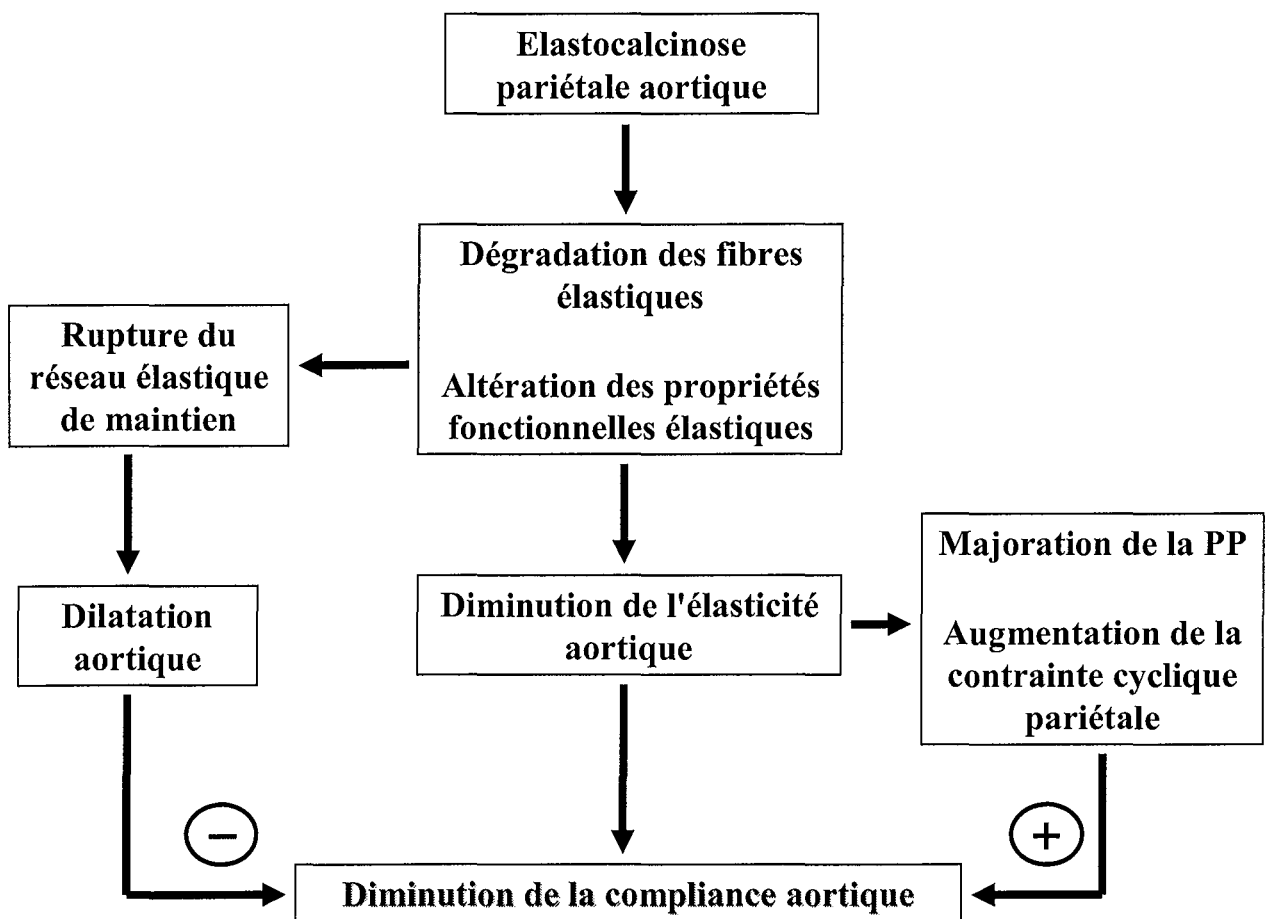


Figure 11 : Schéma représentatif des conséquences de l'élastocalcinose dans le modèle VDN.

II – LES PPARS ET LEURS EFFETS BIOLOGIQUES

Le premier récepteur PPAR a été identifié chez la souris il y a une quinzaine d'années par Isseman et Green (1990). Ces auteurs le décrivaient alors comme un récepteur hormonal nucléaire activé par des substances ayant la capacité d'induire la prolifération des peroxyosomes. Depuis, son existence a été retrouvée dans de très nombreuses espèces et les PPARs sont considérés aujourd'hui comme une sous-famille de récepteurs nucléaires à part entière. Ainsi, ils sont rapidement passés du statut de "récepteurs orphelins" aux ligands endogènes et aux rôles physiologiques inconnus à celui de récepteurs nucléaires parmi les plus décrits et les plus étudiés (Schoonjans et coll., 1997 ; Wilson et coll., 2000).

Impliqués dans la régulation du métabolisme des lipides et des lipoprotéines et dans l'homéostasie du glucose, les PPARs sont une cible pharmacologique de choix pour le traitement des désordres métaboliques tels que les hyperlipidémies (*via* leur activation par les fibrates) ou le diabète (*via* leur activation par les TZD).

Cependant, les connaissances sur les PPARs ne cessent de s'accroître et de mettre en évidence leur rôle pléiotropique du fait de leur implication dans des mécanismes physiologiques aussi divers que le déroulement du cycle cellulaire, la différenciation et la détoxification cellulaire, l'implantation fœtale, le développement cérébral, l'inflammation mais également dans des mécanismes pathologiques tels que le cancer ou l'athérosclérose (Debril et coll., 2001 ; Schohn et coll., 2001). De ce fait, les activateurs des PPARs pourraient se révéler efficaces dans de nombreuses pathologies autres que les hyperlipidémies et le diabète (Pershad Singh, 2004)

Après quelques généralités sur la famille des PPARs, nous nous intéresserons plus particulièrement au cours de cet exposé aux principales fonctions biologiques de ces récepteurs (métabolisme lipidique et glucidique, inflammation) ainsi qu'à la place qu'ils occupent dans certaines pathologies cardiovasculaires. Enfin, nous décrirons de nouvelles familles thérapeutiques actuellement développées par l'industrie pharmaceutique dans le but d'agir de façon encore plus précise et spécifique sur la cible pharmacologique que sont les PPARs.

II.1 – GENERALITES

II.1.1 – Les récepteurs nucléaires et la sous-famille des PPARs

Les récepteurs nucléaires sont des régulateurs de la transcription de certains gènes et de diverses fonctions intracellulaires (Escriva et coll., 2000). Ils représentent une super-famille de plus de 120 protéines, comprenant notamment les récepteurs des oestrogènes, des hormones thyroïdiennes, des glucocorticoïdes, des rétinoïdes, de la vitamine D₃ ainsi que les membres de la sous famille des récepteurs activés par les proliférateurs de peroxysomes (PPARs). Les récepteurs nucléaires sont des facteurs de transcription activés par des ligands et qui régulent de nombreuses fonctions biologiques allant de la prolifération, de la différenciation et de l'apoptose cellulaires au métabolisme lipidique et à l'homéostasie énergétique. Les stéroïdes, les hormones thyroïdiennes, les acides gras, les vitamines A et D sont des exemples de ligands lipophiles naturels pouvant se lier à cette superfamille de récepteurs (Houseknecht et coll., 2002).

La sous-famille des PPARs inclut des gènes distincts codant pour plusieurs isoformes. Trois isoformes ont ainsi été décrites : PPAR α (NR1C1), PPAR β/δ (NR1C2) et PPAR γ (NR1C3) (Schoonjans et coll., 1996). PPAR γ présente lui-même 2 sous-types, PPAR γ_1 et PPAR γ_2 , qui diffèrent par leur extrémité N-terminale (Tontonoz et coll., 1994).

II.1.2 – Structure des PPARs

Bien que les différentes isoformes de PPARs soient codées par des gènes différents, leurs structures protéiques sont similaires et comporte 5 domaines : une extrémité N-terminale ou domaine A/B, un domaine C de liaison à l'ADN, une région "charnière" (domaine D), un domaine E pour la liaison avec le ligand et un domaine F pour lequel aucune fonction n'a encore été identifiée (Figure 12, Blanquart et coll., 2003). A l'intérieur de la famille des PPARs, le domaine de liaison à l'ADN est conservé à 85%, celui de liaison au ligand à 70% (Wilson et coll., 2000).

La région N-terminale ou domaine A/B contient chez certains récepteurs, dont PPAR γ , une séquence AF-1 (Activation Function-1), qui activerait la transcription en absence de ligand (Castillo et coll., 1999).

Le domaine C contient 2 structures en doigts de zinc et 9 cystéines (structure conservée dans toute la super-famille des récepteurs nucléaires) lui permettant de se fixer sur l'ADN au niveau d'une séquence PPRE (Peroxisome Proliferator Response Elements).

Le domaine D correspond à une région "charnière", importante pour la liaison avec les co-facteurs (Debril et coll., 2001).

Le domaine de liaison au ligand, situé dans le domaine E est formé de 12 hélices α dont l'organisation tridimensionnelle ménage une cavité hydrophobe permettant d'accueillir le ligand. C'est également au niveau du domaine E que le PPAR va se dimériser avec le récepteur nucléaire RXR (retinoic X receptor) et que se trouve la principale fonction activatrice transcriptionnelle (AF-2).

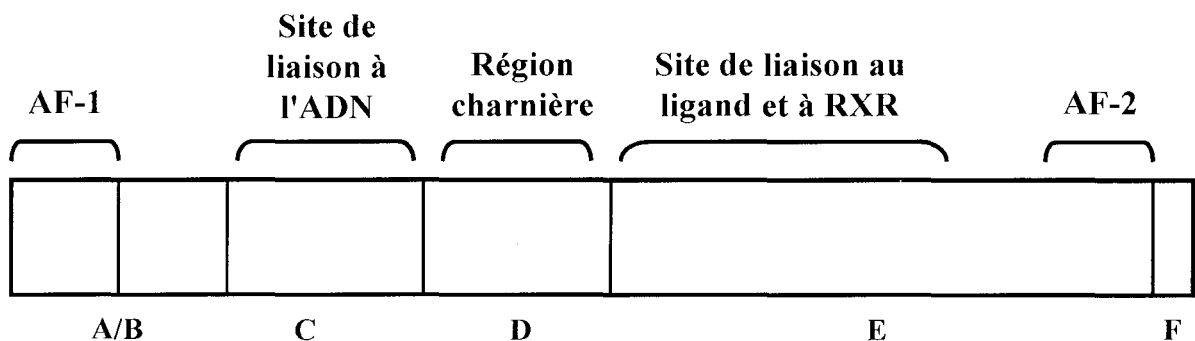


Figure 12 : Représentation schématique de la structure de la protéine PPAR et de ses différents domaines (d'après Blanquart et coll., 2003).

II.1.3 - Mécanisme d'action des PPARs

A l'état inactif, les PPARs sont liés à des co-répresseurs. Leur activation nécessite de s'en séparer, suite à la liaison du PPAR avec un ligand spécifique. Après pénétration du ligand dans la cellule puis dans le noyau, celui-ci se fixe au PPAR et l'active en provoquant un changement de conformation tridimensionnelle dans la région de liaison avec l'ADN. Cette modification conformationnelle permet non seulement au PPAR de se fixer à l'ADN

mais aussi de stabiliser l'interaction entre le PPAR et le récepteur nucléaire de l'acide 9-cis rétinolique (RXR). Ces derniers forment alors un hétérodimère. L'interaction PPAR / RXR va également permettre le recrutement de co-activateurs qui peuvent moduler spécifiquement l'activité des PPARs.

Le PPAR, lié à son ligand et à RXR, se fixe sur une séquence promotrice spécifique d'un gène cible ou PPRE (Debril et coll., 2001). La séquence consensus PPRE pour les PPARs consiste en la répétition de séquences AGGTCA espacées d'une base, précédée en 5' d'une séquence spécifique à l'isoforme (par exemple pour PPAR α : C(C/G)(A/G)A(A/T)(C/T)) (Neve et coll., 2000). L'interaction entre PPAR et PPRE a pour effet d'activer et de moduler une ARN-polymérase II qui va transcrire l'ADN en ARNm. Ainsi, l'activation transcriptionnelle de gènes-cibles résulte en une synthèse protéique et entraîne des effets biologiques divers (Wilson et coll., 2000). Ce processus correspond à un phénomène de trans-activation (Figure 13).

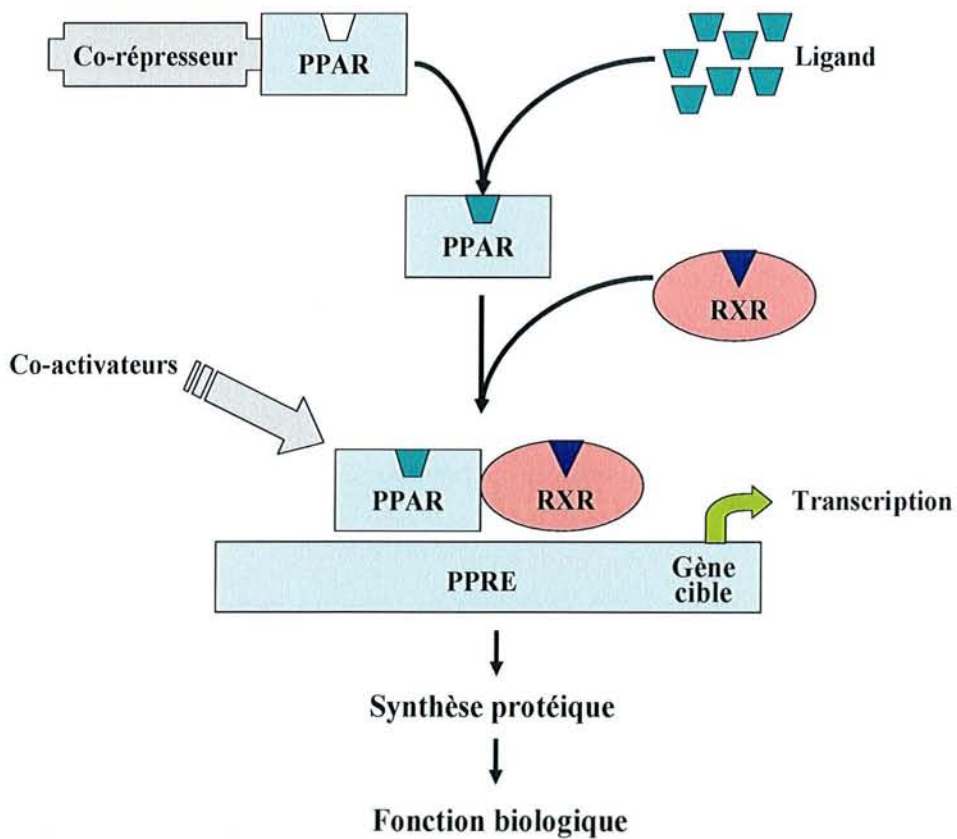


Figure 13 : Mécanisme d'action des PPARs par trans-activation. Suite à la liaison avec un ligand, la protéine PPAR est activée et régule la transcription d'un gène-cible.

En plus de leur capacité à réguler l'expression des gènes à un niveau transcriptionnel par l'intermédiaire des PPREs, les PPARs peuvent également réprimer la transcription de gènes en interférant négativement avec d'autres voies de signalisation, comme par exemple celles de NF- κ B, de STAT et de AP-1. Ce mécanisme de trans-répression, qui régule négativement l'expression de gènes impliqués dans le processus inflammatoire, a été proposé comme étant à la base des propriétés anti-inflammatoires des PPARs. Il serait indépendant d'une liaison à l'ADN mais relèverait plutôt d'interactions protéine/protéine avec formation de complexes inactifs ou d'une compétition pour un co-facteur commun (Ricote et coll., 1998a ; Delerive et coll., 1999b ; Vlaeminck-Guillem et coll., 2003).

Par ailleurs, les ligands et les co-activateurs ne sont pas les seuls agents capables de modifier l'activité des PPARs. Ainsi, la phosphorylation de la sérine 82 de la protéine PPAR γ par une MAP kinase produit une modulation de l'activité transcriptionnelle de PPAR γ . Cette phosphorylation produirait en effet un changement conformationnel au niveau du site AF-2 ayant pour conséquence une variation de l'affinité pour certains ligands ou co-activateurs (Debril et coll., 2001).

Enfin, Hauser et ses collaborateurs (2000) ont proposé un nouveau mécanisme de régulation de la protéine PPAR γ suite à la liaison au ligand : l'induction de la dégradation du récepteur par le protéasome. Cette voie de dégradation, impliquée dans la régulation des protéines à demi-vie courte et contrôlant des fonctions cellulaires essentielles (cycle cellulaire, transcription,... etc.), est dépendante d'un phénomène d'ubiquitination. L'ubiquitine, polypeptide de 8 kDa, se fixe de façon covalente aux résidus lysines. Les protéines multi-ubiquitinylées sont ensuite rapidement dégradées par le protéasome 26S (Blanquart et coll., 2003). Les ligands étant ainsi capables à la fois d'activer les PPARs et de provoquer leur destruction, il existe donc dans la cellule un mécanisme de feed-back permettant de contre-balancer l'activité transcriptionnelle des PPARs. Sporn et ses collaborateurs (2001) proposent donc de ne pas considérer les ligands des récepteurs nucléaires, dont les PPARs, uniquement comme de simples agonistes ou antagonistes, mais plutôt comme des modulateurs, offrant de nouvelles perspectives thérapeutiques intéressantes (voir II.4 - "Perspectives thérapeutiques des PPARs").

II.2 – FONCTIONS BIOLOGIQUES DES PPARS

II.2.1 – Expression tissulaire

Les PPARs s'expriment de façon ubiquitaire dans l'organisme. Cependant, la distribution tissulaire de la protéine est variable selon l'isoforme (Braissant et coll., 1996).

PPAR α est principalement exprimé dans les tissus ayant un potentiel catabolique des acides gras ou dans les organes ayant une activité métabolique importante tels que le foie, le rein, le cœur ou les glandes surrénales.

PPAR γ_2 est retrouvé essentiellement dans le tissu adipeux tandis que PPAR γ_1 est exprimé dans les autres tissus non adipeux (intestin, glande mammaire). De plus, PPAR α et PPAR γ sont exprimés dans les cellules vasculaires (cellules endothéliales, cellules musculaires lisses ; Bishop-Bailey, 2000). Ces deux isoformes sont également retrouvées dans la lignée des monocytes/macrophages avec des taux différents selon leurs degrés de différenciation : alors que PPAR α est exprimé aussi bien dans les monocytes circulants que dans les macrophages tissulaires, la présence de PPAR γ est surtout observée dans les macrophages (Ricote et coll., 1998b) mais également dans les cellules spumeuses (macrophages gorgés de lipides dans les plaques d'athérome, Chawla et coll., 2001).

PPAR β/δ est ubiquitaire et est souvent exprimé à des taux plus importants que PPAR α et PPAR γ (Braissant et coll., 1996).

II.2.2 - Ligands

A ce jour, une large diversité de molécules, endogènes ou synthétiques, a été décrite comme pouvant se lier et activer les PPARs (Tableau 1). En effet, la structure tridimensionnelle des PPARs ménagée pour accueillir le ligand est une large poche hydrophobe, mesurant environ 1300 Å. Ainsi, de nombreux ligands hydrophobes de taille et de structures très variables sont capables d'activer ces récepteurs.

En ce qui concerne les acides gras, certains peuvent avoir une affinité plus prononcée pour certaines isoformes de PPARs que pour d'autres (par exemple, PPAR γ et les acides linoléiques et linoléiques, Houseknecht et coll., 2002). La plupart des acides gras sont cependant capables d'activer les 3 isoformes de PPARs s'ils sont en concentration suffisante

dans la cellule (Kliwer et coll., 1997). Kliwer et ses collaborateurs suggèrent d'ailleurs que les PPARs seraient des "détecteurs" physiologiques du taux de lipides et commanderaient un mécanisme moléculaire pour maintenir l'homéostasie lipidique dans l'organisme.

Les TZD, qui présentent notamment une bonne activité anti-diabétique *via* l'activation de PPAR γ , n'ont qu'une affinité modeste pour ce récepteur (Houseknecht et coll., 2002).

Par ailleurs, aucun ligand endogène spécifique de chaque isoforme de PPARs n'a encore été identifié à ce jour avec certitude.

Tableau 1 : Ligands endogènes et synthétiques activateurs des différentes isoformes de PPARs (d'après Bishop-Bailey, 2000 ; Schohn et coll., 2001 ; Houseknecht et coll., 2002).

AINS : Anti-inflammatoires non-stéroïdiens ; 15d-PGJ₂ : 15-deoxy- $\Delta^{12,14}$ Prostaglandines J₂ ; 8-(S)HETE : acide 8-(S) hydroxy-eicosatétraénoïque

<i>Isoformes</i>	<i>Ligands endogènes</i>	<i>Ligands synthétiques</i>
PPARα	Eicosanoïdes dont : <i>leucotriène B4</i> <i>8-(S)HETE</i> Acides gras dont : <i>acide arachidonique</i>	Fibrates dont <i>clofibrate</i> <i>fenofibrate</i> <i>gemfibrozil</i> AINS
PPARβ/δ	Acides gras polyinsaturés	
PPARγ	Eicosanoïdes dont : <i>15d-PGJ₂</i> LDL oxydés Acides gras Acides gras polyinsaturés	Thiazolidinediones dont : <i>troglitazone</i> <i>rosiglitazone</i> <i>pioglitazone</i> AINS

II.2.3 – Principales fonctions physiologiques des PPARs

Les PPARs sont des protéines pléiotropes et sont responsables de la modulation de multiples fonctions biologiques. Nous ne décrivons ici que les fonctions de PPAR α et PPAR γ pouvant avoir une influence potentielle sur le système cardiovasculaire, à savoir celles impliquant le métabolisme lipidique et le métabolisme glucidique ainsi que le processus inflammatoire. Le rôle physiologique de PPAR β/δ est encore mal connu et peu décrit.

II.2.3.1 – PPAR α et métabolisme lipidique

Chez l'Homme, l'activation de PPAR α par les fibrates diminue les concentrations plasmatiques des triglycérides et augmente celles du HDL-cholestérol (Staels et coll., 1998).

La réduction du taux de triglycérides est due à une diminution de la synthèse hépatique des lipoprotéines de très basse densité riches en triglycérides (VLDL) et à une augmentation de la lipolyse intra-vasculaire de ces lipoprotéines. En fait, de nombreux gènes impliqués dans le transport membranaire des acides gras et dans la β -oxydation possèdent un PPRE dans leur région promotrice. En activant PPAR α , les fibrates stimulent donc la transcription de ces gènes. Ainsi, les fibrates favorisent l'entrée des acides gras dans la mitochondrie et leur β -oxydation, ce qui diminue les quantités d'acides gras disponibles pour la synthèse des triglycérides-VLDL et donc leur sécrétion hépatique (pour revue, voir Lestavel et coll., 2001).

De plus, PPAR α augmente l'activité de la lipoprotéine lipase, d'une part en stimulant l'expression du gène codant pour cette protéine, et d'autre part en réprimant la synthèse de l'apoprotéine CIII, inhibiteur naturel de l'activité de la lipoprotéine lipase.

Enfin, PPAR α augmente la synthèse des apolipoprotéines AI et AII, permettant ainsi l'augmentation des concentrations plasmatiques de HDL-cholestérol.

En revanche, l'effet de PPAR α sur le métabolisme des LDL est plus modeste. En effet, les LDL acquièrent moins de triglycérides que les VLDL et subissent donc une action limitée de la lipase hépatique. Cependant, le nombre de LDL de petite taille diminue au profit de LDL de grande taille, moins athérogènes.

A cet effet hypolipémiant des fibrates *via* l'activation de PPAR α , s'ajoute également un effet *via* l'inhibition partielle de l'HMG-CoA réductase, enzyme intervenant dans la synthèse du cholestérol (Berndt et coll., 1978).

PPAR γ intervient peu sur le métabolisme lipidique. Les TZD diminuent cependant les concentrations plasmatiques de triglycérides, de cholestérol et d'acides gras libres (Gillies et Dunn, 2000 ; Einhorn et coll., 2000), notamment *via* leur action sur la différenciation adipocytaire (cf. ci-dessous). Certaines comme la troglitazone augmentent même le taux de HDL-cholestérol.

Il est à noter que PPAR β/δ serait également impliqué dans le métabolisme lipidique, au moins au niveau cardiaque (Gilde et coll., 2003) mais son rôle est à ce jour encore mal connu et peu évalué.

II.2.3.2 – PPAR γ , différenciation adipocytaire et métabolisme glucidique

PPAR γ intervient dans la différenciation adipocytaire par action sur la régulation de l'expression de nombreux gènes impliqués dans le phénotype adipocytaire. L'activation de PPAR γ est en effet capable de promouvoir l'adipogenèse dans des cellules non adipogéniques telles que les fibroblastes (Gervois et Fruchard, 2003). Plusieurs études ont également mis en évidence une corrélation entre les mutations du gène de PPAR γ et la susceptibilité au développement de l'obésité chez l'Homme. Par exemple, Beamer et ses collaborateurs (1998) ont ainsi montré, dans deux populations caucasiennes indépendantes, qu'une mutation du gène de PPAR γ_2 était associée avec une augmentation de l'indice de masse corporelle. Ceci confirme également le rôle plus marqué de l'isoforme PPAR γ_2 dans la différenciation adipocytaire par rapport à l'isoforme PPAR γ_1 .

Il a été montré que l'administration de TZD chez le diabétique s'accompagnait d'une prise de poids, tant chez l'homme (Miyazaki et coll., 2002) que chez l'animal (Suzuki et coll., 2002). Miyazaki et ses collaborateurs (2002) ont observé que la prise de poids sous pioglitazone s'accompagne d'une augmentation de la graisse sous-cutanée et d'une diminution de la graisse péri-viscérale abdominale. Cependant, cette redistribution de la masse adipeuse semble elle-même aller dans le sens d'une limitation des complications métaboliques de type diabète et dyslipidémies (Gasteyger et Tremblay, 2002).

Par ailleurs, l'activation de PPAR γ par ses ligands améliore fortement, *in vivo*, l'insulino-résistance (Yamasaki et coll., 1997). L'insulino-résistance se caractérise par des anomalies de la transmission des signaux insuliniques entre le récepteur cellulaire de l'insuline et les structures intracellulaires. Or, suite à l'administration de TZD et à l'activation des PPAR γ , on observe une majoration de la synthèse de protéines responsables de la transmission des signaux insuliniques au sein de la cellule et du transport du glucose vers le milieu intracellulaire (Gillies et Dunn, 2000). C'est pour cette propriété qu'a été développée la famille des TZD, dans la thérapeutique du diabétique de type II, selon un concept original puisque les TZD n'ont aucun effet sur les cellules β des îlots de Langerhans (Gillies et Dunn, 2000). De plus, des mutations du gène de PPAR γ ont été identifiées chez quelques patients présentant une résistance à l'insuline (Barroso et coll., 1999).

Cependant, il existe un paradoxe puisque les muscles sont les sites d'action principaux des TZD. Or, le muscle est très pauvre en PPAR γ alors qu'il est très riche en PPAR α . En fait, la réduction de l'insulino-résistance liée à PPAR γ s'opère *via* la régulation de gènes clés dans l'adipocyte. Ainsi, PPAR γ favorise le flux de triglycérides allant vers le tissu adipeux (Martin et coll., 1998), réservant l'utilisation du glucose par le cerveau, le foie et le muscle. Des cytokines, telles que Il-6 et TNF- α sont impliquées dans la résistance à l'insuline associée à l'obésité. PPAR γ atténue l'effet de ces cytokines dans le tissu adipeux. Une petite protéine sécrétée, la résistine, a été récemment découverte dans les cellules adipeuses et semble promouvoir la résistance systémique à l'insuline. Or, les TZD répriment l'expression de ce facteur. Une autre protéine sécrétée, l'adiponectine, est une cible des TZD et potentialise la sensibilité à l'insuline (Gervois et Fruchard, 2003).

Fujiwara et Horikoshi (2000) suggèrent que l'action hypoglycémiante des TZD passerait également par une autre voie que celle de l'activation des PPAR γ . La troglitazone diminue en effet la concentration en glucose plasmatique même après une administration aiguë, *via* un mécanisme encore inconnu.

II.2.3.3 – PPARs et inflammation

Alors que les propriétés régulatrices des métabolismes lipidique et glucidique des PPARs sont de plus en plus documentées, de très nombreuses équipes se sont intéressées depuis quelques années au rôle que pourraient jouer les PPARs dans la modulation du phénomène inflammatoire (Daynes et Jones, 2002).

Le rôle anti-inflammatoire de PPAR α avait été suggéré dès 1996 par Devchand et ses collaborateurs qui montraient que le leucotriène B₄, un eicosanoïde pro-inflammatoire, était un ligand de PPAR α impliqué dans la régulation de la dégradation oxydative des acides gras et de leurs dérivés, dont le leucotriène B₄ lui-même. L'effet pro-inflammatoire du leucotriène B₄ est donc contrecarré par la stimulation de sa propre dégradation par la voie de PPAR α .

Par ailleurs, le développement d'une souris déficiente en PPAR α , présentant un état inflammatoire chronique (Gonzalez, 1997), a apporté des arguments supplémentaires.

On sait aujourd'hui que les agonistes de PPAR α diminuent la transcription de nombreux gènes impliqués dans la réponse inflammatoire et réduisent *in vivo* la concentration de certaines cytokines inflammatoires.

L'effet des ligands de PPAR γ sur l'inflammation est plus nuancé. Des études ont montré que les ligands de PPAR γ inhibent la production par les monocytes/macrophages de cytokines pro-inflammatoires telles que TNF α , Il-1, Il-6 et Il -12 (Jiang et coll., 1998), mais les résultats pour TNF α et Il-6 sont controversés.

De nombreux auteurs ont mis en évidence le rôle modulateur de l'inflammation des PPARs dans diverses pathologies inflammatoires intestinales (rectocolite hémorragique, maladie de Crohn, cancer du côlon, Wada et coll., 2001), hépatiques (Chinetti et coll., 2003) ou vasculaires (cf. ci-dessous). Il semblerait que le mécanisme général d'action anti-inflammatoire des ligands des PPARs, notamment au niveau cardiovasculaire, soit la trans-répression sur les voies de NF- κ B, STAT et AP-1 (Ricote et coll., 1998b ; Delerive et coll., 1999b ; Chinetti et coll., 2001 ; Vlaeminck-Guillem et coll., 2003).

II.3 – PPARS ET PATHOLOGIES CARDIOVASCULAIRES

L'intérêt pour les propriétés des récepteurs PPARs ne s'est pas porté dans un premier temps sur le système cardiovasculaire. En effet, par rapport à certains autres tissus, les PPARs y sont relativement peu exprimés. PPAR α et PPAR γ sont néanmoins exprimés dans le cœur et dans les cellules vasculaires et immunes (cellules endothéliales, cellules musculaires lisses (Bishop-Bailey, 2000), macrophage et cellules spumeuses (Ricote et coll., 1998a).

Cependant, de plus en plus d'éléments tendent à montrer que les PPARs pourraient néanmoins jouer un rôle non négligeable dans la physiologie cardiovasculaire, soit directement, *via* par exemple leurs effets sur certaines dysfonctions endothéliales, soit indirectement *via* leur influence sur les métabolismes glucidiques et lipidiques qui ont eux-mêmes un impact sur les facteurs de risques cardiovasculaires.

II.3.1 – PPARs et dysfonction cardiaque lors de l'hypertrophie cardiaque

Le récepteur PPAR α est l'isoforme principalement retrouvée au niveau du cœur où elle y joue un rôle critique dans la régulation du métabolisme des acides gras cellulaires. Ainsi, Barger et ses collaborateurs (2000) ont montré que, durant la phase de croissance de l'hypertrophie cardiaque, l'expression de PPAR α au niveau cardiaque est diminuée et que son activité est réprimée au niveau post-transcriptionnelle par une MAP-kinase. Cette répression de PPAR α conduit alors à une perturbation de l'homéostasie lipidique et énergétique dans les cardiomyocytes hypertrophiés. Ces auteurs suggèrent que ceci pourrait être la cause de certaines perturbations du travail cardiaque (arythmie, dysfonction de la contractilité) rencontrées dans le remodelage hypertrophique pathologique du cœur.

Des données récentes montrent que PPAR β/δ serait également impliqué dans le métabolisme lipidique au niveau cardiaque (Gilde et coll., 2003). Ces résultats demandent encore à être confirmés par d'autres études mais suggèrent néanmoins l'existence d'un nouvel acteur dans les pathologies cardiaques.

Par ailleurs, PPAR γ est également présent dans les cardiomyocytes et pourrait aussi avoir un rôle dans le développement de l'hypertrophie cardiaque (Yamamoto et coll., 2001). En effet, les activateurs de PPAR γ (PGJ₂ et troglitazone) inhibent l'hypertrophie des cardiomyocytes suite à des stimuli hypertrophiques (étirement mécanique, angiotensine II, endothéline-1...). Yamamoto et ses collaborateurs (2001) suggèrent que cet effet sur l'hypertrophie cardiaque passerait, au moins partiellement, par une régulation de la voie de NF- κ B.

Cependant, chez l'Homme, cet effet de PPAR γ semble moins évident. En effet, aucune modification des paramètres cardiaques n'a été observée chez des diabétiques de type II après 48 semaines de traitement par la troglitazone (Ghazzi et coll., 1997).

II.3.2 – PPARs et athérosclérose

Plusieurs études cliniques (LOCAT, Frick et coll., 1997 ; BECAIT, De Faire et coll., 1997) montrent que les fibrates diminuent la progression des lésions athéromateuses et de leurs conséquences cliniques, même en l'absence d'une diminution du taux de LDL (VA-HIT, Rubins et coll., 1999). En plus de leur localisation dans les cellules vasculaires et immunes, PPAR α et PPAR γ sont tous deux présents dans la plaque d'athérosclérose, au niveau sous- endothélial et dans le noyau lipidique et semblent être les deux isoformes les plus impliquées dans le processus athérosclérotique. Cependant, Puddu et ses collaborateurs (2003) suggèrent que les PPAR β/δ pourraient également jouer un rôle *via* la modulation de la prolifération des cellules musculaires lisses vasculaires.

De façon schématique, l'influence des PPARs sur le processus athérosclérotique se manifeste à plusieurs niveaux (Duval et coll., 2002) :

❖ Métabolisme lipidique

Le rôle de l'hypercholestérolémie et des dyslipidémies en général est maintenant reconnu comme majeur dans le développement de l'athérosclérose. Or nous avons vu que les PPARs, et plus particulièrement PPAR α , procurent un bénéfice global sur le métabolisme général des lipoprotéines en contrôlant leurs concentrations plasmatiques et leur composition.

Cependant, plusieurs études menées chez l'Homme et l'animal (Minamikawa et coll., 1998 ; Rubins et coll., 1999 ; Li et coll., 2000) montrent que le traitement par les fibrates ou par les glitazones diminue la progression des lésions athéromateuses même en l'absence de modulation majeure des niveaux de lipides plasmatiques.

❖ Différenciation cellulaire et apoptose

PPAR γ diminue l'expression du récepteur membranaire de la chemokine MCP-1 (Monocyte Chemoattractant Protein-1) qui active normalement le recrutement au niveau tissulaire des monocytes circulants. Par ailleurs, le traitement des macrophages par des agonistes de PPAR α et PPAR γ induit l'apoptose de ces cellules. Cet effet, qui pourrait être dû à l'inactivation de la voie de NF- κ B, est susceptible de prévenir la formation de cellules spumeuses (Lestavel et coll., 2001).

❖ Formation des cellules spumeuses

Ni l'activation de PPAR α , ni celle de PPAR γ n'induisent la formation de cellules spumeuses (Moore et coll., 2001). Plusieurs explications sont possibles. Entre autres, les ligands de PPAR γ diminuent l'expression de récepteurs des LDL oxydés, tels que le récepteur scavenger CD36 (Chawla et coll., 2001), le récepteur scavenger de type A ou le récepteur LOX-1 (Mehta et coll., 2003). De plus, les ligands de PPAR α et de PPAR γ augmentent l'expression du récepteur des HDL. Ceci favoriserait la sortie du cholestérol hors du macrophage par un mécanisme d'efflux et son transfert vers les HDL, permettant ainsi son transport vers le foie où il est ensuite catabolisé.

❖ Prolifération cellulaire

L'activation de PPAR γ diminue la prolifération des cellules musculaires lisses vasculaires (Marx et coll., 1998 ; Hsueh et Law, 1998), ainsi que leur migration (Hsueh et Law, 2001) dans des modèles athérosclérotiques.

❖ Processus inflammatoire

Dans les cellules endothéliales, les cellules musculaires lisses vasculaires et les monocytes/macrophages, l'activation des PPARs diminue l'expression de protéines de

l'inflammation vasculaire (cytokines, chemokines, molécules d'adhésion endothéliales) (Tham et coll., 2003). Selon Delerive et ses collaborateurs (1999b), cette propriété anti-inflammatoire des PPARs au niveau vasculaire serait également due à une trans-répression sur les voies de NF- κ B et de AP-1

❖ Thrombose et rupture de la plaque

Les effets des agonistes des PPARs sur la stabilité de la plaque d'athérome sont encore mal élucidés. En effet, en favorisant l'apoptose des macrophages, ils pourraient jouer un rôle potentiellement néfaste en fragilisant la plaque et en favorisant sa rupture (Mallat et Tedgui, 2002). Par ailleurs, les agonistes des PPARs sont aussi susceptibles d'influer sur la survenue de thrombose, événement tardif de l'athérosclérose dû à l'érosion ou à la rupture de la plaque d'athérome, et le développement d'un état pro-coagulant par induction de facteurs tissulaires qui participent à l'élaboration du caillot sanguin (Duval et coll., 2002).

En revanche, d'autres effets semblent protecteurs, tels que la diminution de l'expression de la métalloprotéinase MMP-9, enzyme sécrétée par les macrophages en situation inflammatoire et qui dégrade la MEC, ce qui entraîne un risque important de rupture de plaque d'athérome (Marx et coll., 1998). L'inhibition de son expression pourrait donc avoir un rôle bénéfique en stabilisant la plaque d'athérome.

❖ En conclusion

Dans le cas de l'athérosclérose, les PPARs agissent *via* la régulation de l'expression d'un récepteur (métabolisme lipidique, infiltration macrophagique) ou non (processus inflammatoire) (Chawla et coll., 2001). Ainsi, par leurs multiples effets bénéfiques à différentes étapes du processus athérosclérotique, les PPARs semblent être une cible pharmacologique prometteuse pour le traitement de l'athérosclérose (Molavi et coll., 2002). Des études cliniques spécifiques aux effets des ligands des PPARs dans cette pathologie restent cependant encore nécessaires pour affirmer l'efficacité et la sécurité de ce concept thérapeutique.

II.3.3 – Autres effets cardiovasculaires des PPARS

Depuis que la présence des PPARs a été retrouvée dans les cellules du système cardiovasculaire (Bishop-Bailey, 2000), de très nombreuses études ont cherché à élucider les mécanismes cellulaires et moléculaires dépendant de la voie des PPARs et ayant des effets sur le cœur et les vaisseaux. Ainsi, outre leurs propriétés anti-inflammatoires que nous avons déjà vues, de nombreuses propriétés des PPARs ont été rapportées (pour revue, voir Schiffrin et coll., 2003).

❖ Effets sur le stress oxydant

Les PPARs, *via* l'activation par leurs ligands, préviennent le stress oxydatif vasculaire en augmentant d'une part la production et la disponibilité du monoxyde d'azote (NO), et ceci tant pour l'isoforme α (Diep et coll., 2002) que pour l'isoforme γ (Dobrian et coll., 2004). D'autre part, l'effet anti-oxydant se manifeste également par l'inhibition de la production de radicaux superoxydes intracellulaires par PPAR γ (Mehta et coll., 2003 ; Iglarz et coll., 2003).

❖ Effets sur la prolifération cellulaire et la fibrose

Comme cela a déjà été mis en évidence dans le cadre de l'athérosclérose, les TZD semblent posséder des propriétés anti-prolifératives à l'égard des cellules musculaires lisses vasculaires (Yoshimoto et coll., 1999). Minamikawa et ses collaborateurs (1998) ont montré que le traitement par TZD diminuait l'épaisseur de la paroi carotidienne (intima + média) chez des patients souffrant de diabète de type II.

Par ailleurs, plusieurs études avaient déjà montré les effets anti-fibrotiques de l'activation de PPAR γ par les TZD au niveau rénal (Routh et coll., 2002) et hépatique (Galli et coll., 2002). Ishibashi et ses collaborateurs (2002) rapportent le même effet dans un modèle murin d'inflammation vasculaire.

❖ Effets sur la fonction endothéliale

L'activation des PPARs semble pouvoir corriger certaines dysfonctions endothéliales. Par exemple, Kato et ses collaborateurs (1999) ont montré que l'activation des PPAR γ par les TZD diminue l'expression de l'activateur de plasminogène de type 1 et suggèrent une

amélioration potentielle de la fonction endothéliale dans des cas d'insulino-résistance. De même, l'activation des PPAR α par les fibrates corrige les dysfonctions endothéliales dans un modèle d'hyperhomocystéinémie (Sood et coll., 2003). Par ailleurs, l'apoptose des cellules endothéliales passerait par la voie des PPARs (Inoue et coll., 2003).

❖ Effets sur la pression artérielle et le tonus des cellules musculaires lisses

Barroso et ses collaborateurs (1999) ont montré qu'une mutation sur le gène de PPAR γ pouvait être responsable, notamment, de l'apparition d'une hypertension. D'autres études semblent également corroborer l'hypothèse que la voie des PPARs pourrait influencer la pression artérielle en suggérant plusieurs mécanismes d'action. Dobrian et ses collaborateurs (2004) suggèrent que l'activation de PPAR γ par la pioglitazone chez des rats hypertendus pourrait corriger cette hypertension *via* une libération de NO. Par ailleurs, les TZD favoriseraient la libération du peptide natriurétique C aux propriétés vasodilatatrices (Fukunaga et coll., 2001) au détriment de l'endothéline-1, vasoconstrictrice (Delerive et coll., 1999a). PPAR γ empêcherait également les effets vasoconstricteurs de l'angiotensine II (Schiffrin et coll., 2003). Il semblerait donc plausible que l'action des PPARs sur le niveau de pression artérielle se fasse *via* une modulation du tonus des cellules musculaires lisses.

Quelques auteurs ont également suggéré que l'activation de PPAR γ permettrait une diminution de la pression artérielle grâce au blocage des canaux calciques dans les cellules musculaires lisses (Buchanan et coll., 1995 ; Nakamura et coll., 1998).

II.4 – PERSPECTIVES THERAPEUTIQUES DES PPARS

La découverte récente des effets pléiotropiques des PPARs et les résultats prometteurs obtenus avec leurs ligands, notamment les TZD, ont conduit la recherche pharmaceutique à développer de nouvelles stratégies thérapeutiques. En effet, une modulation plus pointue de l'activation des PPARs, permettant d'en dissocier les effets en fonction des gènes cibles activés, ou, à l'inverse, l'activation conjointe des PPAR γ et des PPAR α , sont des concepts thérapeutiques dignes d'intérêt.

II.4.1 - Les modulateurs spécifiques de PPARs : les SPPARMs

Camp et ses collaborateurs (2000) ont suggéré que les TZD seraient des agonistes sélectifs et ne se comporteraient pas de façon identique vis-à-vis du récepteur PPAR γ . Ainsi, il existerait une catégorie de gènes communs, régulés de manière identique par chaque TZD, et une catégorie de gènes régulés différemment par certaines TZD.

Pour expliquer ceci, Duran-Sandoval et ses collaborateurs (2003) suggèrent l'hypothèse suivante : chaque TZD ayant une affinité différente pour le site de liaison aux ligands sur PPAR γ , ceci entraînerait une conformation tridimensionnelle du complexe PPAR γ -TZD variable selon chaque molécule. Ces différentes conformations pourraient aboutir au recrutement de co-facteurs distincts et, par conséquent, entraîner une régulation transcriptionnelle particulière pour chaque complexe.

Ainsi, différents ligands peuvent, *via* un même récepteur nucléaire, induire des réponses biologiques communes mais aussi des réponses biologiques qui leur sont spécifiques (Figure 14). Ce phénomène est à la base du concept de modulateurs spécifiques de PPAR ou SPPARM (selective PPAR modulator), par analogie avec le concept des SERM (selective oestrogen receptor modulator), développé à partir des ligands du récepteur aux oestrogènes (Sporn et coll., 2001).

L'objectif de ces SPPARMs, synthétisés grâce à une analyse plus poussée des relations structures-activité entre le récepteur PPAR, son ligand et ses co-activateurs ou co-répresseurs, est de dissocier les effets bénéfiques des effets indésirables des PPARs. Par exemple, les SPPARMs de PPAR γ pourraient permettre de dissocier l'effet sur la

différentiation adipocytaire de l'effet sur le métabolisme du glucose (Duran-Sandoval et coll., 2003), ou pourraient être une alternative intéressante pour la chimioprophylaxie ou la chimiothérapie de la carcinogenèse (Sporn et coll., 2001).

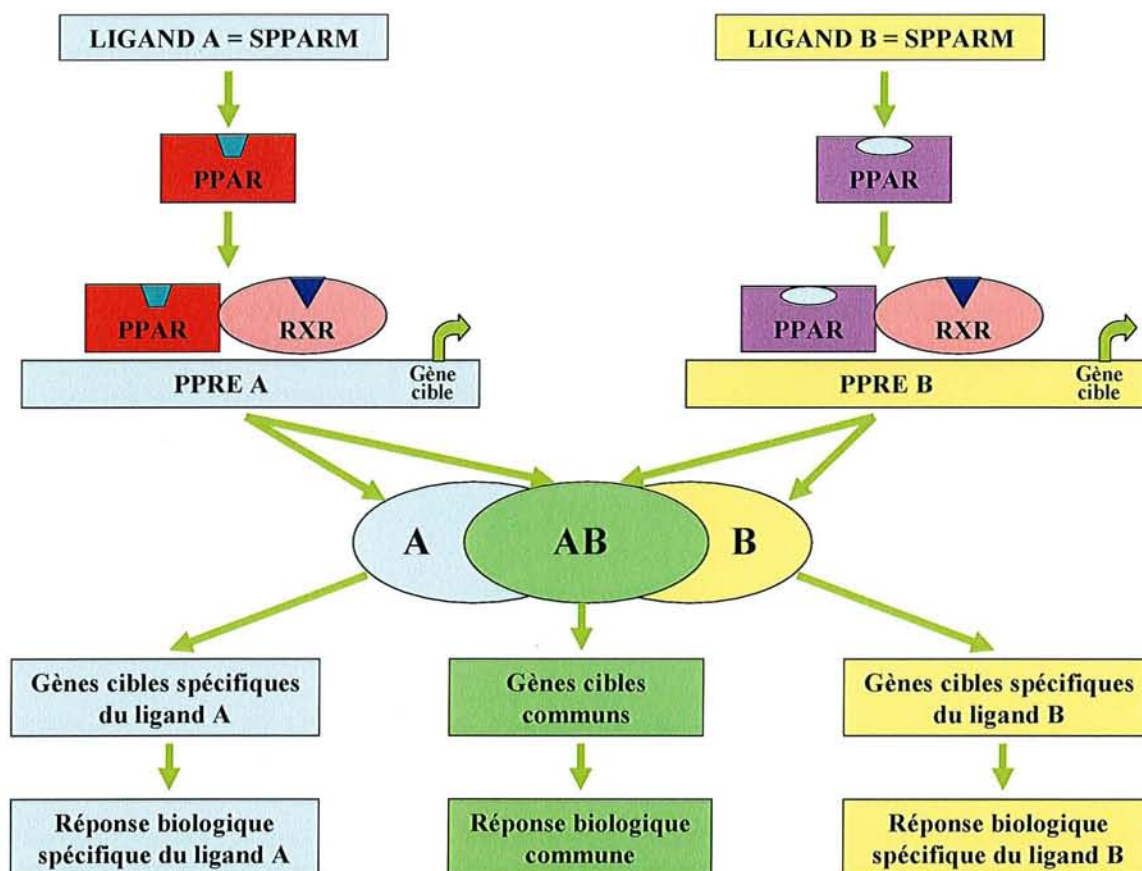


Figure 14 : Mécanisme d'action des modulateurs spécifiques de PPARs ou SPPARMs (d'après Duran-Sandoval et coll., 2003).

II.4.2. - Les co-agonistes PPAR α / γ : les glitazars

Etant donné que les effets des TZD sur le profil lipidique du patient diabétique sont insuffisants, l'activation conjointe des PPAR α et des PPAR γ pourrait être une alternative intéressante permettant d'obtenir des effets complémentaires et synergiques. Ainsi, une nouvelle famille de molécules a été développée : les co-agonistes PPAR α / γ ou glitazars (Duran-Sandoval et coll., 2003 ; Figure 15). D'une part, les glitazars ont des effets bénéfiques sur le métabolisme des lipides, *via* l'activation des PPAR α , et d'autre part, ces molécules améliorent la sensibilité à l'insuline et l'utilisation du glucose, *via* l'activation de PPAR γ .

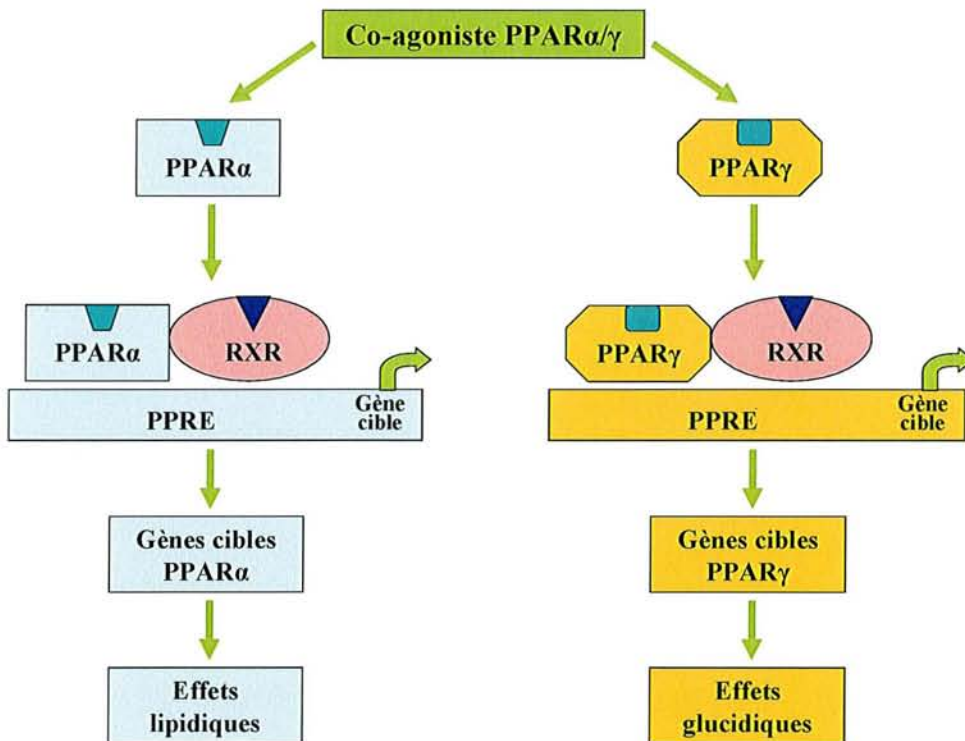


Figure 15 : Mécanisme d'action des glitazars ou co-agonistes PPAR α / γ (d'après Duran-Sandoval et coll., 2003).

Actuellement, une dizaine de glitazars sont en cours de développement (études précliniques jusqu'à essais de phase III) pour le traitement du diabète de type II. Les études actuellement en cours devraient permettre d'évaluer le bénéfice réel de cette nouvelle famille de molécules, potentiellement plus efficace que les TZD pour la prévention du risque cardiovasculaire chez le diabétique de type II.

ETUDE
EXPERIMENTALE

I – HYPOTHESE DE TRAVAIL

Depuis une quinzaine d'années, les travaux de l'équipe EA3448 "Physiopathologie et Pharmacologie du Vieillissement Cardiovasculaire", dirigée par le Professeur J. Atkinson ont permis de développer un modèle murin d'élastocalcinose, le rat VDN, et d'en étudier les caractéristiques en tant que modèle animal de MVR. Le rat VDN, rat traité par hypervitaminose D + nicotine, se caractérise par un dépôt de calcium sur les lames élastiques médiales proches de la lumière, conduisant à leur destruction (phénomène d'élastocalcinose) (Niederhoffer et coll., 1997a). Il s'ensuit une rigidité de la paroi aortique avec augmentation de la VOP et du ME. La perte des fonctions d'amortissement de la paroi aortique est responsable d'une élévation de la PP aortique et de la PAS dont les conséquences sont l'apparition d'une HVG (Niederhoffer et coll., 1997b ; Lartaud-Idjouadiene et coll., 1999).

Cependant, même si à l'instar du vieillissement humain, le modèle VDN se caractérise par une calcification intense de la paroi aortique associée à une dégradation importante de l'état du réseau élastique, les mécanismes physiopathologiques conduisant à cet état ne sont encore pas complètement élucidés à ce jour. De plus, aucun traitement anti-artériosclérotique spécifique de la MVR n'existe à ce jour.

Au cours de ce travail de thèse, nous avons choisi d'explorer une nouvelle cible pharmacologique, les PPAR γ (récepteurs nucléaires activés par les proliférateurs de peroxyosomes de type γ), comme modulateurs du processus inflammatoire (Jiang et coll., 1998 ; Ricote et coll., 1998a ; Chinetti et coll., 2003). Deux observations récentes ont motivé ce choix. D'une part, plusieurs études cliniques ont mis en évidence un lien entre pathologies inflammatoires chroniques et augmentation de la rigidité artérielle chez les patients (Wong et coll., 2003 ; Selzer et coll., 2001 ; Booth et coll., 2004). D'autre part, les TZD, ligands synthétiques des PPAR γ utilisés dans le traitement du diabète de type II, ont un effet bénéfique dans d'autres pathologies vasculaires (athérome), *via* une modulation de la réponse inflammatoire de la paroi (Ricote et coll., 1998b ; Duval et coll., 2002 ; Puddu et coll., 2003).

Ces différents éléments nous conduisent à émettre l'hypothèse d'une participation d'un processus inflammatoire dans la MVR et d'une implication des PPAR γ dans la modulation de ce processus. Pour vérifier cette hypothèse, 2 approches sont alors possibles :

(1) étudier la MVR dans un modèle d'inflammation chronique (par exemple, induction de polyarthrite chez le rat de souche Lewis, plus sensible au processus inflammatoire, Hedrich, 2000) ;

(2) étudier l'inflammation et les PPAR γ dans un modèle de MVR.

Nous avons choisi (au moins dans un premier temps) cette dernière approche et utilisé le modèle VDN comme modèle de MVR.

Notre hypothèse de travail est que le traitement par un ligand activateur spécifique de PPAR γ (pioglitazone, Gillies et Dunn, 2000) aura un effet bénéfique sur la MVR du rat VDN (effet anti-calcinotique ou autre), ainsi que des effets bénéfiques sur le système cardiovasculaire (diminution de la rigidité pariétale aortique donc diminution de la pulsatilité, d'où diminution de l'HVG).

Dans cette étude, nous mesurerons un indice de la rigidité intrinsèque de la paroi aortique, le rapport module élastique/contrainte pariétale (ME/CP, Marque et coll., 1999 ; Cantini et coll., 2001), ainsi que ses conséquences pathologiques que sont l'augmentation de PP et l'HVG, ses déterminants (contrainte et composition pariétales) et l'activation et/ou la synthèse des PPAR γ dans la paroi aortique.

Afin d'évaluer l'impact préventif ou curatif de la pioglitazone sur ces différents éléments, le traitement par la pioglitazone sera initié soit immédiatement après le traitement VDN (au moment de la mise en place de l'élastocalcinose) soit 2 semaines plus tard (au moment où élastocalcinose et rigidité sont installées, Thorin et coll., 1990 ; Henrion et coll., 1991b ; Kieffer et coll., 2000). De plus, nous vérifierons si l'effet bénéfique de la pioglitazone sur la rigidité artérielle est dû à un effet aigu, fonctionnel, ou à un effet chronique, structurel, sur la paroi aortique.

Nous analyserons donc l'impact de 3 facteurs : le traitement VDN, le traitement par la pioglitazone et la durée du traitement par la pioglitazone. Cette étude sera une approche faisant appel à des techniques allant de la biologie moléculaire à la physiopathologie et à la pharmacologie intégrées.

II - MATERIEL ET METHODES

II.1 - ANIMAUX ET TRAITEMENTS

Les expérimentations sont réalisées chez des rats Wistar mâles non consanguins (Ico : Wi, IOPS AF/HAN ; Charles River France, L'Arbresle, France), âgés de 7 semaines à leur arrivée. Avant répartition dans les groupes expérimentaux, les rats sont maintenus une semaine à l'animalerie dans des conditions standards : alternance lumière/obscurité selon un cycle de 12 heures (6h00 / 18h00), température de $21 \pm 1^\circ\text{C}$ et humidité relative de 60%. Les rats ont un libre accès à la boisson (eau adoucie, système d'osmose inverse, Culligan[®], Bruxelles, Belgique) et à la nourriture (AO4, UAR, Epinay-sur-Orge, France). Leurs consommations, ainsi que leur poids, sont déterminés 2 fois par semaine.

Les expérimentations sont effectuées en accord avec l'arrêté du 19 avril 1988 du Ministère de l'Agriculture, de l'Alimentation, de la Pêche et des Affaires Rurales, Paris (permis n° 54-5, Dr I. Lartaud ; permis n°03575, Pr J. Atkinson).

II.1.1 - Traitement VDN : induction de l'élastocalcinose aortique

Une semaine après leur arrivée, les rats sont séparés en 8 sous-groupes (Figure 14) par randomisation hiérarchisée sur le poids corporel (224 ± 2 g, $n = 66$) au jour 0 (J_0) :

➤ **4 sous-groupes "VDN"** ($n = 36$) reçoivent à 9h00 une injection intra-musculaire de vitamine D₃ (300 000 UI/kg sous un volume de 1 mL/kg ; Duphafral[®] D₃ 1000, Fort Dodge Santé Animale, Tours, France) et une administration orale de nicotine (25 mg/kg sous un volume de 5 mL/kg ; Sigma Chemical Compagny, St Louis, MO, USA). L'administration de nicotine est répétée à 18h00 le même jour.

Ce traitement induit une hypercalcémie dans les six premiers jours et une mortalité de l'ordre de 10% : dans cette étude, trois rats sont morts entre J_1 et J_6 (8%). A partir de J_6 , la calcémie retrouve une valeur normale alors que le taux de calcium tissulaire augmente dans les artères de compliance (Henrion et coll., 1991b ; Kieffer et coll., 2000).

➤ **4 sous-groupes "Non-VDN"** ($n = 30$) reçoivent une injection intra-musculaire d'EPPI (1 mL/kg, Eau Pour Préparations Injectables, Laboratoire Aguetant, Lyon, France) et deux administrations orales d'eau adoucie (5 mL/kg).

II.1.2 – Traitement chronique par la pioglitazone

Le traitement par la pioglitazone (Pio) ou son solvant débute à partir de J₁ (durée J₁-J₄₄) ou de J₁₅ (durée J₁₅-J₄₄) (Figure 16).

Les rats "Pio+" reçoivent chaque jour en milieu de journée par administration orale 3 mg/kg/jour de pioglitazone sous un volume de 6 mL/kg (Yoshimoto et coll., 1999). Une suspension à 0,5 mg/mL est obtenue en mélangeant la pioglitazone (don des Laboratoires Takeda, Yamaguchi, Japon) à une solution à 0,5% de CarboxyMéthylCellulose (CMC, Sigma). La suspension est réalisée 2 à 3 fois par semaine et conservée à 4°C (selon les données de solubilité et de stabilité fournies par les Laboratoires Takeda : "Chemistry of Pioglitazone", fiche n° A-35-564, Pharmaceutical Research Division).

Les rats "Pio-" reçoivent chaque jour par administration orale une solution à 0,5% de CMC sous un volume de 6 mL/kg.

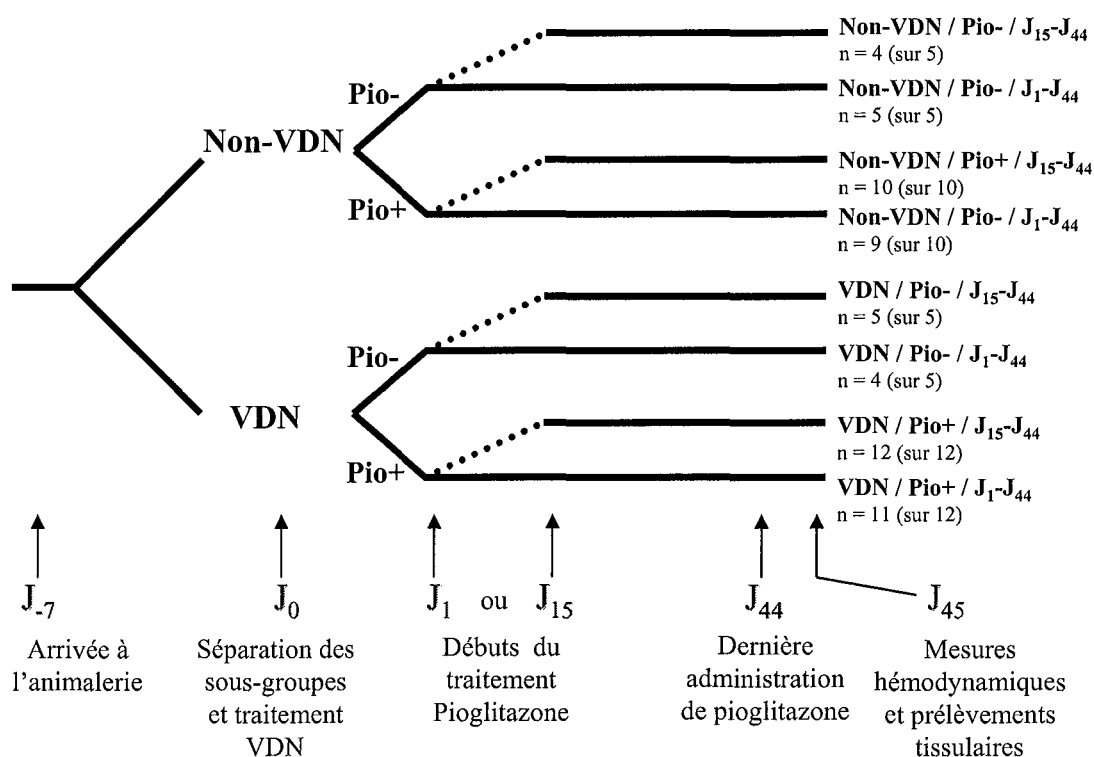


Figure 16 : Représentation schématique et chronologique du protocole des traitements aigu (VDN : vitamine D₃, 300 000 UI/kg + nicotine, 2 fois 25 mg/kg) et chronique (Pio : 3 mg/kg/j, de J₁ à J₄₄ ou de J₁₅ à J₄₄) et effectif par groupe. Sur le nombre de rats initialement inclus dans les groupes de traitement et indiqué entre parenthèses, 3 sont décédés entre J₀ et J₆ suite au traitement VDN et 3 sont décédés pendant l'implantation des cathéters.

II.1.3 - Traitement aigu par la pioglitazone

Afin d'évaluer l'effet aigu de la pioglitazone, nous avons réalisé parallèlement une étude sur 22 rats (12 VDN et 10 Non-VDN), recevant le traitement VDN à J₀. A J₄₅, les rats reçoivent un unique gavage de Pio (3 mg/kg) ou de CMC à midi. Les mesures hémodynamiques sont effectuées deux heures plus tard.

Une étude préliminaire en chromatographie liquide à haute performance suivie d'une détection UV, faite sur le plasma de quatre rats mâles Wistar ayant reçu 3 mg/kg de Pio, avait en effet montré que le pic de concentration plasmatique de la Pio se situait 2 heures après l'administration orale (résultats non montrés).

II.2 - MESURES HEMODYNAMIQUES

II.2.1 - Implantation de cathéters artériels et veineux

Pour les rats recevant le traitement Pio chronique ou son solvant, les mesures hémodynamiques sont effectuées à J₄₅, 24h après la dernière administration de pioglitazone ou de CMC.

Le rat est anesthésié par inhalation d'halothane (4% dans O₂ v/v, Laboratoires Belamont, Neuilly-sur-Seine, France) puis par injection intrapéritonéale de pentobarbital sodique (60 mg/kg, Sanofi Santé Nutrition Animale, Libourne, France). L'animal anesthésié est maintenu en décubitus dorsal sur une plaque chauffante à 37°C, thermorégulée sur sa température rectale.

Une trachéotomie est réalisée et un cathéter (portion extravasculaire en polyéthylène, diamètre interne/externe 0,58/0,96 mm, Portex S.A., Berck sur Mer, France et portion intravasculaire en silicone, diamètre interne/externe 0,635/1,19 mm, Sedat, Irigny, France) est placé dans la veine fémorale droite pour permettre l'injection de pentobarbital sodique (20 mg/kg/h sous un volume de 250 µL/h) afin de maintenir l'anesthésie (le maintien de l'anesthésie est vérifié par l'absence de variations de la fréquence cardiaque et de la PAM centrale suite à un pincement interdigital) pendant toute la durée des mesures.

Un cathéter en polyéthylène (0,58/0,96 mm, longueur extravasculaire 15 cm) est introduit sur une longueur de 3 cm, *via* l'artère carotide gauche, dans l'aorte thoracique

descendante jusqu'à 2 mm en aval de l'embouchure de l'artère carotide commune (cathéter aortique central, Figure 17) pour la mesure des pressions aortiques centrales.

Un second cathéter identique est placé dans l'aorte abdominale *via* l'artère fémorale gauche sur une longueur de 4 cm (jusqu'à 3 mm en amont de la bifurcation iliaque, cathéter aortique périphérique, Figure 17) pour la détermination des pressions aortiques périphériques. Les cathéters sont remplis de liquide physiologique dégazé et hépariné (NaCl 0,9 % p/v, Sigma, plus 5 UI/mL d'héparine, Sanofi Winthrop, Gentilly, France).

II.2.2 - Mesure des paramètres hémodynamiques de base

Les cathéters central et périphérique sont reliés à un capteur de pression de faible volume (Baxter, Bentley Laboratories Europe, Uden, Pays-Bas) par l'intermédiaire d'un cathéter en polyéthylène (0,58/0,96 mm, longueur 10 cm).

Après une période de stabilisation de 30 minutes, les signaux de pression sont amplifiés, convertis sous forme digitale et enregistrés à une fréquence d'acquisition de 256 Hz, par périodes de 4 secondes, soit 25 battements cardiaques. Pour chaque battement cardiaque, un algorithme détecte et moyenne les valeurs (mmHg) de PAD, PAS et PAM, centrales et périphériques.

La PAD est définie par le pied de l'onde (intersection des prolongements des pentes des régressions linéaires de la courbe de décroissance diastolique et de la courbe de montée systolique suivante, voir Milnor, 1989, page 233).

La PAM est définie par l'aire sous la courbe des signaux.

La PP est calculée comme (PAS - PAD).

La fréquence cardiaque est définie par le nombre de pics systoliques par minute (battements par minute, bpm), calculé à partir du signal de pression aortique central.

II.2.3 - Mesure de la vitesse de transmission de l'onde de pouls

La VOP (cm/s) entre les cathéters artériels central et périphérique est déterminée comme le rapport de la distance (Δl , cm) séparant l'extrémité des 2 cathéters par le temps nécessaire à l'onde de pouls pour parcourir cette distance (Δt , s) :

$$VOP = \Delta l / \Delta t$$

La distance est mesurée directement sur l'aorte lors de la dissection *post-mortem* du rat grâce à un fil de coton mouillé accolé *in situ* sur l'aorte, de l'extrémité du cathéter implanté au niveau central jusqu'à l'extrémité du cathéter situé au niveau périphérique. La distance n'est pas significativement différente entre les groupes ($\Delta l = 8,3 \pm 0,1$ cm ou $\Delta l = 21,7 \pm 0,4$ cm/kg, $n = 60$, $P > 0,05$).

Le délai nécessaire à l'onde de pouls pour parcourir cette distance est calculé comme le temps séparant le pied de l'onde systolique de pression aortique centrale du pied de l'onde systolique de pression aortique périphérique. Plus l'arbre artériel est rigide, plus l'onde de pouls va se propager rapidement le long de l'aorte.

La détermination exacte de Δt est conditionnée par les propriétés physiques du système de mesure des pressions artérielles (cathéters + capteur Baxter®, remplis de sérum physiologique dégazé). La réponse en fréquence de ce système a été évaluée en comparaison avec celle de capteurs Millar® (Millar Mikro-Tip, 0,67 mm, SPR-407, Millar Instruments, Houston, TX, USA) en utilisant un générateur d'ondes sinusoïdales (méthode décrite par Vierhout et Vendrick en 1961, voir Milnor, 1989, page 314), dans une chambre thermorégulée. Les variations d'amplitude et le déphasage ont été mesurés jusqu'à 30 Hz par 3 séries de mesures indépendantes dont les valeurs ont été moyennées (Niederhoffer et coll., 1997b). Trente Hz correspondent à 5 fois la fréquence de l'harmonique fondamentale du signal de pression chez le rat (entre 6 et 7 Hz) ; or, les 5 premières harmoniques contiennent au moins 90% de l'énergie du signal (Milnor, 1989, page 350). Le système de mesure (cathéters + capteur Baxter® + sérum physiologique dégazé) surestime légèrement la pression, mais les variations d'amplitude restent minimales (<10%) par rapport aux valeurs de référence (capteurs Millar®), et le déphasage reste inférieur à 10° jusqu'à 30 Hz (Niederhoffer et coll., 1997b), ce qui rend compte de la fidélité de ce système (Duvivier et coll., 1986).

Par ailleurs, dans une étude préliminaire sur cinq rats mâles Wistar anesthésiés, il a été montré que les valeurs de Δt et donc de VOP obtenues à partir de cathéters en polyéthylène ne sont pas significativement différentes de celles obtenues ensuite chez les mêmes rats à partir de capteurs Millar® ($VOP_{\text{Polyéthylène}} = 598 \pm 99 \text{ cm/s}$; $VOP_{\text{Millar®}} = 573 \pm 53 \text{ cm/s}$).

Finalement, l'étude de reproductibilité de la méthode de détermination de Δt , réalisée chez cinq rats mâles Wistar anesthésiés en conditions isobariques, donne des coefficients de variation inférieurs à 2% (Tatchum-Talom et coll., 1995).

II.3 - PRELEVEMENT DU CŒUR ET DE L'AORTE

A la fin des mesures hémodynamiques, 1 mL de sang artériel est prélevé pour le dosage du glucose plasmatique par la méthode de la glucose oxydase (en collaboration avec le service de Biochimie, Hôpital Central, Nancy).

Le rat est ensuite sacrifié par administration i.v. d'un bolus (100 mg/kg) de pentobarbital. Le thorax est ouvert et la partie ascendante de la crosse aortique (étude immunohistochimique de la protéine PPAR γ , segment 1, Figure 15) est prélevée durant les derniers battements cardiaques afin de limiter la destruction des cellules par l'ischémie. Elle est immergée dans du PBS à 4°C (Phosphate Buffered Saline, Sigma), débarrassée des tissus conjonctifs adjacents, puis plongée dans un liquide d'inclusion cryogénique (Leica, Nussloch, Allemagne) et conservée à -80°C .

Le cœur est prélevé, le ventricule gauche est séparé en conservant le septum puis pesé (VG, g). Le rapport (poids du VG + septum/poids corporel à J₄₅, VG/PC, g/kg) est calculé et utilisé comme indice d'HVG.

L'aorte thoracique descendante est prélevée, débarrassée des tissus conjonctifs adjacents et découpée en 4 segments de 1 cm (Figure 17).

Le segment 2 (étude histomorphométrique : diamètre interne, épaisseur médiale et état du réseau élastique) est fixé par immersion dans une solution de formaldéhyde (10% dans du PBS, Sigma) pendant 5 jours à température ambiante.

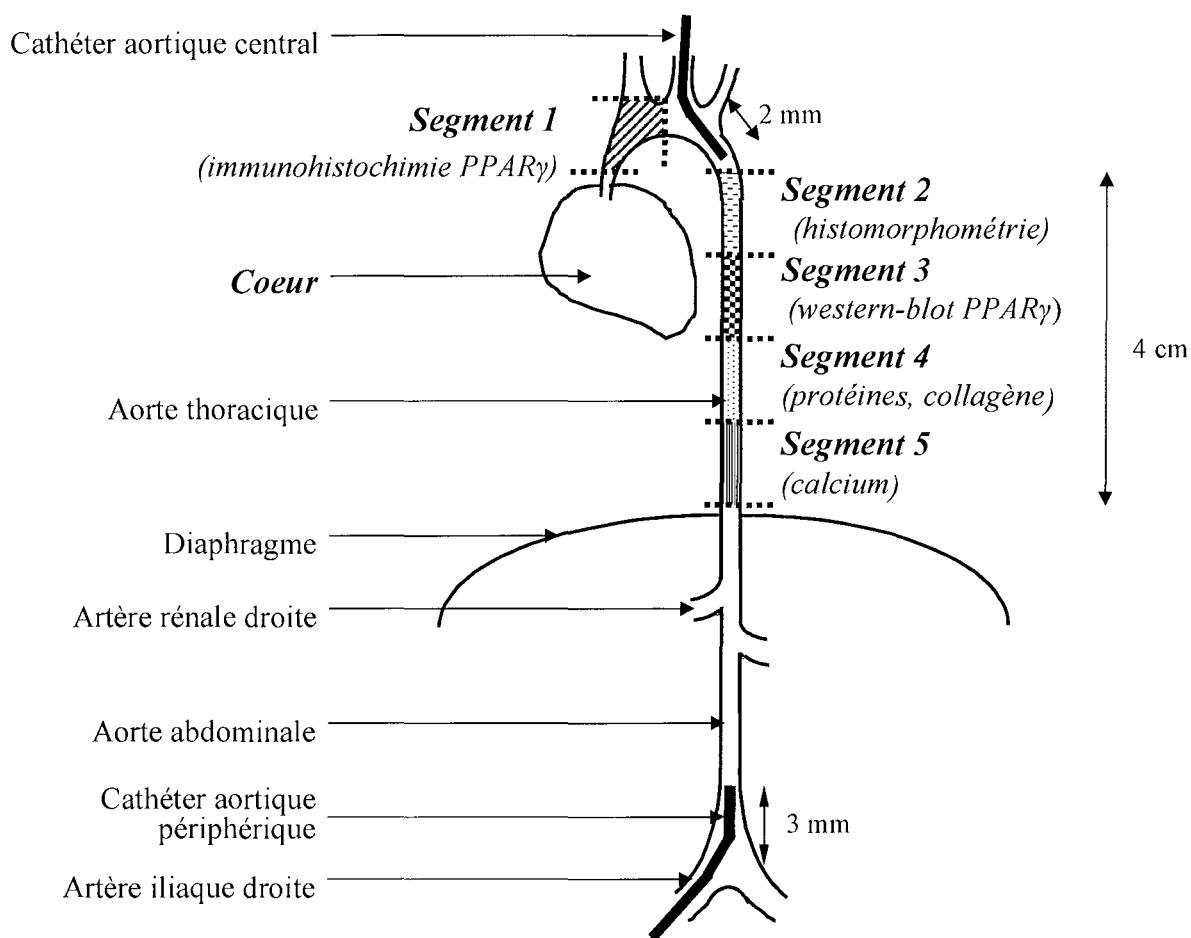


Figure 17 : Schéma de l'aorte avec l'emplacement des cathéters et des segments prélevés pour les analyses histologiques et biochimiques.

Le segment 3 (Western-Blot de la protéine PPAR γ) et le segment 4 (dosage des taux de protéines totales et de collagène) sont conservés à -80°C .

Le segment 5 est pesé (poids frais, PF, mg) et placé à l'étuve à 110°C pendant plusieurs semaines jusqu'à poids sec (PS, mg) constant. La masse sèche est calculée comme le rapport (poids sec/poids frais, PS/PF, %) et permet d'évaluer un éventuel œdème. Le tissu sec est utilisé pour le dosage du taux de calcium total.

Les différents paramètres histomorphométriques et biochimiques sont représentatifs de l'ensemble de l'aorte thoracique, quelle que soit la position du segment. En effet, le rapport épaisseur médiale/diamètre interne et les taux de protéines, de collagène et de calcium ne varient pas le long de l'aorte thoracique descendante (Niederhoffer et coll., 1997a).

II.4 - IMMUNOHISTOCHEMIE PPAR γ

La procédure expérimentale de mise en évidence des protéines PPAR γ par immunohistochimie a été décrite par Huin et coll. (2000) ; nous l'avons adaptée à des coupes aortiques pour la présente étude (Figure 18) en collaboration avec le Dr H. Schohn, EA 3446 "Proliférateurs de Peroxysomes", Faculté des Sciences et Techniques, UHP Nancy I.

En résumé, des coupes d'aorte de 3 μ m (segment 1, Figure 17) sont réalisées au cryostat et fixées dans une solution formolée. Après lavages, les coupes sont mises en présence d'une solution d'anticorps anti-PPAR γ , obtenus après immunisation chez le lapin (fournis par le Pr M. Dauça, EA 3446 "Proliférateurs de Peroxysomes", Faculté des Sciences et Techniques, UHP Nancy I). Plusieurs dilutions ont été testées (1:50, 1:100, 1:200, 1:400 et 1:800) pour vérifier l'extinction du signal, caractéristique de la spécificité du marquage.

Après lavages, les coupes sont incubées en présence d'une solution d'anticorps anti-Ig G de lapin conjugués au FITC (dilution 1:50, Biomeda, Foster City, CA, USA).

Après lavages et montage avec une solution révélatrice de fluorescence (Citifluor, Citifluor Ltd, Londres, Royaume-Uni), les lames sont observées au microscope sous UV (Polyvar, Vienne, Autriche) avec lecture par 2 expérimentateurs indépendants, en aveugle, avec l'aide du Dr H. Schohn, afin de localiser la fluorescence due aux PPAR γ .

L'analyse porte sur la portion de média la plus proche de la lumière du vaisseau (zone regroupant les 3 lames élastiques les plus internes, où se dépose préférentiellement le calcium dans le modèle VDN, Henrion et coll., 1991b ; Niederhoffer et coll., 1997a).

Deux paramètres sont analysés : la présence d'une fluorescence cytoplasmique et la présence d'une fluorescence nucléaire (les noyaux sont mis en évidence par une coloration rouge en présence de bromure d'éthidium permettant leur dénombrement).

Différents grades sont attribués :

- 0 : absence de marquage.
- 1 : marquage fluorescent dans 0 à 25% des cellules.
- 2 : marquage fluorescent dans 25 à 50% des cellules.
- 3 : marquage fluorescent dans 50 à 75% des cellules.
- 4 : marquage fluorescent dans 75 à 100% des cellules.

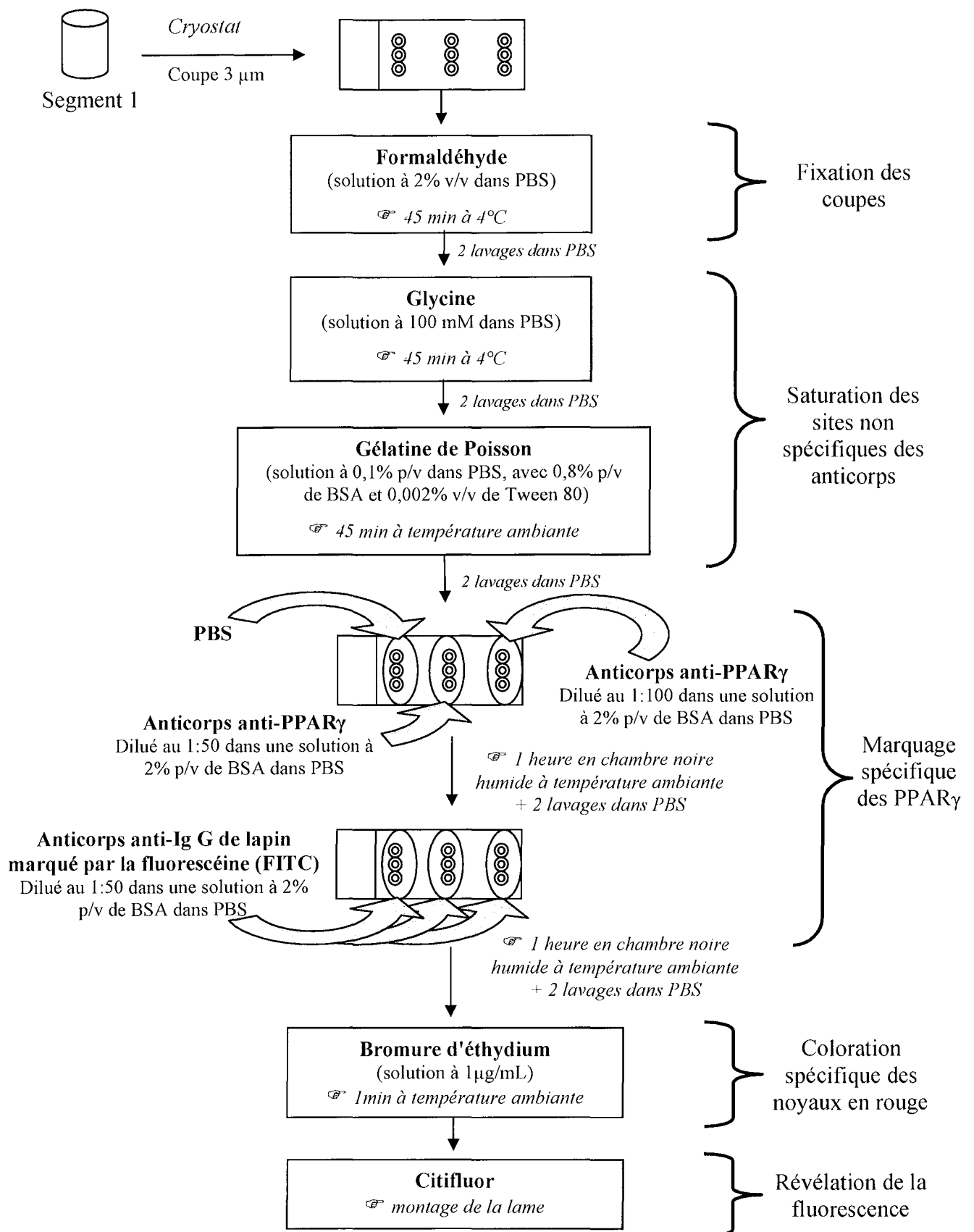


Figure 18 : Procédure expérimentale de mise en évidence de la protéine PPAR γ par immunohistochimie au niveau de coupes aortiques (si non précisé dans le texte, les produits proviennent de chez Sigma).

Les coupes d'aortes de rats issus des quatre groupes suivants ont été observées : VDN / Pio+, VDN / Pio-, Non-VDN / Pio+, Non-VDN / Pio- (n = 4 rats par groupe, choisis au hasard dans le groupe). Une étude préliminaire a montré que notre cotation semi-quantitative n'était pas suffisamment sensible pour déceler d'éventuelles différences dues au facteur "durée du traitement pioglitazone".

II.5 - MESURE DU DIAMETRE INTERNE ET DE L'ÉPAISSEUR MÉDIALE

L'étude histomorphométrique a été réalisée avec l'aide de P. Limiñana, EA 3448 "Physiopathologie et Pharmacologie du Vieillissement Cardiovasculaire", Faculté de Pharmacie, UHP Nancy I.

Le segment 2 (Figure 17) est déshydraté par des concentrations croissantes en alcool (75 à 100 % v/v), puis inclus dans de la paraffine (Sherwood Medical Co, St Louis, MO, USA). Des coupes de 20 μm d'épaisseur sont colorées par un mélange hématoxyline (7 g/L, Sigma) et éosine (90 % p/v, Sigma) (Henrion et coll., 1991b ; Niederhoffer et coll., 1997a).

L'analyse histomorphométrique des coupes, réalisée en aveugle par 2 expérimentateurs indépendants (programme Saisam[®], Microvision Instruments, Evry, France), permet la détermination du D_i (mm, obtenu à partir de la délimitation du périmètre interne) et de h (μm , définie comme la distance entre les lames limitantes élastiques interne et externe). L'étude de répétabilité (un même échantillon mesuré plusieurs fois par un expérimentateur) et de reproductibilité (3 échantillons mesurés plusieurs fois par deux expérimentateurs) donne des coefficients de variation inférieurs à 4% dans les 2 cas (Marque et coll., 2002).

II.6 - DETERMINATION DU MODULE ELASTIQUE ET DE LA CONTRAINTE PARIETALE

A partir des mesures hémodynamiques et histologiques, le module élastique (ME, 10^6 dynes/cm²) est calculé d'après l'équation de Moens-Korteweg :

$$ME = (VOP^2 \times D_i \times \rho) / h \quad \text{où } \rho = \text{densité sanguine (1,05 g/cm}^3\text{)}.$$

La contrainte pariétale (CP, 10^6 dynes/cm²) est calculée d'après l'équation de Lamé :

$$CP = (PAMc \times D_i) / 2h \quad \text{où } 1 \text{ mmHg} = 1334 \text{ dynes/cm}^2.$$

Le rapport ME/CP est déterminé comme indice de la rigidité intrinsèque de la paroi artérielle, indépendamment des variations potentielles de pression intraluminale artérielle moyenne (Marque et coll., 1999 ; Cantini et coll., 2001).

II.7 – EVALUATION DE L'ETAT DU RESEAU ELASTIQUE

L'étude histomorphométrique de l'état du réseau élastique a été réalisée avec l'aide de H. Javelot, étudiant en Pharmacie, dans le cadre de son Stage d'Initiation à la Recherche. L'état du réseau élastique dans la média aortique est évalué en aveugle par 2 expérimentateurs indépendants.

D'autres coupes de $10\mu\text{m}$ d'épaisseur sont réalisées à partir du segment 2 (Figure 17) et colorées avec une solution de Weigert (Sigma) afin de marquer spécifiquement les lames élastiques (Weigert, 1898), puis observées au microscope et étudiées grâce au logiciel d'analyse d'images Saisam[®] (Microvision Instruments, Evry, France) (Marque et coll., 2001b).

Pour chaque rat, une zone d'étude, représentative de l'ensemble de la coupe, est choisie et une surface médiale d'environ $10000\mu\text{m}^2$, excluant les limitantes élastiques internes et externes est définie, de même que la longueur de cette surface (Figure 19A).

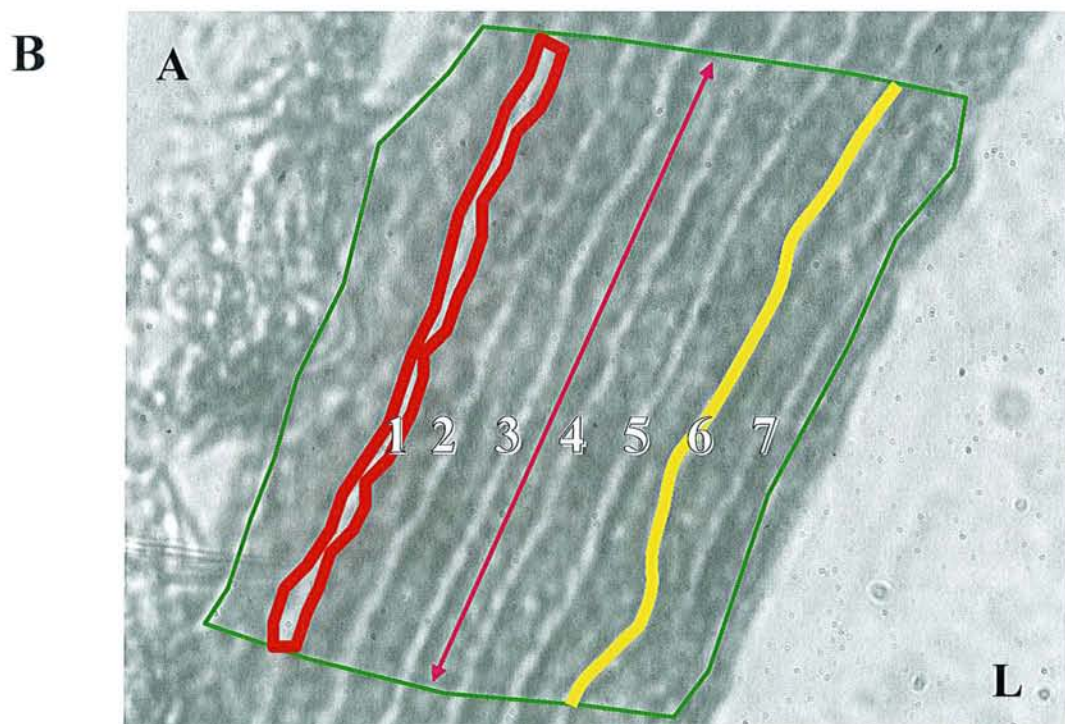
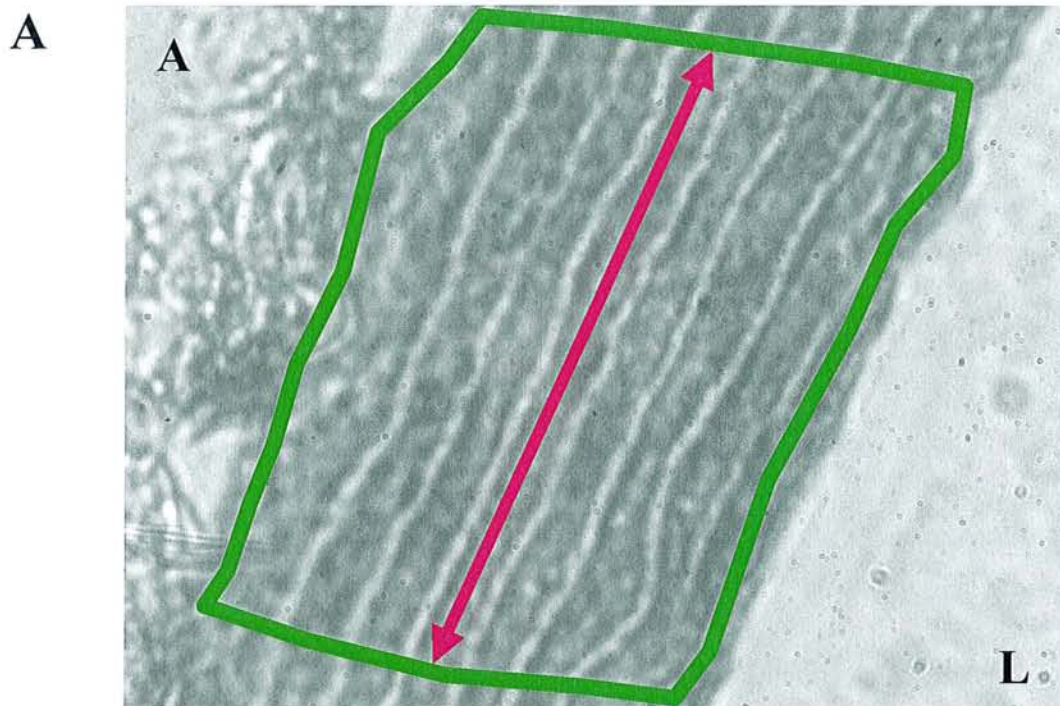


Figure 19 : Coupes d'aorte (coloration Weigert) (A = adventice, L = lumière) :

(A) : définition de la zone d'étude, de sa surface (en vert) et de sa longueur (en rose).

(B) : quantification du degré de dégradation du réseau élastique : surface des lames (en rouge), longueur des lames (en jaune) et dénombrement.

Afin de quantifier l'état du réseau élastique médial, trois paramètres sont évalués au sein de la surface médiale définie (Figure 19B) :

- le nombre de fragments élastiques, rapportés à une surface de 10 000 μm^2 ;
- la longueur moyenne des lames élastiques de la zone médiale d'étude, rapportée à la longueur de cette zone ;
- la surface totale des lames élastiques, rapportée à la surface médiale étudiée.

II.8 - WESTERN-BLOT DE LA PROTEINE PPAR γ

L'analyse en western-blot de la protéine PPAR γ a été réalisée avec l'aide d'A. Beltz, EA 3446 "Proliférateurs de Peroxysomes", Faculté des Sciences et Techniques, UHP Nancy I (si non précisé, les produits proviennent de chez Sigma).

Après décongélation, le segment 3 (Figure 17), est broyé au potter et homogénéisé dans du tampon de Mansen (Mansen et coll, 1996). Après centrifugation, les protéines sont dosées selon la méthode de Bradford (1976), en utilisant la BSA (1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$) comme protéine de référence.

Les échantillons sont dénaturés à 100°C pendant 5 minutes en présence d'une solution de dépôt (tampon Tris/HCl 10mM contenant 1mM d'EDTA, 5% (v/v) de 2-mercaptoéthanol, 2,5% (p/v) de SDS, 0,02% (p/v) de bleu de bromophénol et 10% (v/v) de glycérol), puis les protéines sont séparées par électrophorèse (gel de migration à 10% d'acrylamide, préparé dans du tampon Tris/HCl 0,37 M (pH = 8,8) contenant 0,1% SDS) dans des conditions dénaturantes selon la technique décrite par Laemmli (1970).

Après électrophorèse, les protéines sont transférées sur une membrane de polyvinyle difluoride selon la technique décrite par Towbin et ses collaborateurs (1979). La membrane est dans une solution de saturation, puis est incubée une nuit à 4°C en présence de l'anticorps primaire (anticorps anti-PPAR γ , dilué au 1:1500, cf. immunohistochimie de la protéine PPAR γ) ajouté à la solution de saturation.

La membrane est ensuite incubée en présence de l'anticorps secondaire (dilué au 1:2000 dans une solution de saturation) pendant 30 minutes à température ambiante sous agitation.

Enfin, après traitement avec le luminol (mouse/rabbit chemoluminescence detection kit, Roche, Germany) et révélation, l'intensité des signaux observés est quantifiée par densitométrie (GelDoc, BioRad, Hercules, USA). Quatre à six rats par groupe ont été testés, avec trois analyses pour chaque aorte.

II.9 - MESURE DES PARAMETRES BIOCHIMIQUES DE LA PAROI AORTIQUE

Après décongélation, le segment 4 (Figure 17) est pesé puis hydrolysé sous vide dans 250 μL d' HCl 6 M (Merck, Damstadt, Allemagne) pendant 24h à 105°C. L'hydrolysate est séché, puis repris dans 2 fois 100 μL d'eau (MilliQ, PURITE) et filtré (45 μm , Interchim, Montluçon, France). Les hydrolysats obtenus servent à la détermination des taux de protéines totales et de collagène de la paroi, avec l'aide de C. Cantini, EA 3448 "Physiopathologie et Pharmacologie du Vieillessement Cardiovasculaire", Faculté de Pharmacie, UHP Nancy I.

II.9.1 - Détermination du taux de protéines totales

Les protéines sont dosées par la réaction colorimétrique de Sanger, modifiée par Ghuyesen et Strominger (1963) résultant de l'interaction entre le dinitrofluorobenzène (DNFB) et les groupements $-\text{NH}_2$ des protéines. A 25 μL d'hydrolysate, dilué au 1/20^{ème}, sont ajoutés 100 μL de tampon tétraborate (Sigma), puis 12 μL de DNFB (Sigma), solubilisé dans de l'éthanol 95 % v/v. La solution est placée dans un bain marie à 60°C pendant 30 min. L'excès de DNFB est ensuite neutralisé par ajout de 1 mL d' HCl 2 M. L'absorbance est lue à une longueur d'onde de 420 nm (spectrophotomètre UV 1205, Shimadzu Co, Kyoto, Japon). Une courbe étalon est réalisée à partir d'une solution de D-alanine. Les protéines sont exprimées en μg par mg de PF en prenant 92 (correspondant au poids moléculaire d'un acide aminé anhydre) comme facteur de conversion entre les groupements $-\text{NH}_2$ libres et les protéines totales (Ghuyesen et Strominger, 1963).

II.9.2 - Détermination du taux de collagène

La détermination du taux de collagène se fait par le dosage de l'hydroxyproline, acide aminé majoritaire du collagène, selon la méthode de Neuman et Logan (1950). La chloramine T transforme l'hydroxyproline en groupements pyroles qui interagissent avec le réactif d'Elrich (paradiméthylaminobenzaldéhyde, Sigma) pour former un composé coloré. L'absorbance est lue à une longueur d'onde de 550 nm. Une courbe étalon est réalisée à partir d'une solution de D-hydroxyproline. Le collagène est exprimé en μg par mg de PF en prenant 7,46 comme facteur de conversion entre l'hydroxyproline et le collagène (Neuman et Logan, 1950).

II.9.3 - Détermination du taux de calcium

Le contenu calcique total ($\mu\text{mol/g}$ PS) du segment 5 (Figure 17) est dosé par spectrophotométrie d'absorption atomique (AA10, Varian Ltd, Melbourne, Australia), après minéralisation et digestion acide du tissu par l'acide nitrique 14 N (Sigma) (Henrion et coll., 1991b).

II.10 - ANALYSE STATISTIQUE DES RESULTATS

Les résultats paramétriques sont exprimés en moyenne \pm écart standard à la moyenne ($m \pm \text{esm}$). La différence entre les moyennes est recherchée par une analyse de variance (ANOVA) à trois facteurs : VDN, pioglitazone (Pio), durée du traitement pioglitazone (durée pio), sans tenir compte de l'interaction entre les 3 facteurs ($> 0,05$ pour tous les paramètres analysés), suivie par un test de Bonferroni *post-hoc*. L'hypothèse nulle est rejetée au-delà d'un niveau de probabilité $P < 0,05$ (les valeurs de $P < 0,05$ sont présentées en gras).

Une ANOVA de régression linéaire entre VG/PC et ME/CP et entre ME/CP et taux de calcium de la paroi aortique est réalisée pour chaque groupe Non-VDN et VDN (tous les traitements et les durées confondus) ; r représente le coefficient de corrélation.

Les résultats non paramétriques (immunohistochimie) sont analysés par un test de Mann-Whitney.

III – RESULTATS

III.1 – LOCALISATION ET QUANTIFICATION DE LA PROTEINE PPAR γ

La protéine PPAR γ a été révélée par immunohistochimie sur les coupes des rats Non-VDN / Pio-. Sa localisation est principalement cytoplasmique (Tableau 2 et Figure 20B). Le marquage est aussi principalement cytoplasmique pour les coupes des rats VDN / Pio-. Le traitement par la pioglitazone semble entraîner une activation/synthèse de la protéine PPAR γ localisée au niveau nucléaire. L'immunoréactivité est située entre les lames élastiques les plus internes, et ceci de façon plus prononcée chez les rats VDN que chez les rats Non-VDN.

Tableau 2 : Localisation du marquage fluorescent PPAR γ dans les coupes d'aorte issues de rats VDN ou non, traités ou non par la pioglitazone 3 mg/kg/j.

Test de Mann-Witney : $P_{VDN} = 0,774$ $P_{Pio} = 0,070$ $P_{Pio (noyau)} = 0,0006$

<u>Non-VDN</u>	<u>cytoplasme</u>	<u>noyau</u>	<u>VDN</u>	<u>cytoplasme</u>	<u>noyau</u>
Pio-	2	1	Pio-	2	1
Pio+	2	2	Pio+	1	3

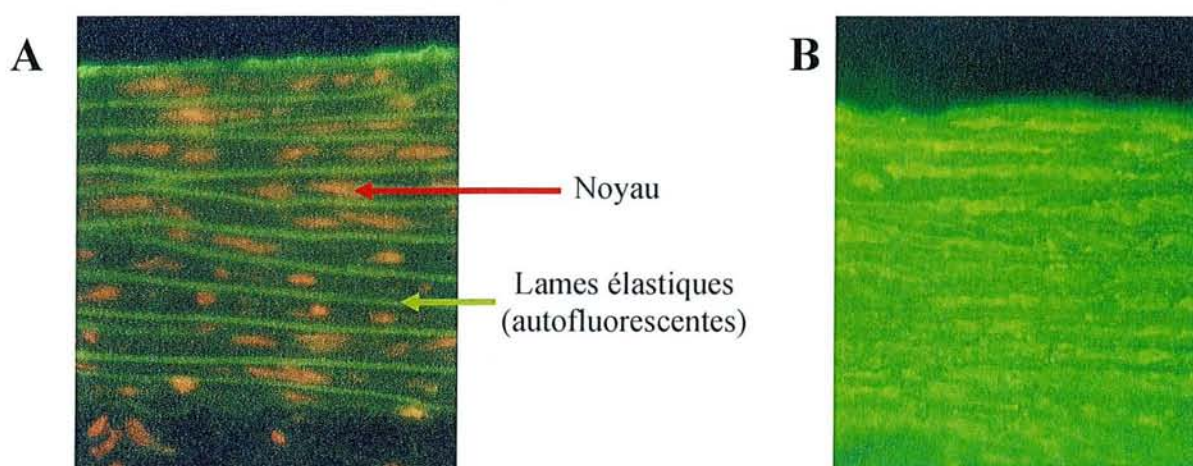


Figure 20 : Coupes aortiques d'un rat Non-VDN / Pio+, colorées au bromure d'éthidium :

- (A) en absence d'anticorps anti-PPAR γ ,
- (B) en présence d'anticorps anti-PPAR γ , montrant une localisation cytoplasmique de la protéine (marquage fluorescent au FITC des anticorps anti-anticorps PPAR γ).

Le traitement VDN augmente la quantité de protéine PPAR γ mais le traitement chronique par la pioglitazone n'a pas d'effet (Figure 21).

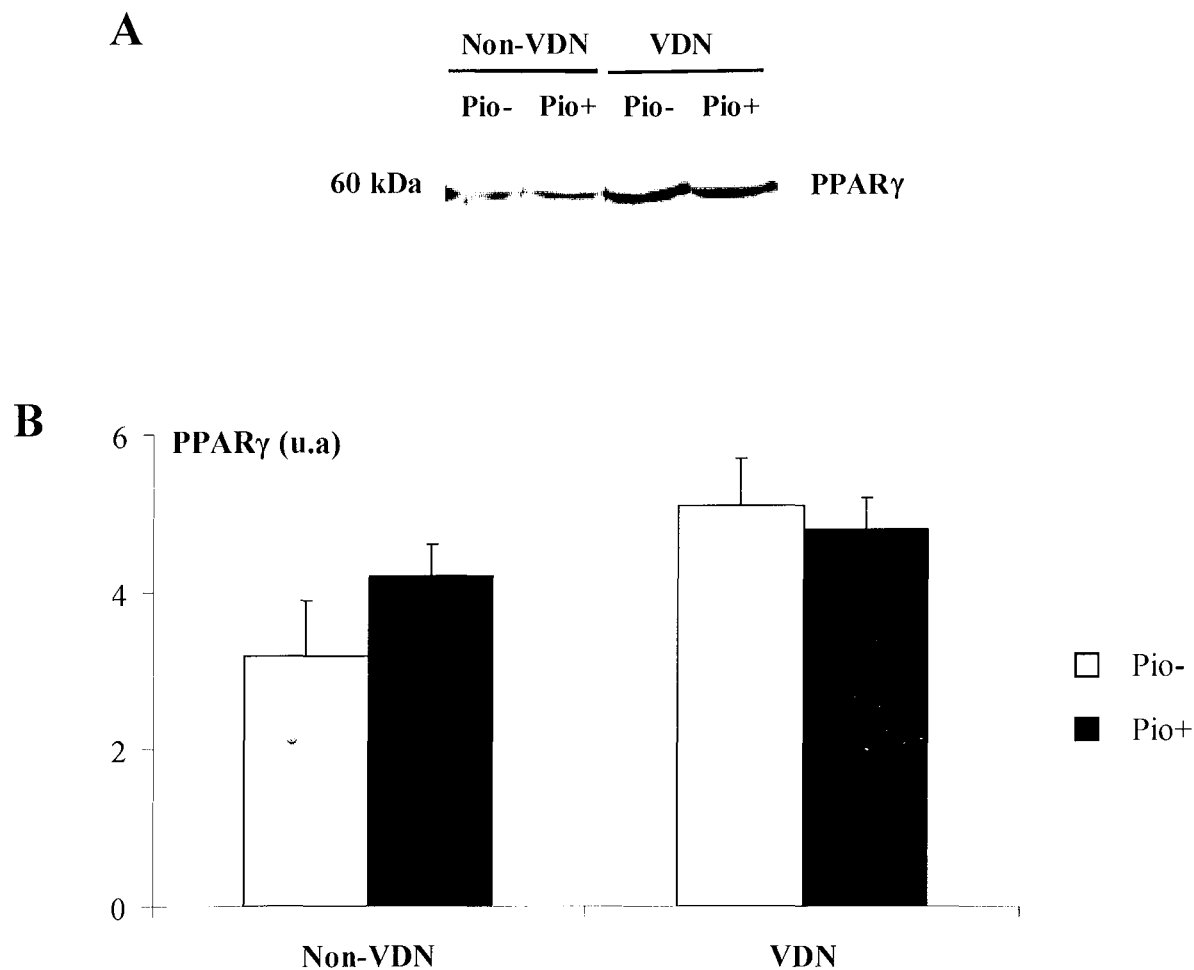


Figure 21 : Quantification par Western blot de la quantité de la protéine PPAR γ chez des rats VDN ou non, traités ou non par la pioglitazone 3 mg/kg/j.

(A) exemple représentatif des bandes obtenues,

(B) quantification densitométrique.

L'ANOVA 2 facteurs (VDN, Pio) donne les valeurs suivantes :

$P_{VDN} = 0,005$

$P_{Pio} = 0,512$

$P_{durée\ pio} = 0,299$

III.2 – ÉTAT DU RESEAU ELASTIQUE MEDIAL

Le réseau élastique médial des rats VDN présente une sévère fragmentation ainsi que de nombreuses bifurcations (une même lame se sépare en deux lames distinctes) et des zones de désorganisation importante du réseau élastique par rapport aux rats non-VDN (Figure 22).

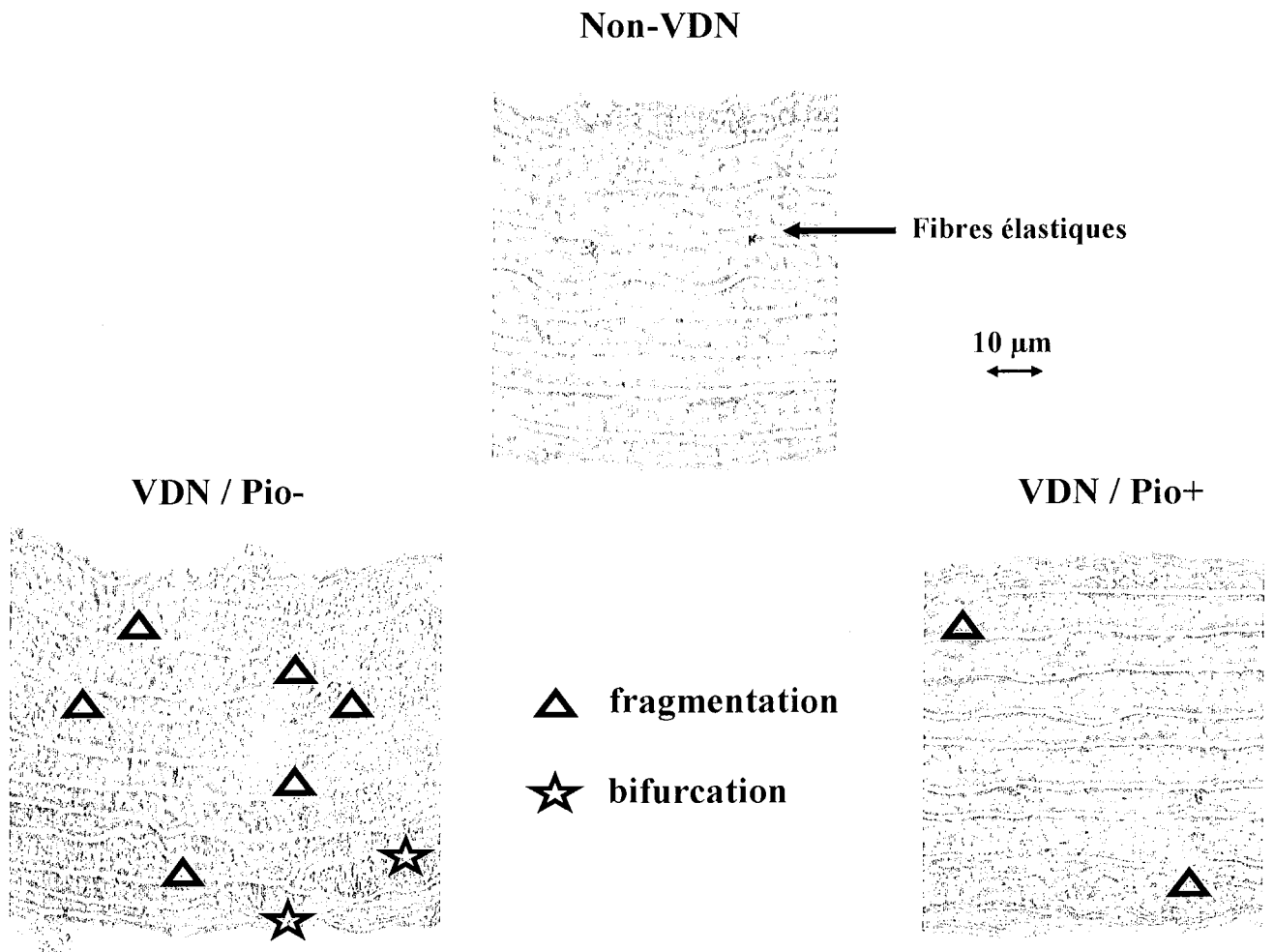


Figure 22 : Coupes d'aorte (coloration Weigert) montrant le réseau élastique médial, représentatives des rats Non-VDN, VDN / Pio- et VDN / Pio +.

Ceci est montré par une augmentation du nombre (+31%) et une diminution de la longueur (-35%) et de la surface des lames (-18%) (Tableau 3). Le traitement chronique par la pioglitazone protège le réseau élastique de la dégradation chez les rats VDN.

Tableau 3 : Quantification de la dégradation du réseau élastique chez les rats VDN ou non, traités ou non de J₁ à J₄₄ ou de J₁₅ à J₄₄ par la pioglitazone 3 mg/kg/j.

groupes	<u>Non-VDN</u>	<u>VDN</u>	ANOVA 3 facteurs (VDN, Pio, durée pio)			
Nombre de fragments élastiques pour 10 000 µm²						
<u>Pio-</u>	<u>J₁-J₄₄</u>	8.0 ± 0.4	10.2 ± 1.3	P_{VDN} < 0,0001	P_{Pio} < 0,0001	P_{durée pio} = 0,691
	<u>J₁₅-J₄₄</u>	8.1 ± 0.4	10.8 ± 0.4	P_{VDN x Pio} = 0,058	P_{VDN x durée pio} = 0,295	
<u>Pio+</u>	<u>J₁-J₄₄</u>	7.7 ± 0.3	8.2 ± 0.3	P_{Pio x durée pio} = 0,514		
	<u>J₁₅-J₄₄</u>	7.1 ± 0.4	8.7 ± 0.4			
Ratio de la longueur moyenne des lames sur la longueur de la zone médiale d'étude						
<u>Pio-</u>	<u>J₁-J₄₄</u>	0.93 ± 0.05	0.59 ± 0.05	P_{VDN} < 0,0001	P_{Pio} < 0,0001	P_{durée pio} = 0,534
	<u>J₁₅-J₄₄</u>	0.96 ± 0.05	0.63 ± 0.10	P_{VDN x Pio} < 0,0001	P_{VDN x durée pio} = 0,215	
<u>Pio+</u>	<u>J₁-J₄₄</u>	0.95 ± 0.01	0.92 ± 0.03	P_{Pio x durée pio} = 0,397		
	<u>J₁₅-J₄₄</u>	1.02 ± 0.02	0.84 ± 0.03			
Surface médiale occupée par les fibres élastiques, %						
<u>Pio-</u>	<u>J₁-J₄₄</u>	20.8 ± 1.3	16.9 ± 1.42	P_{VDN} = 0,014	P_{Pio} = 0,578	P_{durée pio} = 0,503
	<u>J₁₅-J₄₄</u>	19.9 ± 1.2	16.6 ± 2.1	P_{VDN x Pio} = 0,005	P_{VDN x durée pio} = 0,192	
<u>Pio+</u>	<u>J₁-J₄₄</u>	20.3 ± 0.9	18.1 ± 0.7	P_{Pio x durée pio} = 0,950		
	<u>J₁₅-J₄₄</u>	18.1 ± 0.8	19.4 ± 0.7			

III.3 – COMPOSITION DE LA PAROI

III.3.1 - Taux de protéines et de collagène et rapport poids sec/poids frais

Le taux de protéines totales diminue de 16% chez les rats VDN / Pio- par rapport aux rats Non-VDN / Pio-. Le traitement par la pioglitazone, ainsi que sa durée, n'ont aucun effet (Tableau 4).

Le taux de collagène et le rapport PS/PF sont identiques dans tous les groupes (aucun effet VDN, Pio ou durée pio, Tableau 4).

Tableau 4 : Composition de la paroi aortique : taux de protéines totales, taux de collagène, rapport PS/PF chez les rats VDN ou non, traités ou non de J₁ à J₄₄ ou de J₁₅ à J₄₄ par la pioglitazone 3 mg/kg/j.

groupes	<u>Non-VDN</u>	<u>VDN</u>	ANOVA 3 facteurs (VDN, Pio, durée pio)			
Protéines totales, mg/g PF						
<u>Pio-</u>	<u>J₁-J₄₄</u>	337 ± 16	277 ± 14	P_{VDN} = 0,029	P _{Pio} = 0,500	P _{durée pio} = 0,394
	<u>J₁₅-J₄₄</u>	302 ± 19	260 ± 28			
<u>Pio+</u>	<u>J₁-J₄₄</u>	371 ± 14	294 ± 15	P _{Pio x durée pio} = 0,307		
	<u>J₁₅-J₄₄</u>	307 ± 12	302 ± 16			
Collagène, mg/g PF						
<u>Pio-</u>	<u>J₁-J₄₄</u>	137 ± 11	137 ± 10	P _{VDN} = 0,312	P _{Pio} = 0,765	P _{durée pio} = 0,959
	<u>J₁₅-J₄₄</u>	132 ± 17	119 ± 10			
<u>Pio+</u>	<u>J₁-J₄₄</u>	134 ± 5	121 ± 6	P _{Pio x durée pio} = 0,065		
	<u>J₁₅-J₄₄</u>	139 ± 6	139 ± 7			
PS/PF, %						
<u>Pio-</u>	<u>J₁-J₄₄</u>	43 ± 1	48 ± 3	P _{VDN} = 0,361	P _{Pio} = 0,929	P _{durée pio} = 0,231
	<u>J₁₅-J₄₄</u>	42 ± 1	44 ± 3			
<u>Pio+</u>	<u>J₁-J₄₄</u>	44 ± 1	42 ± 2	P _{Pio x durée pio} = 0,744		
	<u>J₁₅-J₄₄</u>	45 ± 2	45 ± 1			

III.3.2 - Taux de calcium total

Le taux de calcium de la paroi aortique est multiplié par 50 chez les rats VDN / Pio- par rapport aux rats Non-VDN / Pio-. Le traitement par la pioglitazone n'a aucun effet chez les rats Non-VDN, mais réduit la calcification chez les rats VDN (Figure 23).

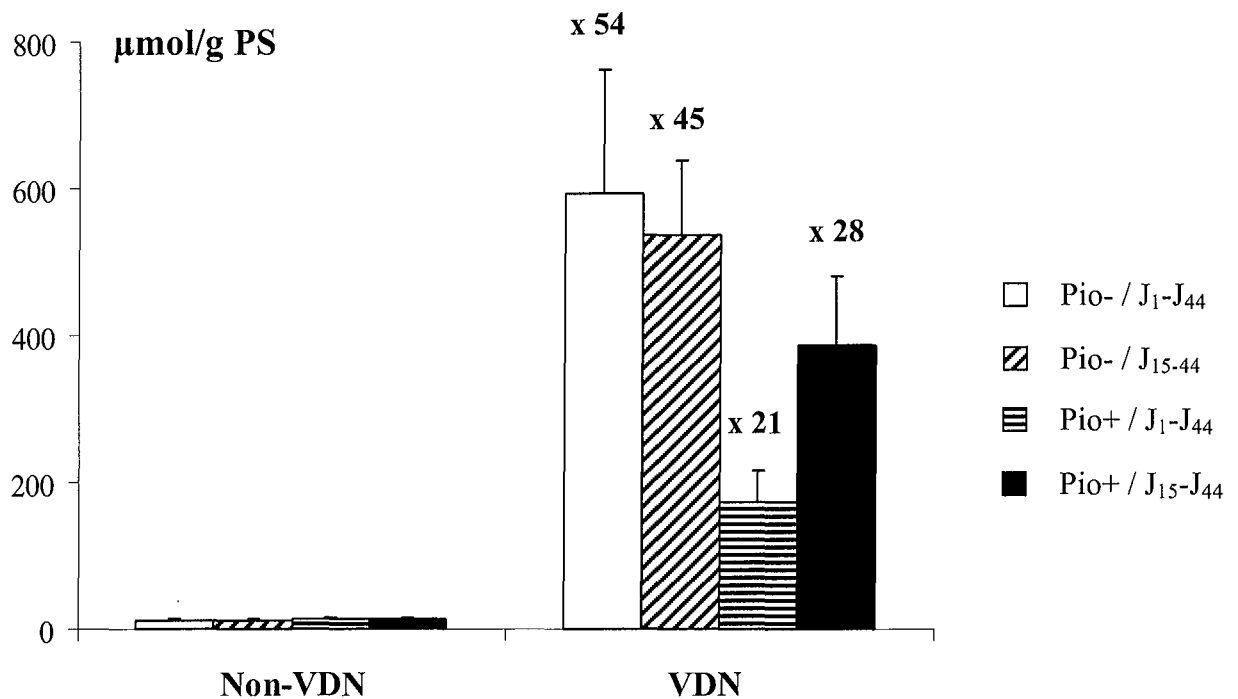


Figure 23 : Taux de calcium total de la paroi aortique chez les rats VDN ou non, traités ou non de J₁ à J₄₄ ou de J₁₅ à J₄₄ par la pioglitazone 3 mg/kg/j. Les facteurs multiplicateurs indiqués réfèrent aux groupes Non-VDN de traitement et de durée correspondants.

ANOVA 3 facteurs : $P_{VDN} < 0,0001$ $P_{Pio} = 0,011$ $P_{durée\ pio} = 0,429$
 $P_{VDN \times Pio} = 0,015$ $P_{VDN \times durée\ pio} = 0,546$ $P_{Pio \times durée\ pio} = 0,262$

III.4 – GEOMETRIE DE L'AOORTE

Le D_i augmente de 20% chez les rats VDN / Pio- par rapport aux rats Non-VDN / Pio-, sans changement de h (Tableau 5). Le traitement par la pioglitazone, quelle que soit sa durée, limite cette dilatation chez les rats VDN, mais n'a pas d'effet chez les rats Non-VDN.

Tableau 5 : Géométrie de l'aorte thoracique : D_i et h chez les rats VDN ou non, traités ou non de J_1 à J_{44} ou de J_{15} à J_{44} par la pioglitazone 3 mg/kg/j.

groupes	<u>Non-VDN</u>	<u>VDN</u>	ANOVA 3 facteurs (VDN, Pio, durée pio)	
D_i, mm				
<u>Pio-</u>	<u>J_1-J_{44}</u>	1,77 ± 0,07	2,18 ± 0,26	$P_{VDN} = 0,021$ $P_{Pio} = 0,136$ $P_{durée\ pio} = 0,562$ $P_{VDN \times Pio} = 0,050$ $P_{VDN \times durée\ pio} = 0,705$
	<u>J_{15}-J_{44}</u>	1,96 ± 0,07	2,19 ± 0,06	
<u>Pio+</u>	<u>J_1-J_{44}</u>	1,92 ± 0,06	1,91 ± 0,10	$P_{Pio \times durée\ pio} = 0,480$
	<u>J_{15}-J_{44}</u>	1,88 ± 0,06	1,94 ± 0,06	
h, μm				
<u>Pio-</u>	<u>J_1-J_{44}</u>	75 ± 4	75 ± 4	$P_{VDN} = 0,195$ $P_{Pio} = 0,951$ $P_{durée\ pio} = 0,745$ $P_{VDN \times Pio} = 0,406$ $P_{VDN \times durée\ pio} = 0,240$
	<u>J_{15}-J_{44}</u>	68 ± 3	81 ± 3	
<u>Pio+</u>	<u>J_1-J_{44}</u>	75 ± 4	76 ± 3	$P_{Pio \times durée\ pio} = 0,950$
	<u>J_{15}-J_{44}</u>	74 ± 2	76 ± 3	

III.5 - INDICES DE RIGIDITE DE LA PAROI AORTIQUE ET PARAMETRES HEMODYNAMIQUES

Le traitement VDN induit une augmentation importante de la rigidité de la paroi aortique (Figure 24 et Tableau 6) : les valeurs de ME/CP sont multipliées par 2 chez les rats VDN / Pio- par rapport à celles des rats Non-VDN / Pio- (Figure 24). Le traitement par la pioglitazone diminue ME/CP, de façon plus importante chez les rats VDN par rapport aux rats Non-VDN, puisque l'interaction des 2 facteurs VDN x Pio est significative. La durée du traitement n'a aucun effet sur la rigidité de la paroi aortique.

La PP centrale augmente de 60% (Figure 24) chez les rats VDN / Pio- par rapport aux rats Non-VDN / Pio-. Le traitement par la pioglitazone, ainsi que sa durée, n'ont pas d'effet.

Les PAM et PAD centrale (Tableau 6) et périphérique (résultats non montrés) sont identiques dans tous les groupes. Seules les pressions systoliques augmentent de façon significative chez les rats VDN / Pio- par rapport aux rats Non-VDN / Pio-. Le traitement par la pioglitazone, ainsi que sa durée, n'ont pas d'effet.

La contrainte pariétale est identique dans tous les groupes (aucun effet VDN, Pio ou durée, Tableau 6).

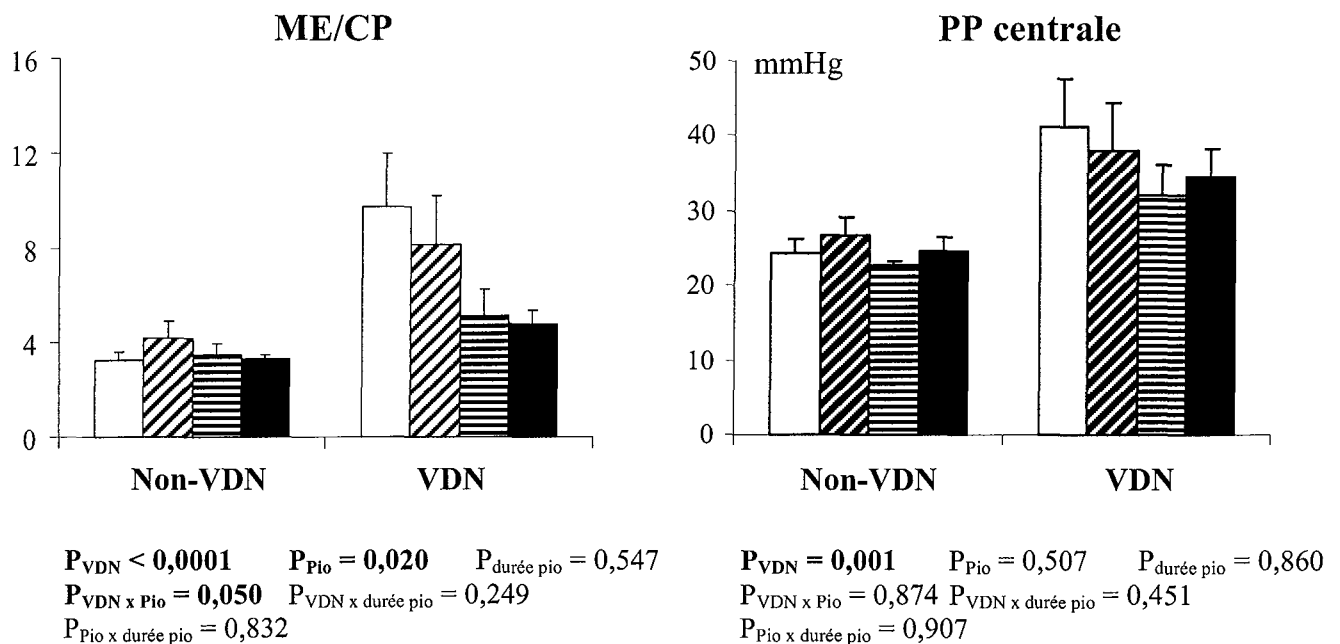


Figure 24 : ME/CP et PP centrale chez les rats VDN ou non, traités ou non de J₁ à J₄₄ ou de J₁₅ à J₄₄ par la pioglitazone 3 mg/kg/j.

Tableau 6 : Pressions aortiques centrales, contrainte pariétale, VOP, ME et amplification thoraco-abdominale de la PP chez les rats anesthésiés VDN ou non, traités ou non de J₁ à J₄₄ ou de J₁₅ à J₄₄ par la pioglitazone 3 mg/kg/j.

groupes	<u>Non-VDN</u>	<u>VDN</u>	ANOVA 3 facteurs (VDN, Pio, durée pio)			
Pressions aortiques centrales, mmHg						
Moyenne						
<u>Pio-</u>	<u>J₁-J₄₄</u>	107 ± 5	111 ± 2	$P_{VDN} = 0,335$	$P_{Pio} = 0,640$	$P_{durée\ pio} = 0,318$
	<u>J₁₅-J₄₄</u>	113 ± 1	111 ± 2	$P_{VDN \times Pio} = 0,081$	$P_{VDN \times durée\ pio} = 0,289$	
<u>Pio+</u>	<u>J₁-J₄₄</u>	109 ± 3	111 ± 3	$P_{Pio \times durée\ pio} = 0,249$		
	<u>J₁₅-J₄₄</u>	111 ± 1	116 ± 1			
Systolique						
<u>Pio-</u>	<u>J₁-J₄₄</u>	119 ± 3	132 ± 7	$P_{VDN} = 0,011$	$P_{Pio} = 0,953$	$P_{durée\ pio} = 0,464$
	<u>J₁₅-J₄₄</u>	123 ± 3	130 ± 5	$P_{VDN \times Pio} = 0,152$	$P_{VDN \times durée\ pio} = 0,690$	
<u>Pio+</u>	<u>J₁-J₄₄</u>	120 ± 3	131 ± 5	$P_{Pio \times durée\ pio} = 0,247$		
	<u>J₁₅-J₄₄</u>	121 ± 2	133 ± 3			
Diastolique						
<u>Pio-</u>	<u>J₁-J₄₄</u>	95 ± 5	92 ± 2	$P_{VDN} = 0,261$	$P_{Pio} = 0,503$	$P_{durée\ pio} = 0,327$
	<u>J₁₅-J₄₄</u>	99 ± 1	92 ± 2	$P_{VDN \times Pio} = 0,088$	$P_{VDN \times durée\ pio} = 0,210$	
<u>Pio+</u>	<u>J₁-J₄₄</u>	97 ± 3	93 ± 4	$P_{Pio \times durée\ pio} = 0,264$		
	<u>J₁₅-J₄₄</u>	98 ± 1	98 ± 2			
Contrainte pariétale, 10⁶ dynes/cm²						
<u>Pio-</u>	<u>J₁-J₄₄</u>	1,69 ± 0,10	1,92 ± 0,12	$P_{VDN} = 0,233$	$P_{Pio} = 0,969$	$P_{durée\ pio} = 0,382$
	<u>J₁₅-J₄₄</u>	2,16 ± 0,09	1,99 ± 0,07	$P_{VDN \times Pio} = 0,352$	$P_{VDN \times durée\ pio} = 0,643$	
<u>Pio+</u>	<u>J₁-J₄₄</u>	1,94 ± 0,08	2,04 ± 0,16	$P_{Pio \times durée\ pio} = 0,066$		
	<u>J₁₅-J₄₄</u>	1,74 ± 0,18	2,05 ± 0,09			
VOP, cm/s						
<u>Pio-</u>	<u>J₁-J₄₄</u>	463 ± 22	776 ± 99	$P_{VDN} < 0,0001$	$P_{Pio} = 0,034$	$P_{durée\ pio} = 0,914$
	<u>J₁₅-J₄₄</u>	546 ± 49	733 ± 91	$P_{VDN \times Pio} = 0,149$	$P_{VDN \times durée\ pio} = 0,431$	
<u>Pio+</u>	<u>J₁-J₄₄</u>	486 ± 34	616 ± 68	$P_{Pio \times durée\ pio} = 0,568$		
	<u>J₁₅-J₄₄</u>	462 ± 25	582 ± 38			
ME, 10⁶ dynes/cm²						
<u>Pio-</u>	<u>J₁-J₄₄</u>	5,31 ± 0,34	19,12 ± 4,75	$P_{VDN} < 0,0001$	$P_{Pio} = 0,037$	$P_{durée\ pio} = 0,622$
	<u>J₁₅-J₄₄</u>	9,08 ± 1,43	15,89 ± 4,85	$P_{VDN \times Pio} = 0,159$	$P_{VDN \times durée\ pio} = 0,317$	
<u>Pio+</u>	<u>J₁-J₄₄</u>	6,84 ± 0,94	12,13 ± 2,88	$P_{Pio \times durée\ pio} = 0,520$		
	<u>J₁₅-J₄₄</u>	4,93 ± 1,03	9,9 ± 1,41			

Chez les rats VDN (tous les traitements et les durées confondus), il existe une corrélation positive entre le rapport ME/CP et le taux de calcium total de la paroi aortique (Figure 25A). Des corrélations de même type sont retrouvées dans les sous-groupes de rats VDN traités ou non par la pioglitazone : la pente de la corrélation obtenue chez les rats VDN / Pio+ est plus faible que celle obtenue chez les rats VDN / Pio- (Figure 25B).

Aucune corrélation n'est retrouvée chez les rats Non-VDN ($r = 0,23$, $n = 28$, $P > 0,05$).

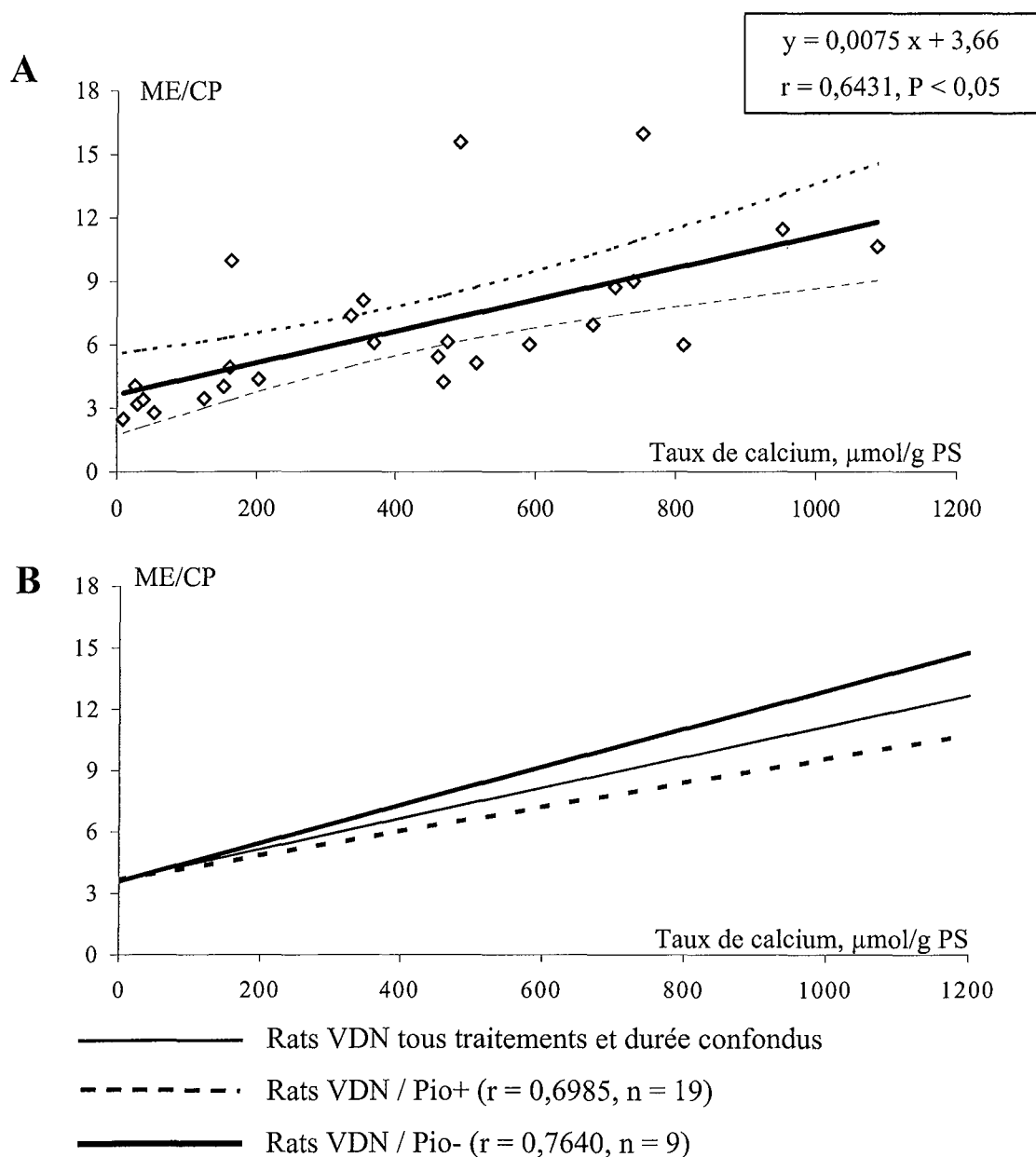


Figure 25 : Régressions linéaires entre le rapport ME/CP et le taux de calcium total de la paroi aortique chez les rats VDN : (A) tous traitements et durées confondus, et (B) dans les sous-groupes Pio+ et Pio- des rats VDN (les sous-groupes J₁-J₄₄ et J₁₅-J₄₄ ont été regroupés).

III.6 - PARAMETRES CARDIAQUES

La fréquence cardiaque est identique dans tous les groupes (aucun effet VDN, Pio ou durée, Tableau 3). Le poids du VG et le rapport VG/PC augmentent de 11 et 18%, respectivement, chez les rats VDN / Pio- par rapport aux rats Non-VDN / Pio-. Le traitement par la pioglitazone, ainsi que sa durée, n'ont pas d'effet (Tableau 7).

Tableau 7 : Fréquence cardiaque et poids du VG chez les rats anesthésiés VDN ou non, traités ou non de J₁ à J₄₄ ou de J₁₅ à J₄₄ par la pioglitazone 3 mg/kg/j.

groupes	<u>Non-VDN</u>	<u>VDN</u>	ANOVA 3 facteurs (VDN, Pio, durée)	
Fréquence cardiaque, bpm				
<u>Pio-</u>	<u>J₁-J₄₄</u>	435 ± 17	457 ± 15	P _{VDN} = 0,440 P _{Pio} = 0,805 P _{durée pio} = 0,070 P _{VDN x Pio} = 0,643 P _{VDN x durée pio} = 0,776
	<u>J₁₅-J₄₄</u>	427 ± 9	435 ± 21	
<u>Pio+</u>	<u>J₁-J₄₄</u>	455 ± 15	445 ± 11	P _{Pio x durée pio} = 0,587
	<u>J₁₅-J₄₄</u>	413 ± 23	430 ± 10	
Poids du VG, g				
<u>Pio-</u>	<u>J₁-J₄₄</u>	0,57 ± 0,03	0,61 ± 0,04	P _{VDN} = 0,017 P _{Pio} = 0,187 P _{durée} = 0,457 P _{VDN x Pio} = 0,595 P _{VDN x durée pio} = 0,901
	<u>J₁₅-J₄₄</u>	0,55 ± 0,02	0,62 ± 0,05	
<u>Pio+</u>	<u>J₁-J₄₄</u>	0,60 ± 0,03	0,62 ± 0,02	P _{Pio x durée pio} = 0,354
	<u>J₁₅-J₄₄</u>	0,62 ± 0,01	0,64 ± 0,03	
VG /PC, g/kg				
<u>Pio-</u>	<u>J₁-J₄₄</u>	1,53 ± 0,05	1,78 ± 0,10	P _{VDN} < 0,0001 P _{Pio} = 0,187 P _{durée} = 0,457 P _{VDN x Pio} = 0,595 P _{VDN x durée pio} = 0,901
	<u>J₁₅-J₄₄</u>	1,50 ± 0,05	1,79 ± 0,09	
<u>Pio+</u>	<u>J₁-J₄₄</u>	1,49 ± 0,05	1,64 ± 0,06	P _{Pio x durée pio} = 0,354
	<u>J₁₅-J₄₄</u>	1,52 ± 0,03	1,72 ± 0,07	

Chez les rats VDN (tous les traitements et les durées confondus), il existe une corrélation positive entre le rapport VG/PC et le rapport ME/CP (Figure 26). Ceci n'est pas le cas chez les rats Non-VDN ($r = 0,32$, $n = 28$, $P > 0,05$).

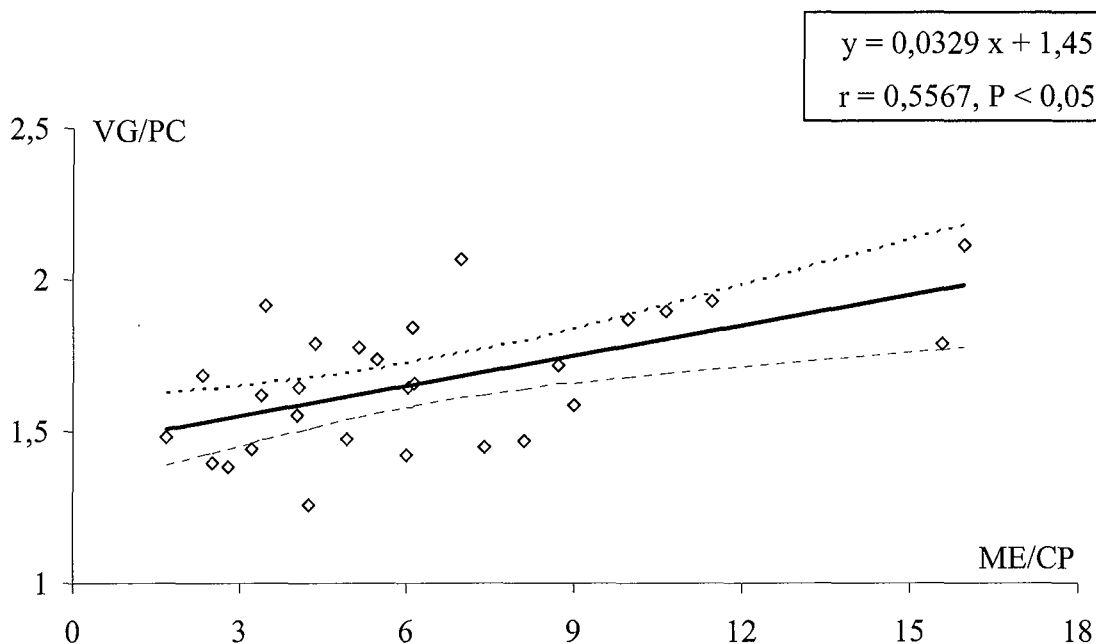


Figure 26 : Régression linéaire entre le rapport VG + septum/PC et le rapport ME/CP chez les rats VDN (tous les traitements et les durées confondus).

III.7 – GLYCEMIE ET EVOLUTION DU POIDS CORPOREL

La glycémie est similaire dans tous les groupes de traitement.

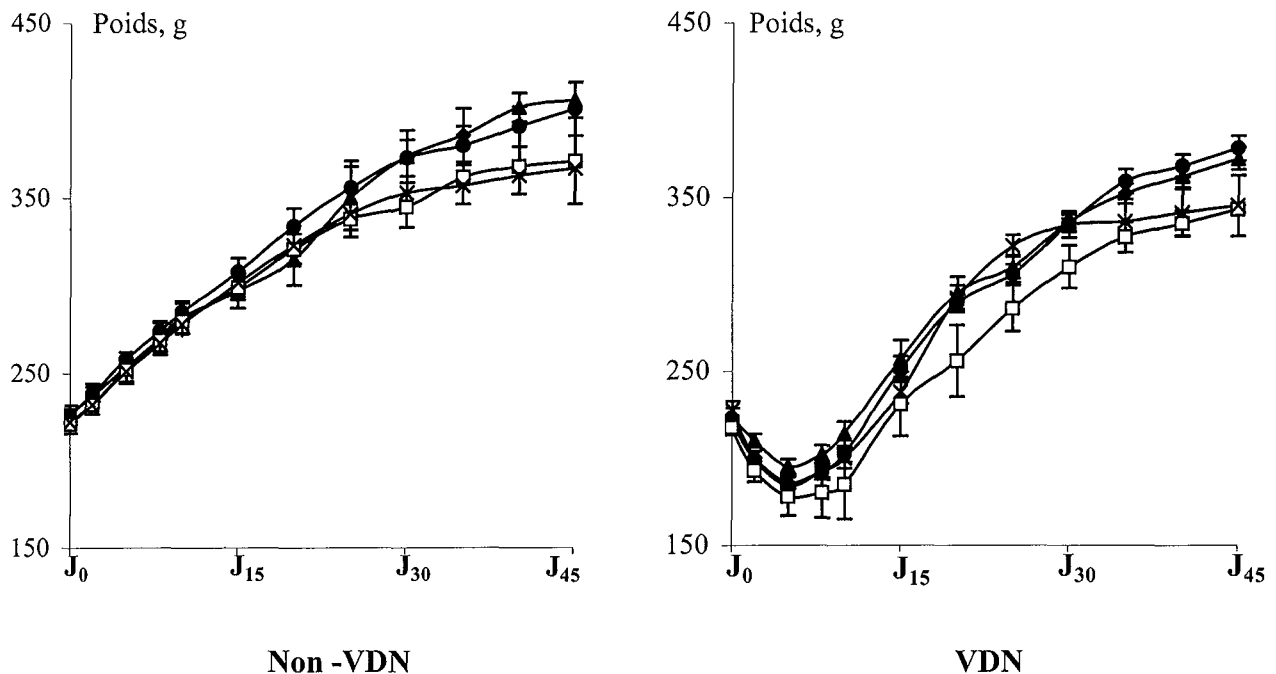
Tableau 8 : Taux de glucose plasmatique (mmol/L) chez les rats VDN ou non, traités ou non de J₁ à J₄₄ ou de J₁₅ à J₄₄ par la pioglitazone 3 mg/kg/j.

groupes		<u>Non-VDN</u>	<u>VDN</u>	ANOVA 3 facteurs (VDN, Pio, durée pio)
<u>Pio-</u>	<u>J₁-J₄₄</u>	11,1 ± 0,8	12,2 ± 1,6	$P_{VDN} = 0,766$ $P_{Pio} = 0,738$ $P_{durée\ pio} = 0,523$
	<u>J₁₅-J₄₄</u>	11,5 ± 1,5	9,4 ± 0,9	$P_{VDN \times Pio} = 0,405$ $P_{VDN \times durée\ pio} = 0,654$
<u>Pio+</u>	<u>J₁-J₄₄</u>	11,2 ± 1,3	11,6 ± 0,8	$P_{Pio \times durée\ pio} = 0,589$
	<u>J₁₅-J₄₄</u>	10,4 ± 0,6	12,3 ± 1,5	

Entre J_0 et J_{45} , les rats Non-VDN grossissent de façon régulière (Figure 27).

Les rats VDN perdent du poids entre J_0 et J_6 (de l'ordre de -40 g), puis retrouvent une courbe pondérale parallèle à celle des rats Non-VDN. Cependant à J_{45} , le poids des rats VDN / Pio- reste inférieur de 7% à celui des rats Non-VDN / Pio-.

Après traitement par la pioglitazone, le poids corporel augmente de 9%, tant chez les rats Non-VDN que chez les rats VDN, et ce, quelle que soit la durée du traitement (de J_1 à J_{44} ou de J_{15} à J_{44}).



□ = Pio- / J_1 - J_{44} ; x = Pio- / J_{15} - J_{44} ; ● = Pio+ / J_1 - J_{44} ; ▲ = Pio+ / J_{15} - J_{44} .

Figure 27 : Evolution du poids corporel entre J_0 et J_{45} chez les rats VDN ou non, traités ou non de J_1 à J_{44} ou de J_{15} à J_{44} par la pioglitazone 3 mg/kg/j.

Pour les valeurs de poids corporel mesuré à J_{45} , l'ANOVA 3 facteurs (VDN, Pio, durée pio) donne les valeurs suivantes : $P_{VDN} = 0,005$ $P_{Pio} < 0,0001$ $P_{durée\ pio} = 0,904$

$P_{VDN \times Pio} = 0,635$ $P_{VDN \times durée\ pio} = 0,546$

$P_{Pio \times durée\ pio} = 0,323$

III.8 – EFFETS DE L'ADMINISTRATION AIGUE DE PIOGLITAZONE

Dans l'expérimentation avec administration aiguë de pioglitazone, la paroi aortique des rats VDN / Pio- présente une calcification et une rigidité accrue (taux de calcium : $1070 \pm 275 \mu\text{mol.g}^{-1}$ PS ; VOP : $696 \pm 110 \text{ cm.s}^{-1}$, $P < 0.05$ versus 23 ± 1 et 472 ± 19 chez les rats Non-VDN). La PP est augmentée ($42 \pm 9 \text{ mmHg}$, $P < 0.05$ versus 26 ± 2 chez les rats Non-VDN) sans changement de la PAM et de la fréquence cardiaque (PAM : $108 \pm 1 \text{ mmHg}$; Fréquence cardiaque : $454 \pm 11 \text{ bpm}$, versus $110 \pm 2 \text{ mmHg}$ et $427 \pm 14 \text{ bpm}$ chez les rats Non-VDN).

L'administration aiguë de pioglitazone n'a pas d'effet sur la calcification pariétale ($P_{\text{VDN}} < 0,0001$, $P_{\text{Pio}} = 0,531$, $P_{\text{VDN} \times \text{Pio}} = 0,524$), la VOP ($P_{\text{VDN}} = 0,010$, $P_{\text{Pio}} = 0,971$, $P_{\text{VDN} \times \text{Pio}} = 0,704$) ou la PP ($P_{\text{VDN}} = 0,002$, $P_{\text{Pio}} = 0,601$, $P_{\text{VDN} \times \text{Pio}} = 0,602$) mais augmente légèrement la PAM (+ 4%, $P_{\text{VDN}} = 0,780$, $P_{\text{Pio}} = 0,012$, $P_{\text{VDN} \times \text{Pio}} = 0,300$) et diminue la fréquence cardiaque (-10%, $P_{\text{VDN}} = 0,131$, $P_{\text{Pio}} = 0,004$, $P_{\text{VDN} \times \text{Pio}} = 0,669$) tant chez les rats VDN que chez les rats Non-VDN.

IV - DISCUSSION

Dans cette étude, notre hypothèse de travail était que les PPAR γ , modulateurs de l'inflammation vasculaire, sont une cible thérapeutique potentielle de la MVR. Ceci a été vérifié chez le rat VDN, validé comme modèle de cette pathologie. Chez les rats VDN, le traitement par la pioglitazone entraîne une activation et/ou une synthèse importante des PPAR γ au niveau nucléaire, dans les cellules situées entre les lames élastiques les plus internes. Parallèlement, ces lames élastiques apparaissent moins fragmentées et moins désorganisées, la calcification est réduite, la dilatation aortique est limitée et la rigidité pariétale aortique diminue (Tableau 9).

Malgré ses effets bénéfiques sur la média aortique, le traitement par la pioglitazone n'induit pas de diminution de la PP centrale et ne réduit pas l'HVG (Tableau 9).

Tableau 9 : Résumé des effets des traitements VDN et Pio sur la rigidité pariétale (ME/CP), ses conséquences pathologiques (PP centrale et HVG) et ses déterminants (contrainte et composition pariétales).

<u>Paramètres</u>		<u>Effet VDN</u>	<u>Effet Pioglitazone</u>		
			chez Non-VDN	chez VDN	
Rigidité	ME/CP	↗	=	↘	
	PP	↗	=	=	
Conséquences	HVG	↗ (corrélation avec ME/CP)	=	=	
	CP	=	=	=	
Déterminants	Contrainte pariétale	D _i	↗	↘	
		Protéines	↘	=	
	Composition pariétale	Collagène	=	=	
		PS/PF	=	=	
		Calcium	↗ (corrélation avec ME/CP)	=	↘
		Dégradation élastine	↗	=	↘

Nous discuterons dans un premier temps de l'effet anti-calcique de la pioglitazone et de son effet protecteur des lames élastiques puis dans un second temps de son absence d'effet sur la PP et l'HVG. Enfin, nous discuterons du choix d'un modèle animal permettant d'étudier les relations entre MVR et inflammation.

IV.1 - PIOGLITAZONE ET RIGIDITE PARIETALE AORTIQUE

IV.1.1 - Pioglitazone et calcification

Une première hypothèse expliquant les effets bénéfiques du traitement Pio (Figure 23) sur la rigidité pariétale aortique dans notre modèle VDN est son effet anti-calcique. L'implication de divers mécanismes, restant encore à explorer, peuvent être suggérée :

(1) Les TZD inhiberaient les canaux calciques des cellules musculaires lisses (Buchanan et coll., 1995 ; Nakamura et coll., 1998). Or, dans le processus de calcification de la paroi artérielle, a été évoquée une entrée massive de calcium dans la cellule conduisant à une nécrose et à une libération du calcium dans le milieu extracellulaire (Hass et coll., 1958).

(2) Une interaction entre les TZD et la vitamine D₃ (tous deux ligands de récepteurs nucléaires) pourraient être impliquée. En effet, chez le rat VDN, le taux de calcium de la paroi artérielle augmente parallèlement à une diminution du taux de calcium osseux (Kieffer et coll., 2000), suggérant une mobilisation du pool calcique osseux vers la paroi aortique, suite à une résorption osseuse. Or, les TZD inhibent la résorption osseuse induite par une stimulation à la vitamine D₃ (Okasaki et coll., 1999) et pourraient empêcher cette mobilisation du pool calcique. De plus, la vitamine D₃ inhibe l'expression des PPAR γ ₂ adipocytaires activée en présence de TZD (Hida et coll., 1998). Si une telle interaction existait chez les rats VDN / Pio+, on pourrait s'attendre à une différence d'effet du traitement Pio selon qu'il ait été initié à J₁ (au moment de la mise en place des effets de la vitamine D₃) ou à J₁₅ (au moment où les effets de la vitamine D₃ (élastocalcinose et rigidité) sont installés, Thorin et coll., 1990 ; Henrion et coll., 1991b ; Kieffer et coll., 2000). Ceci

n'est pas le cas dans notre étude puisque les interactions "Pio x durée pio" ne sont jamais significatives.

(3) Il a été montré que la calcification des artères coronaires était corrélée avec l'hyperglycémie et l'insulino-résistance chez les patients diabétiques (Meigs et coll., 2002 ; Snell-Bergeon et coll., 2003). Ainsi, l'effet anti-calcique de la pioglitazone pourrait être lié à ses effets sur l'insulino-résistance et la tolérance au glucose. Cependant, dans la présente étude, la glycémie n'est pas modifiée suite aux traitements VDN et Pio. Cependant, il est à noter que les rats n'étaient pas sevrés avant les expérimentations et que l'anesthésie par le pentobarbital augmente la glycémie (Vera et coll., 2002). Il est donc difficile ici de conclure à une relation entre effet anti-calcique et effet anti-diabétique de la pioglitazone.

(4) Enfin, l'effet anti-calcique de la pioglitazone pourrait être dû à un effet anti-inflammatoire. Dans le modèle VDN, la calcification pariétale aortique est initiée par le recrutement de cellules S-100+ et le dépôt extracellulaire de calciprotéines S-100 (Niederhoffer et coll., 1997a). Comme la pioglitazone diminue le recrutement de macrophages dans la paroi coronarienne (Duval et coll., 2002 ; Ishibashi et coll., 2002), il est possible que la pioglitazone puisse diminuer le recrutement d'autres cellules produisant des protéines impliquées dans la calcification pariétale aortique.

Cette hypothèse est renforcée par plusieurs observations : les ligands des PPAR γ inhibent l'expression du gène de l'ostéopontine dans les macrophages (Oyama et coll., 2002), l'ostéopontine étant à la fois une cytokine pro-inflammatoire et une calciprotéine (Denhardt et coll., 2001). De plus, les ligands des PPAR γ diminuent la maturation des ostéoblastes et la calcification matricielle (Jackson et Demer ; 2000).

Cependant, même si cet effet anti-calcique du traitement Pio est important (le rapport de calcification passe de x50 chez les rats VDN / Pio- à x25 chez les rats VDN / Pio+), le taux de calcium de la paroi aortique des rats VDN / Pio+ reste supérieur à 100-300 $\mu\text{mol/g}$ PS. Ce seuil, défini par Fleckenstein et coll. (1987), par des études épidémiologiques chez l'Homme, représente une limite au-delà de laquelle les risques cardiovasculaires associés à la calcification artérielle augmentent. Il est à noter que dans la présente étude, nous évaluons les conséquences physiopathologiques directes de la calcification chez le rat VDN, sans études prospectives de risques à long terme.

Par ailleurs, si l'effet de la pioglitazone était uniquement d'inhiber le dépôt de calcium dans la paroi aortique, on devrait observer une différence significative selon la date d'initiation du traitement, ce qui n'est pas le cas ici ($P_{\text{Pio} \times \text{durée pio}} > 0,05$).

Finalement, l'effet bénéfique du traitement Pio est plus prononcé sur l'indice de rigidité ME/CP (qui retrouve des valeurs proches de celles des rats Non-VDN) que sur le taux de calcium. Ceci est confirmé par les corrélations ME/CP *versus* taux de calcium montrant que, pour un même niveau de calcification, les rats VDN / Pio+ présentent une moindre rigidité (Figure 25B). Ceci suggère que le traitement Pio a un effet bénéfique sur la rigidité plus subtil qu'une simple inhibition de la calcification artérielle.

IV.1.2 - Pioglitazone, lames élastiques et inflammation

L'effet bénéfique de la pioglitazone sur la rigidité pariétale aortique pourrait passer par des modifications de géométrie et/ou de composition de la paroi artérielle (autre que celle du taux de calcium). En ce qui concerne la géométrie, le traitement Pio semble limiter la dilatation aortique chez les rats VDN, en rapport avec la moindre dégradation du réseau élastique, Figure 11) mais sans pour autant avoir de conséquences sur la contrainte pariétale, déterminant important des propriétés élastiques.

Pour ce qui est de l'impact d'éventuels changements de la composition pariétale sur la rigidité, fibrose et œdème peuvent être écartés, aussi bien chez les rats VDN / Pio- que chez les rats VDN / Pio+. Seul le taux de protéines totales diminue chez les rats VDN mais ceci peut s'expliquer par le poids relativement plus important occupé par le calcium dans la paroi.

Reste donc un impact du traitement Pio sur les lames élastiques. Ceci est mis en évidence lors de l'étude histomorphométrique du réseau élastique médial par la moindre désorganisation et fragmentation des lames élastiques chez les rats VDN / Pio+ (Tableau 3 et Figure 22). Cet effet bénéfique du traitement reste encore à approfondir par un dosage de l'élastine dans la paroi aortique (évaluée par dosage des desmosines, acides aminés

spécifiques du pontage de l'élastine, par électrophorèse capillaire de zone, Giummelly et coll., 1995 ; Niederhoffer et coll., 1997a).

La protection des lames élastiques suite au traitement Pio pourrait s'expliquer, outre l'effet anti-calcique, par une action anti-inflammatoire de la pioglitazone. Une action anti-inflammatoire des TZD a déjà été démontrée dans d'autres pathologies vasculaires à composante inflammatoire comme l'athérome (Ricote et coll., 1998b ; Duval et coll., 2002 ; Puddu et coll., 2003). Différents mécanismes semblent impliqués. Entre autres, une activation des PPAR γ diminuerait l'expression des MMP (Marx et coll., 1998), enzymes importantes du métabolisme de la MEC.

Il reste à démontrer si un tel phénomène intervient chez le rat VDN et donc dans la MVR, et s'il est lié à un processus inflammatoire mettant en jeu une infiltration macrophagique, une activation/libération de cytokines et une activation de métalloprotéinases. Il faudra également évaluer dans quelle mesure la calcification peut être un élément initiateur du processus inflammatoire. Certains arguments vont dans ce sens : Kieffer et coll. (2001) ont en effet montré une corrélation entre la calcification et l'activation des MMP dans la paroi d'artères coronaires athérosclérotiques humaines.

IV.2 - PIOGLITAZONE, PRESSION PULSEE ET HYPERTROPHIE VENTRICULAIRE

GAUCHE

Malgré ses effets bénéfiques sur la rigidité de la paroi aortique chez le rat VDN, le traitement par la pioglitazone n'induit pas de diminution de la PP centrale et ne réduit pas l'HVG. L'absence d'effet sur la PP est certainement liée à l'effet du traitement Pio sur le diamètre interne. En effet, la PP est déterminée par la compliance aortique, produit de la rigidité pariétale et du volume aortique. Chez le rat VDN / Pio-, l'augmentation du D_i , donc du volume aortique, ne suffit pas à compenser l'augmentation de rigidité et ainsi, la compliance diminue et la PP augmente (Atkinson et coll., 1994 ; Lartaud-Idjouadiene et coll., 1999). Chez le rat VDN / Pio+, la rigidité diminue mais le D_i également : ainsi, la compliance pourrait ne pas être améliorée et la PP reste élevée.

Ces différentes hypothèses reposent sur l'absence de variations du volume d'éjection systolique, ce qui est le cas chez le rat VDN (Atkinson et coll., 1994 ; Lartaud-Idjouadiene et coll., 1999). Ceci reste à démontrer chez le rat VDN / Pio+.

Puisque la PP ne diminue pas suite au traitement Pio, la pression systolique (Tableau 6), et donc la contrainte télésystolique imposée au VG, restent élevées. Ceci peut expliquer l'absence d'effet du traitement Pio sur l'HVG du rat VDN. Dans cette étude, nous avons évalué l'HVG en calculant le rapport VG/PC. Ce rapport aurait pu être diminué chez les rats VDN suite au traitement par la pioglitazone, puisque celui-ci augmente le poids corporel. Il n'en est rien ici, ce qui confirme bien une absence d'effet du traitement Pio sur le cœur. Il est à noter que la prise de poids corporel liée au traitement par la pioglitazone est également rapportée chez l'Homme (Laboratoire Takeda, Actos®, résumé des caractéristiques du produit).

IV.3 - QUEL EST LE MEILLEUR MODELE POUR L'ETUDE DES LIENS ENTRE PPAR γ , INFLAMMATION ET MVR ?

Pour étudier les liens entre PPAR γ , inflammation vasculaire et MVR, deux approches étaient possibles : (1) étudier la MVR dans un modèle d'inflammation chronique et/ou (2) étudier l'inflammation et l'activation des PPAR γ dans un modèle de MVR.

C'est cette dernière approche que nous avons choisie en utilisant le modèle VDN, un des seuls modèles disponibles de MVR en absence d'augmentation de PAM et de contrainte pariétale (Atkinson, 2000) et bien caractérisé et maîtrisé au laboratoire. Dans la présente étude, nous retrouvons d'ailleurs les caractéristiques physiopathologiques de ce modèle, avec calcification et dégradation des lames élastiques, rigidité pariétale aortique, élévation de PP et HVG (Henrion et coll., 1991b ; Niederhoffer et coll., 1997a ; Lartaud-Idjouadiene et coll., 1999 ; Marque et coll., 2001a).

Chez le rat VDN, la MVR est déterminée uniquement par la calcification et la dégradation des lames élastiques et notre travail montre que le traitement Pio réduit cette MVR par un effet anti-calcique et peut-être anti-inflammatoire (qui reste à démontrer).

Il existe d'autres déterminants de la MVR, tels que la glycation des scléroprotéines (Huijberts et coll., 1993 ; Cantini et coll., 2001 ; Kass et coll., 2001), ou la fibrose (Deyl et coll., 1987 ; Benetos et coll., 1997a). Il conviendrait donc d'étudier les liens entre PPAR γ , inflammation vasculaire et rigidité pariétale aortique dans d'autres modèles de MVR.

A l'inverse, il serait opportun de vérifier la présence d'une rigidité pariétale aortique chez le rat Lewis polyarthritique (Wiesenberg et coll., 1989), tel que cela a été décrit chez l'Homme souffrant de polyarthrite rhumatoïde par Wong et ses collaborateurs (2003). Le cas échéant, la description des événements conduisant à la mise en place de la MVR et le rôle joué par ses différents déterminants pourrait se révéler particulièrement intéressante.

Pour tous ces modèles, il sera nécessaire d'appréhender l'impact de traitements par les TZD ou par d'autres thérapeutiques à visée anti-inflammatoire, sur l'enchaînement infiltration macrophagique, activation/libération de cytokines, activation de métalloprotéinases et métabolisme de la matrice extracellulaire.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

La présente étude montre qu'un traitement chronique par la pioglitazone, en activant les PPAR γ , restaure les propriétés élastiques de la paroi aortique dans un modèle normotendu de MVR. Cet effet passe par une réduction partielle de la calcification et surtout par une protection des lames élastiques contre la désorganisation et la fragmentation.

Cependant, si nous avons montré les effets bénéfiques de l'activation des PPAR γ par la pioglitazone sur plusieurs déterminants physiopathologiques de la MVR, plusieurs aspects restent encore à approfondir :

- explorer les raisons pour lesquelles la pioglitazone n'a pas d'effet sur les conséquences de la MVR (PP et HVG),
- montrer que l'effet des PPAR γ sur la MVR passe, au moins pour partie, *via* la modulation d'un processus inflammatoire,
- détailler, le cas échéant, les liens existant entre inflammation vasculaire, calcification et dégradation du réseau élastique en appréhendant notamment l'impact de traitements par les TZD sur l'enchaînement infiltration macrophagique, activation/libération de cytokines, activation de MMP, métabolisme de la MEC et conséquences en terme de MVR,
- explorer le mécanisme protecteur de la pioglitazone vis-à-vis du réseau élastique.

Il pourrait être intéressant d'orienter ultérieurement nos études vers d'autres modèles animaux. Ainsi, nous envisageons également d'étudier les effets de la pioglitazone dans un autre modèle de MVR et d'anévrisme, la souris mgR/mgR (modèle du syndrome de Marfan, Marque et coll., 2001b) ainsi que dans un modèle d'inflammation systémique (par exemple, induction de polyarthrite chez le rat de souche Lewis, plus sensible au processus inflammatoire, en collaboration avec le Pr Pierre Gillet, UMR 7561 "Physiopathologie et Pharmacologie Articulaires") et de vérifier la présence de MVR dans ce modèle.

Ce travail de thèse ouvre des perspectives cliniques intéressantes pour l'utilisation de la pioglitazone chez la personne âgée. Au-delà de ses propriétés anti-diabétiques, il serait en effet opportun de vérifier chez l'Homme les effets protecteurs de la pioglitazone vis-à-vis des effets cardiovasculaires du calcium ainsi que dans le cadre de la perte osseuse dans l'ostéoporose.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

AMIN F, NIEDERHOFFER N, TATCHUM-TALOM R, MAKKI T, GUILLOU J, TANKOSIC P, ATKINSON J.

A new technique for study of impact of arterial elasticity on left ventricular mass in rats. *Am J Physiol.* 1996 ; **270** : H981-H987.

APTER JT.

Correlation of visco-elastic properties with microscopic structure of large arteries. IV. Thermal responses of collagen, elastin, smooth muscle, and intact arteries.

Circ Res. 1967 ; **21** (6) : 901-918.

ARMENTANO R, MEGNIEN JL, SIMON A, BELLENFANT F, BARRA J, LEVENSON J.

Effects of hypertension on viscoelasticity of carotid and femoral arteries in humans.

Hypertension. 1995 ; **26** (1) : 48-54.

ATKINSON J.

Vascular calcium overload. Physiological and pharmacological consequences.

Drugs. 1992 ; **44** : 111-118.

ATKINSON J.

Arterial calcification. Mechanisms, consequences and animal models.

Pathol Biol (Paris). 1999 ; **47** (7) : 677-684.

ATKINSON J.

Animal models of large artery wall stiffness.

Fourth International Workshop on Structure and Fonction of Large Arteries. 26-28 April 2001, Paris.

ATKINSON J, POITEVIN P, CHILLON JM, LARTAUD I, LEVY B.

Vascular Ca overload produces by vitamin D₃ plus nicotine diminishes arterial distensibility in rats.

Am J Physiol. 1994 ; **266** (35) : H540-H547.

BARGER PM, BRANDT JM, LEONE TC, WEINHEIMER CJ, KELLY DP.

Deactivation of peroxisome proliferator-activated receptor- α during cardiac hypertrophic growth.

J Clin Invest. 2000 ; **105** (12) : 1723-1730.

BARROSO I, GURNELL M, CROWLEY VE, AGOSTINI M, SCHWABE JW, SOOS MA, MASLEN GL, WILLIAMS TD, LEWIS H, SCHAFFER AJ, CHATTERJEE VK, O'RAHILLY S.

Dominant negative mutations in human PPAR γ associated with severe insulin resistance, diabetes mellitus and hypertension.

Nature. 1999 ; **402** (6764) : 880-883.

BAZZET HC, DREYER NB.

Measurements of pulse wave velocity.

Am J Physiol. 1922 ; **63** : 94-116.

BEAMER BA, YEN CJ, ANDERSEN RE, MULLER D, ELAHI D, CHESKIN LJ, ANDRES R, ROTH J, SHULDINER AR.

Association of the Pro12Ala variant in the peroxisome proliferator-activated receptor- γ 2 gene with obesity in two Caucasian populations.

Diabetes. 1998 ; **47** (11) : 1806-1808.

BENETOS A, LACOLLEY P, SAFAR ME.

Prevention of aortic fibrosis by spironolactone in spontaneously hypertensive rats.

Arterioscler Thromb Vasc Biol. 1997a ; **17** (6) : 1152-1156.

BENETOS A, SAFAR M, RUDNICH A, SMULYAN H, RICHARD JL, DUCIMETIEERE P, GUIZE L.

Pulse pressure: a predictor of long-term cardiovascular mortality in a French male population.
Hypertension. 1997b ; **30** (6) : 1410-1415.

BERGEL DH.

The static elastic properties of the arterial wall.
J Physiol. 1961 ; **156** : 445-457.

BERGER DS, LI JK.

Concurrent compliance reduction and increased peripheral resistance in the manifestation of isolated systolic hypertension.
Am J Cardiol. 1990 ; **65** (1) : 67-71.

BERNDT J, GAUMERT R, STILL J.

Mode of action of the lipid-lowering agents, clofibrate and BM 15075, on cholesterol biosynthesis in rat liver.
Atherosclerosis. 1978 ; **30** (2) : 147-152.

BISHOP-BAILEY D.

Peroxisome proliferator-activated receptors in the cardiovascular system.
Br J Pharmacol. 2000 ; **129** (5) : 823-834.

BLACHER J, ASMAR R, DJANE S, LONDON GM, SAFAR ME.

Aortic pulse wave velocity as a marker of cardiovascular risk in hypertensive patients.
Hypertension. 1999 ; **33** : 1111-1117.

BLANQUART C, BARBIER O, FRUCHART JC, STAELS B, GLINEUR C.

Peroxisome proliferator-activated receptors: regulation of transcriptional activities and roles in inflammation.
J Steroid Biochem Mol Biol. 2003 ; **85** (2-5) : 267-273.

BOOTH AD, WALLACE S, MCENIERY CM, YASMIN, BROWN J, JAYNE DR, WILKINSON IB.

Inflammation and arterial stiffness in systemic vasculitis: a model of vascular inflammation.
Arthritis Rheum. 2004 ; **50** (2) : 581-588.

BOUISSOU H, PIERAGGI MT, JULIAN M.

Variations morphologiques liées à l'âge.
Les maladies de la paroi artérielle.
1997 ; Flammarion Médecine-Sciences, Paris : 60-66.

BOUTHIER JD, DE LUCA N, SAFAR ME, SIMON AC.

Cardiac hypertrophy and arterial distensibility in essential hypertension.
Am Heart J. 1985 ; **109** (6) : 1345-1352.

BOUTOUYRIE P, BUSSY C, LACOLLEY P, GIRERD X, LALOUX B, LAURENT S.

Association between local pulse pressure, mean blood pressure, and large-artery remodeling.
Circulation. 1999 ; **100** (13) : 1387-1393.

BRADFORD M.

A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding.
Anal Biochem. 1976 ; **72** : 248-254.

BRAISSANT O, FOUFELLE F, SCOTTO C, DAUCA M, WAHLI W.

Differential expression of peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs): tissue distribution of PPAR-alpha, -beta, and -gamma in the adult rat.

Endocrinology. 1996 ; **137** (1) : 354-366.

BUCHANAN T, MEEHAN WP, JENG YY, YANG D, CHAN TM, NADLER JL, SCOTT S, RUDE RK, HSUEH WA.

Blood pressure lowering by pioglitazone. Evidence for a direct vascular effect.

J Clin Invest. 1995 ; **96** (1) : 354-360.

BULCKAEN H, PUISIEUX F.

Rôle de la glycation non-enzymatique dans le vieillissement artériel.

Age Nutr. 2003 ; **14** (3) : 183-186.

BURTON AC.

Relation of structure to function of the tissues of the wall of blood vessels.

Physiol. Rev. 1954 ; **34** : 619-642.

CABRERO A, LAGUNA JC, VAZQUEZ M.

Peroxisome proliferator-activated receptors and the control of inflammation.

Curr Drug Targets Inflamm Allergy. 2002 ; **1** (3) : 243-248.

CAMP HS, LI O, WISE SC, HONG YH, FRANKOWSKI CL, SHEN X, VANBOGELEN R, LEFF T.

Differential activation of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma by troglitazone and rosiglitazone.

Diabetes. 2000 ; **49** (4) : 539-547.

CASTILLO G, BRUN RP, ROSENFELD JK, HAUSER S, PARK CW, TROY AE, WRIGHT ME, SPIEGELMAN BM.

An adipogenic cofactor bound by the differentiation domain of PPARgamma.

EMBO J. 1999 ; **18** (13) : 3676-3687.

CANTINI C, KIEFFER P, CORMAN B, LIMINANA P, ATKINSON J, LARTAUD-IDJOUADIENE I.

Aminoguanidine and aortic wall mechanics, structure, and composition in aged rats.

Hypertension. 2001 ; **38** (4) : 943-948.

CHAWLA A, BARAK Y, NAGY L, LIAO D, TONTONOZ P, EVANS RM.

PPAR-gamma dependent and independent effects on macrophage-gene expression in lipid metabolism and inflammation.

Nat Med. 2001 ; **7** (1) : 48-52.

CHINETTI G, FRUCHART JC, STAELS B

Peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs): nuclear receptors with functions in the vascular wall.

Z Kardiol. 2001 ; **90** (Suppl 3) : 125-132.

CHINETTI G, FRUCHART JC, STAELS B.

Peroxisome proliferator-activated receptors and inflammation: from basic science to clinical applications.

Int J Obes Relat Metab Disord. 2003 ; **27** : S41-S45.

- CLARK J, GLAGOV S.
Transmural organization of the arterial media. The lamellar unit revisited.
Arteriosclerosis. 1985 ; **5** : 19-34.
- CORMAN B, DURIEZ M, POITEVIN P, HEUDES D, BRUNEVAL P, TEDGUI A, LEVY BI.
Aminoguanidine prevents age-related arterial stiffening and cardiac hypertrophy.
Proc Natl Acad Sci U S A. 1998 ; **95** (3) : 1301-1306.
- COX RH.
Comparison of arterial wall mechanics in normotensive and spontaneously hypertensive rats.
Am J Physiol. 1979 ; **237** (2) : H159-H167.
- DART AM, KINGWELL BA.
Pulse pressure – A review of mechanisms and clinical relevance.
J Am Coll Cardiol. 2001 ; **37** (4) : 975-984.
- DAYNES RA, JONES DC.
Emerging roles of PPARs in inflammation and immunity.
Nat Rev Immunol. 2002 ; **2** (10) : 748-759.
- DEBRIL MB, RENAUD JP, FAJAS L, AUWERX J.
The pleiotropic functions of peroxisome proliferator-activated receptor gamma.
J Mol Med. 2001 ; **79** (1) : 30-47.
- DE FAIRE U, ERICSSON CG, GRIP L, NILSSON J, SVANE B, HAMSTEN A.
Retardation of coronary atherosclerosis: the Bezafibrate Coronary Atherosclerosis Intervention Trial (BECAIT) and other angiographic trials.
Cardiovasc Drugs Ther. 1997 ; **11** : 257-263.
- DELERIVE P, MARTIN-NIZARD F, CHINETTI G, TROTTEIN F, FRUCHART JC, NAJIB J, DURIEZ P, STAELS B.
Peroxisome proliferator-activated receptor activators inhibit thrombin-induced endothelin-1 production in human vascular endothelial cells by inhibiting the activator protein-1 signaling pathway.
Circ Res. 1999a ; **85** (5) : 394-402.
- DELERIVE P, DE BOSSCHER K, BESNARD S, VANDEN BERGHE W, PETERS JM, GONZALEZ FJ, FRUCHART JC, TEDGUI A, HAEGEMAN G, STAELS B.
Peroxisome proliferator-activated receptor alpha negatively regulates the vascular inflammatory gene response by negative cross-talk with transcription factors NF-kappaB and AP-1.
J Biol Chem. 1999b ; **274** (45) : 32048-32054.
- DENHARDT DT, NODA M, O'REGAN AW, PAVLIN D, BERMAN JS.
Osteopontin as a means to cope with environmental insults: regulation of inflammation, tissue remodeling, and cell survival.
J Clin Invest. 2001 ; **107** (9) : 1055-1061.
- DEVCHAND PR, KELLER H, PETERS JM, VAZQUEZ M, GONZALEZ FJ, WAHLI W.
The PPARalpha-leukotriene B4 pathway to inflammation control.
Nature. 1996 ; **384** (6604) : 39-43.
- DEYL Z, JELINEK L, MACEK K, CHALDAKOV G, VANKOV VN.
Collagen and elastin synthesis in the aorta of spontaneously hypertensive rats.
Blood Vessels. 1987 ; **24** : 313-320.

DIEP QN, AMIRI F, TOUYZ RM, COHN JS, ENDEMANN D, NEVES MF, SCHIFFRIN EL.
PPARalpha activator effects on Ang II-induced vascular oxidative stress and inflammation.
Hypertension. 2002 ; **40** (6) : 866-871.

DOBRIAN AD, SCHRIVER SD, KHRAIBI AA, PREWITT RL.
Pioglitazone prevents hypertension and reduces oxidative stress in diet-induced obesity.
Hypertension. 2004 ; **43** (1) : 48-56.

DOBRIN PB.
Mechanical properties of arteries.
Physiol Rev. 1978 ; **58** (2) : 397-460.

DOBRIN PB, ROVICK AA.
Influence of vascular smooth muscle on contractile mechanics and elasticity of arteries.
Am J Physiol. 1969 ; **217** (6) : 1644-1651.

DURAN-SANDOVAL D, THOMAS AC, BAILLEUL B, FRUCHART JC, STAELS B.
Pharmacologie des agonistes de PPAR α et PPAR γ et des activateurs PPAR α/γ mixtes en développement clinique.
Med Sci (Paris). 2003 ; **19** (8-9) : 819-825.

DUVAL C, CHINETTI G, TROTTEIN F, FRUCHART JC, STAELS B.
The role of PPARs in atherosclerosis.
Trends Mol Med. 2002 ; **8** (9) : 422-430.

DUVIVIER C, PESLIN R, HANNHART B.
Techniques de mesures de pression, débit et volume en exploration fonctionnelle respiratoire.
Rev Mal Resp. 1986 ; **3** : 449-456.

EINHORN D, RENDELL M, ROSENZWEIG J, EGAN JW, MATHISEN AL, SCHNEIDER RL.
Pioglitazone hydrochloride in combination with metformin in the treatment of type 2 diabetes mellitus: a randomized, placebo-controlled study. The Pioglitazone 027 Study Group.
Clin Ther. 2000 ; **22** (12) : 1395-1409.

ELLIOTT RJ, MCGRATH LT.
Calcification of the human thoracic aorta during aging.
Calcif Tissue Int. 1994 ; **54** (4) : 268-273.

ESCRIVA H, DELAUNAY F, LAUDET V.
Ligand binding and nuclear receptor evolution.
Bioessays. 2000 ; **22** (8) : 717-727.

ESSALIHI R, DAO HH, YAMAGUCHI N, MOREAU P.
A new model of isolated systolic hypertension induced by chronic warfarin and vitamin K1 treatment.
Am J Hypertens. 2003 ; **16** (2) : 103-110.

FLECKENSTEIN A.
Verwendung von Calciumantagonisten bei der Prophylaxe und Behandlung von nikotinbedingten Schäden der Herz-und Gefäßmuskulatur.
Deutsches Patentamt, anmelderner 1985. 1985 ; **1980017** : 1-9.

- FLECKENSTEIN A, FREY M, FLECKENSTEIN-GRUN G.
Protection by calcium antagonists against experimental arterial calcinosis.
Secondary Prevention of Coronary Heart Disease, Workshop of the International Society and Federation of Cardiology.
1983 ; Pyörälä K, Georg Thieme Verlag, New-York : 109-122.
- FLECKENSTEIN A, FREY M, ZORN J, FLECKENSTEIN-GRUN G.
The role of calcium in the pathogenesis of experimental arteriosclerosis.
Trends Pharmacol Sci. 1987 ; **8** (12) : 496-501.
- FOLKOW B, SVANBORG A.
Physiology of cardiovascular aging.
Physiol Rev. 1993 ; **73** (4) : 725-764.
- FRICK MH, SYVANNE M, NIEMINEN MS, KAUMA H, MAJAHALME S, VIRTANEN V, KESANIEMI YA, PASTERNAK A, TASKINEN MR.
Prevention of the angiographic progression of coronary and vein-graft atherosclerosis by gemfibrozil after coronary bypass surgery in men with low levels of HDL cholesterol. Lipid Coronary Angiography Trial (LOCAT) Study Group.
Circulation. 1997 ; **96** (7) : 2137-2143.
- FUJIWARA T, HORIKOSHI H.
Troglitazone and related compounds: therapeutic potential beyond diabetes.
Life Sci. 2000 ; **67** (20) : 2405-2416.
- FUKUNAGA Y, ITOH H, DOI K, TANAKA T, YAMASHITA J, CHUN TH, INOUE M, MASATSUGU K, SAWADA N, SAITO T, HOSODA K, KOOK H, UEDA M, NAKAO K.
Thiazolidinediones, peroxisome proliferator-activated receptor gamma agonists, regulate endothelial cell growth and secretion of vasoactive peptides.
Atherosclerosis. 2001 ; **158** (1) : 113-119.
- GABALLA MA, JACOB CT, RAYA TE, LIU J, SIMON B, GOLDMAN S.
Large artery remodeling during aging: biaxial passive and active stiffness.
Hypertension. 1998 ; **32** (3) : 437-443.
- GALLI A, CRABB DW, CENI E, SALZANO R, MELLO T, SVEGLIATI-BARONI G, RIDOLFI F, TROZZI L, SURRENTI C, CASINI A.
Antidiabetic thiazolidinediones inhibit collagen synthesis and hepatic stellate cell activation in vivo and in vitro.
Gastroenterology. 2002 ; **122** (7) : 1924-1940.
- GASTEYGER C, TREMBLAY A.
Metabolic impact of body fat distribution.
Endocrinol Invest. 2002 ; **25** (10) : 876-883.
- GERSTENBLITH G, LAKATTA EG, WEISFELDT ML.
Age changes in myocardial function and exercise response.
Prog Cardiovasc Dis. 1976 ; **19** (1) : 1-21.
- GERVOIS P, FRUCHART JC.
PPAR γ : un récepteur nucléaire majeur de l'adipogénèse.
Med Sci (Paris). 2003 ; **19** (1) : 20-22.

GHAZZI MN, PEREZ JE, ANTONUCCI TK, DRISCOLL JH, HUANG SM, FAJA BW, WHITCOMB RW.

Cardiac and glycemic benefits of troglitazone treatment in NIDDM. The Troglitazone Study Group. *Diabetes*. 1997 ; **46** (3) : 433-439.

GHUYSEN JM, STROMINGER JL.

Structure of the cell wall of *Staphylococcus aureus*, strain Copenhagen. I. Preparation of fragments by enzymatic hydrolysis.

Biochemistry. 1963 ; **5** : 1110-1119.

GILDE AJ, VAN DER LEË KA, WILLEMSSEN PH, CHINETTI G, VAN DER LEIJ FR, VAN DER VUSSE GJ, STAELS B, VAN BILSEN M.

Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) alpha and PARbeta/delta, but not PPARgamma, modulate the expression of genes involved in cardiac lipid metabolism.

Circ Res. 2003 ; **92** (5) : 518-524.

GILLIES PS, DUNN CJ.

Pioglitazone.

Drugs. 2000 ; **60** : 333-345.

GIUMMELLY P, BOTTON B, FRIOT R, PRIMA-PUTRA D, ATKINSON J.

Measurement of desmosine and isodesmosine by capillary zone electrophoresis.

J Chromatogr A. 1995 ; **710** : 357-360.

GIUMMELLY P, COLAS T, ATKINSON J, ROBERT A, DALY C, LUO D, MCGRATH IC.

Fluorescence of the medial aortic elastic lamella in elastocalcinotic rats.

N S Arch. Pharmacol. 1998 ; **358**, R218. (abstract)

GONZALEZ FJ.

Recent update on the PPAR alpha-null mouse.

Biochimie. 1997 ; **79** (2-3) : 139-144.

HANSSON L.

J curve relation between diastolic blood pressure and myocardial infarction.

BMJ. 1989 ; **298** (6665) : 52.

HASS GM, TRUEHEART RE, TAYLOR CB, STUMPE M.

An experimental histologic study of hypervitaminosis D.

Am J Pathol. 1958 ; **34** : 395-431.

HAUSER S, ADELMANT G, SARRAF P, WRIGHT HM, MUELLER E, SPIEGELMAN BM.

Degradation of the peroxisome proliferator-activated receptor gamma is linked to ligand-dependent activation.

J Biol Chem. 2000 ; **275** (24) : 18527-18533.

HAYOZ D, RUTSCHMANN B, PERRET F, NIEDERBERGER M, TARDY Y, MOOSER V, NUSSBERGER J, WAEBER B, BRUNNER HR.

Conduit artery compliance and distensibility are not necessarily reduced in hypertension.

Hypertension. 1992 ; **20** (1) : 1-6.

HEDRICH HJ.

History, strains and models.

The Laboratory Rat. 2000 ; Academic Press, London.

HENRION D, CHILLON JM, CAPDEVILLE-ATKINSON C, VINCENEUX-FEUGIER M, ATKINSON J.

Chronic treatment with the angiotensin I converting enzyme inhibitor, perindopril, protects in vitro carbachol-induced vasorelaxation in a rat model of vascular calcium overload.

Br J Pharmacol. 1991a ; **104** (4) : 966-972.

HENRION D, CHILLON JM, GODEAU G, MULLER F, CAPDEVILLE-ATKINSON C, HOFFMAN M, ATKINSON J.

The consequences of aortic calcium overload following vitamin D₃ plus nicotine treatment in young rats.

J Hypertens. 1991b ; **9** (10) : 919-926.

HIDA Y, KAWADA T, KAYAHASHI S, ISHIHARA T, FUSHIKI T.

Counteraction of retinoic acid and 1,25-dihydroxyvitamin D₃ on up-regulation of adipocyte differentiation with PPAR γ ligand, an antidiabetic thiazolidinedione, in 3T3-L1 cells.

Life Sciences. 1998 ; **62** (14) : 205-211.

HOEKS AP, RUISSEN CJ, HICK P, RENEMAN RS.

Transcutaneous detection of relative changes in artery diameter.

Ultrasound Med Biol. 1985 ; **11** (1) : 51-59.

HORNEBECK W, ADNET JJ, ROBERT L.

Age dependent variation of elastin and elastase in aorta and human breast cancers.

Exp Gerontol. 1978 ; **13** (5) : 293-298.

HOUSEKNECHT KL, COLE BM, STEELE PJ.

Peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR γ) and its ligands : a review.

Domest Anim Endocrinol. 2002 ; **22** (1) : 1-23.

HSUEH WA, LAW RE.

PPAR γ and atherosclerosis: effects on cell growth and movement.

Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2001 ; **21** (12) : 1891-1895.

HUIJBERTS MS, WOLFFENBUTTEL BH, BOUDIER HA, CRIJNS FR, KRUSEMAN AC, POITEVIN P, LEVY BI.

Aminoguanidine treatment increases elasticity and decreases fluid filtration of large arteries from diabetic rats.

J Clin Invest. 1993 ; **92** (3) : 1407-1411.

HUIN C, CORRIVEAU L, BIANCHI A, KELLER JM, COLLET P, KREMARIK-BOUILLAUD P, DOMENJOUR L, BECUWE P, SCHOHN H, MENARD D, DAUCA M.

Differential expression of peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) in the developing human fetal digestive tract.

J Histochem Cytochem. 2000 ; **48** (5) : 603-611.

IGLARZ M, TOUYZ RM, AMIRI F, LAVOIE MF, DIEP QN, SCHIFFRIN EL.

Effect of peroxisome proliferator-activated receptor-alpha and -gamma activators on vascular remodeling in endothelin-dependent hypertension.

Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2003 ; **23** (1) : 45-51.

INOUE I, HAYASHI K, YAGASAKI F, NAKAMURA K, MATSUNAGA T, XU H, INUKAI K, AWATA T, KOMODA T, KATAYAMA S.

Apoptosis of endothelial cells may be mediated by genes of peroxisome proliferator-activated receptor gamma 1 (PPARgamma 1) and PPARalpha genes.

J Atheroscler Thromb. 2003 ; **10** (2) : 99-108.

ISHIBASHI M, EGASHIRA K, HIASA K, INOUE S, NI W, ZHAO Q, USUI M, KITAMOTO S, ICHIKI T, TAKESHITA A.

Antiinflammatory and antiarteriosclerotic effects of pioglitazone.

Hypertension. 2002 ; **40** (5) : 687-693.

ISSEMANN I, GREEN S.

Activation of a member of the steroid hormone receptor superfamily by peroxisome proliferators.

Nature. 1990 ; **347** (6295) : 709-710.

JACKSON SM, DEMER LL.

Peroxisome proliferator-activated receptor activators modulate the osteoblastic maturation of MC3T3-E1 preosteoblasts.

FEBS Lett. 2000 ; **471** (1) : 119-124.

JIANG C, TING AT, SEED B.

PPAR-gamma agonists inhibit production of monocyte inflammatory cytokines.

Nature. 1998 ; **391** (6662) : 82-86.

KANE J, STERNHEIM M.

Physique. Adaptation de Delmelle M, Evrard R, Schmit J Vigneron JP.

1986 ; Interédition, Paris.

KANNEL WB.

Prevalence and implications of uncontrolled systolic hypertension.

Drugs Aging. 2003 ; **20** (4) : 277-286.

KANNEL WB, DAWBER TR, McGEE DL.

Perspectives on systolic hypertension. The Framingham study.

Circulation. 1980 ; **61** (6) : 1179-1182.

KASS DA, SHAPIRO EP, KAWAGUCHI M, CAPRIOTTI AR, SCUTERI A, DEGROOF RC, LAKATTA EG.

Improved arterial compliance by a novel advanced glycation end-product crosslink breaker.

Circulation. 2001 ; **104** (13) : 1464-1470.

KATO K, SATOH H, ENDO Y, YAMADA D, MIDORIKAWA S, SATO W, MIZUNO K, FUJITA T, TSUKAMOTO K, WATANABE T.

Thiazolidinediones down-regulate plasminogen activator inhibitor type 1 expression in human vascular endothelial cells: A possible role for PPARgamma in endothelial function.

Biochem Biophys Res Commun. 1999 ; **258** (2) : 431-435.

KIEFFER P, ROBERT A, CAPDEVILLE-ATKINSON C, ATKINSON J, LARTAUD-IDJOUADIENE I.

Age-related calcification in rats.

Life Sciences. 2000 ; **66** (24) : 2371-2381.

KIEFFER P, GIUMMELLY P, SCHJOTH B, CARTEAUX JP, VILLEMOT JP, HORNEBECK W, ATKINSON J.

Activation of metalloproteinase-2, loss of matrix scleroprotein content and coronary artery calcification.

Atherosclerosis. 2001 ; **157** : 251-254.

KINGSLEY K, CARROLL K, HUFF JL, PLOPPER GE.

Photobleaching of arterial autofluorescence for immunofluorescence applications.

Biotechniques. 2001 ; **30** (4) : 794-797.

KLIEWER SA, SUNDSETH SS, JONES SA, BROWN PJ, WISELY GB, KOBLE CS, DEVCHAND P, WAHLI W, WILLSON TM, LENHARD JM, LEHMANN JM.

Fatty acids and eicosanoids regulate gene expression through direct interactions with peroxisome proliferator-activated receptors alpha and gamma.

Proc Natl Acad Sci U S A. 1997 ; **94** (9) : 4318-4323.

LABORATOIRE TAKEDA

ACTOS®, Résumé des caractéristiques du produit.

Dossier technique pour les pharmaciens hospitaliers. 2002.

LACOLLEY P, JACOB MP, OSBOURNE-PELLEGRIN M, MICHEL JB.

Matrice extracellulaire et remodelage vasculaire.

Biologie et pathologie du cœur et des vaisseaux.

2002a ; Flammarion Médecine-Sciences, Paris : 409-418.

LACOLLEY P, LAURENT S, CHALLANDE P, BOUTOUYRIE P.

Méthodes d'exploration fonctionnelle des gros troncs artériels.

Biologie et pathologie du cœur et des vaisseaux.

2002b ; Flammarion Médecine-Sciences, Paris : 427-433.

LAEMMLI EK.

Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4.

Nature. 1970 ; **227** : 680-685.

LAKATTA EG, MITCHELL JH, POMERANCE A, ROWE GG.

Human aging: changes in structure and function.

J Am Coll Cardiol. 1987 ; **10** : 42A-47A.

LARTAUD-IDJOUADIENE I, LOMPRES AM, KIEFFER P, COLAS T, ATKINSON J.

Cardiac consequences of prolonged exposure to an isolated increase in aortic stiffness.

Hypertension. 1999 ; **34** (1) : 63-69.

LATHAM RD, WESTERHOF N, SIPKEMA P, RUBAL BJ, REUDERINK P, MURGO JP.

Regional wave travel and reflections along the human aorta: a study with six simultaneous micromanometric pressures.

Circulation. 1985 ; **72** (6) : 1257-1269.

LAURENT S.

Arterial wall hypertrophy and stiffness in essential hypertensive patients.

Hypertension. 1995 ; **26** (2) : 355-362.

LAURENT S, TROPEANO AI, LILLO-LELOUET A, JONDEAU G, LALOUX B, BOUTOUYRIE P.

Local pulse pressure is a major determinant of large artery remodelling.
Clin Exp Pharmacol Physiol. 2001 ; **28** (12) : 1011-1014.

LAURENT S, KATSAHIAN S, FASSOT C, TROPEANO AI, GAUTIER I, LALOUX B, BOUTOUYRIE P.

Aortic stiffness is an independent predictor of fatal stroke in essential hypertension.
Stroke. 2003 ; **34** (5) : 1203-1206.

LEAROYD BM, TAYLOR MG.

Alterations with age in the viscoelastic properties of human arterial walls.
Circ Res. 1966 ; **18** (3) : 278-292.

LEHMANN ED, HOPKINS KD, RAWESH A, JOSEPH RC, KONGOLA K, COPPACK SW, GOSLING RG.

Relation between number of cardiovascular risk factors/events and noninvasive Doppler ultrasound assessments of aortic compliance.
Hypertension. 1998 ; **32** (3) : 565-569.

LESTAVEL S, CHINETTI G, BOCHER V, FRUCHART JC, CLAVEY V, STAELS B.

PPAR (peroxisome proliferator-activated receptors) et paroi vasculaire : implications dans l'athérosclérose.
Med Sci (Paris). 2001 ; **17** (5) : 637-642.

LEUNG DY, GLAGOV S, MATHEWS MB.

Cyclic stretching stimulates synthesis of matrix components by arterial smooth muscle cells in vitro.
Science. 1976 ; **191** (4226) : 475-477.

LEVY BI, BENESSIANO J, POITEVIN P, SAFAR ME.

Endothelium-dependent mechanical properties of the carotid artery in WKY and SHR.
Circ Res. 1990 ; **66** : 321-328.

LI AC, BROWN KK, SILVESTRE MJ, WILLSON TM, PALINSKI W, GLASS CK.

Peroxisome proliferator-activated receptor gamma ligands inhibit development of atherosclerosis in LDL receptor-deficient mice.
J Clin Invest. 2000 ; **106** (4) : 523-531.

LIU Z, TING CT, ZHU S, YING FCP.

Aortic compliance in human hypertension.
Hypertension. 1986 ; **14** : 129-136.

LLOPIS J, WESTIN S, RICOTE M, WANG Z, CHO CY, KUROKAWA R, MULLEN TM, ROSE DW, ROSENFELD MG, TSIEN RY, GLASS CK, WANG J.

Ligand-dependent interactions of coactivators steroid receptor coactivator-1 and peroxisome proliferator-activated receptor binding protein with nuclear hormone receptors can be imaged in live cells and are required for transcription.
Proc Natl Acad Sci U S A. 2000 ; **97** (8) : 4363-4368.

LONDON GM, COHN JN.

Prognostic application of arterial stiffness: task forces.
Am J Hypertens. 2002 ; **15** (8) : 754-758.

LONDON GM, PANNIER B, GUERIN AP, BLACHER J, MARCHAIS SJ, DARNE B, METIVIER F, ADDA H, SAFAR ME.

Alterations of left ventricular hypertrophy in and survival of patients receiving hemodialysis : follow-up of an interventional study.

J Am Soc Nephrol. 2001 ; **12** : 2759-2767.

MALLAT Z, TEDGUI A.

Apoptose dans le système vasculaire. Mécanismes et fonctions.

Biologie et pathologie du cœur et des vaisseaux.

2002 ; Flammarion Médecine-Sciences, Paris : 307-317.

MANSEN A, GUARDIOLADIAZ H, RAFTER J, BRANTING C, GUSTAFSSON JA.

Expression of the peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) in the mouse colonic mucosa.

Biochem Biophys Res Commun. 1996 ; **222** : 844-851.

MARQUE V, KIEFFER P, ATKINSON J, LARTAUD-IDJOUADIENE I.

Elastic properties and composition of the aortic wall in old spontaneously hypertensive rats.

Hypertension. 1999 ; **34** (3) : 415-422.

MARQUE V, VAN ESSEN H, STRUIJKER-BOUDIER HA, ATKINSON J, LARTAUD-IDJOUADIENE I.

Determination of aortic elastic modulus by pulse wave velocity and wall tracking in a rat model of aortic stiffness.

J Vasc Res. 2001a ; **38** (6) : 546-550.

MARQUE V, KIEFFER P, GAYRAUD B, LARTAUD-IDJOUADIENE I, RAMIREZ F, ATKINSON J.

Aortic wall mechanics and composition in a transgenic mouse model of Marfan syndrome.

Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2001b ; **21** (7) : 1184-1189.

MARQUE V, GRIMA M, KIEFFER P, CAPDEVILLE-ATKINSON C, ATKINSON J, LARTAUD-IDJOUADIENE I.

Withdrawal reveals lack of effect of prolonged antihypertensive treatment on intrinsic aortic wall stiffness in senescent spontaneously hypertensive rats.

Clin Exp Pharmacol Physiol. 2002 ; **29** (10) : 898-904.

MARTIN G, SCHOONJANS K, STAELS B, AUWERX J.

PPARgamma activators improve glucose homeostasis by stimulating fatty acid uptake in the adipocytes.

Atherosclerosis. 1998 ; **137** : S75-80.

MARX N, SCHONBECK U, LAZAR MA, LIBBY P, PLUTZKY J.

Peroxisome proliferator-activated receptor gamma activators inhibit gene expression and migration in human vascular smooth muscle cells.

Circ Res. 1998 ; **83** (11) : 1097-1103.

MARX N, BOURCIER T, SUKHOVA GK, LIBBY P, PLUTZKY J.

PPARgamma activation in human endothelial cells increases plasminogen activator inhibitor type-1 expression: PPARgamma as a potential mediator in vascular disease.

Arterioscler Thromb Vasc Biol. 1999 ; **19** (3) : 546-551.

MEAUME S, BENETOS A, HENRY OF, RUDNICH A, SAFAR ME.

Aortic pulse wave velocity predicts cardiovascular mortality in subjects >70 years of age.

Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2001 ; **21** (12) : 2046-2050.

MEHTA JL, HU B, CHEN J, LI D.

Pioglitazone inhibits LOX-1 expression in human coronary artery endothelial cells by reducing intracellular superoxide radical generation.

Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2003 ; **23** (12) : 2203-2208.

MEIGS JB, LARSON MG, D'AGOSTINO RB, LEVY D, CLOUSE ME, NATHAN DM, WILSON PW, O'DONNELL CJ.

Coronary artery calcification in type 2 diabetes and insulin resistance: the Framingham offspring study.

Diabetes Care. 2002 ; **25** (8) : 1313-1319.

MICHEL JB, HEUDES D, MICHEL O, POITEVIN P, PHILIPPE M, SCALBERT E, CORMAN B, LEVY BI.

Effect of chronic ANG I-converting enzyme inhibition on aging processes. II : Large arteries.

Am J Physiol. 1994 ; **267** : R124-R135.

MILNOR WR.

Hemodynamics. 1989 ; Williams & Wilkins, Baltimore.

MILNOR WR.

Cardiovascular Physiology. 1990 ; Oxford University Press, New York.

MINAMIKAWA J, TANAKA S, YAMAUCHI M, INOUE D, KOSHIYAMA H.

Potent inhibitory effect of troglitazone on carotid arterial wall thickness in type 2 diabetes.

J Clin Endocrinol Metab. 1998 ; **83** (5) : 1818-1820.

MIYAZAKI Y, MAHANKALI A, MATSUDA M, MAHANKALI S, HARDIES J, CUSI K, MANDARINO LJ, DEFRONZO RA.

Effect of pioglitazone on abdominal fat distribution and insulin sensitivity in type 2 diabetic patients.

J Clin Endocrinol Metab. 2002 ; **87** (6) : 2784-2791.

MOLAVI B, RASOULI N, MEHTA JL.

Peroxisome proliferator-activated receptor ligands as antiatherogenic agents: panacea or another Pandora's box?

J Cardiovasc Pharmacol Ther. 2002 ; **7** (1) : 1-8.

MONNIER VM, KOHN RR, CERAMI A.

Accelerated age-related browning of human collagen in diabetes mellitus.

Proc Natl Acad Sci U S A. 1984 ; **81** (2) : 583-587.

MOORE KJ, ROSEN ED, FITZGERALD ML, RANDOW F, ANDERSSON LP, ALTSHULER D, MILSTONE DS, MORTENSEN RM, SPIEGELMAN BM, FREEMAN MW.

The role of PPAR-gamma in macrophage differentiation and cholesterol uptake.

Nat Med. 2001 ; **7** (1) : 41-47.

MULVANY MJ.

Resistance vessel structure and the pathogenesis of hypertension.

J Hypertens Suppl. 1993 ; **11** : S7-S12.

MURGO JP, WESTERHOF N, GIOLMA JP, ALTOBELLI SA.

Aortic input impedance in normal man: relationship to pressure wave forms.

Circulation. 1980 ; **62** (1) : 105-116.

- NAKAMURA Y, OHYA Y, ONAKA U, FUJII K, ABE I, FUJISHIMA M.
Inhibitory action of insulin-sensitizing agents on calcium channels in smooth muscle cells from resistance arteries of guinea-pig.
Br J Pharmacol. 1998 ; **123** (4) : 675-682.
- NEUMAN RE, LOGAN MA.
The determination of collagen and elastin in tissues.
J Biol Chem. 1950 ; **184** : 549-556.
- NEVE BP, FRUCHART JC, STAELS B.
Role of the Peroxisome Proliferator-Activated Receptors (PPAR) in Atherosclerosis.
Biochem Pharmacol. 2000 ; **60** (8) : 1245-1250.
- NICHOLS WW, O'ROURKE MF.
Aging.
McDonald's Blood Flow in Arteries : Theoretical, Experimental and Clinical Principles.
1998 ; Arnold, London : 347-376.
- NICHOLS WW, O'ROURKE MF, AVOLIO AP, YAGINUMA T, MURGO JP, PEPINE CJ, CONTI CR.
Effects of age on ventricular-vascular coupling.
Am J Cardiol. 1985 ; **55** (9) : 1179-1184.
- NIEDERHOFFER N, BOBRY SHEV YV, LARTAUD-IDJOUADIENE I, GIUMMELLY P, ATKINSON J.
Aortic calcification produced by vitamin D₃ plus nicotine.
J Vasc Res. 1997a ; **34** : 386-398.
- NIEDERHOFFER N, MARQUE V, LARTAUD-IDJOUADIENE I, DUVIVIER C, PESLIN R, ATKINSON J.
Vasodilators, aortic elasticity, and ventricular end-systolic stress in nonanesthetized unrestrained rats.
Hypertension. 1997b ; **30** (5) : 1169-1174.
- OHMORI K, EMURA S, TAKASHIMA T.
Risk factors of atherosclerosis and aortic pulse wave velocity.
Angiology. 2000 ; **51** (1) : 53-60.
- OKAZAKI R, TORIUMI M, FUKUMOTO S, MIYAMOTO M, FUJITA T, TANAK K, TAKEUCHI Y.
Thiazolidinediones inhibit osteoclast-like cell formation and bone resorption in vitro.
Endocrinology. 1999 ; **140** (11) : 5060-5065.
- O'ROURKE MF, BLAZEK JV, MORREELS CL JR, KROVETZ LJ.
Pressure wave transmission along the human aorta. Changes with age and in arterial degenerative disease.
Circ Res. 1968 ; **23** (4) : 567-579.
- O'ROURKE MF.
Arterial stiffness, systolic blood pressure, and logical treatment of arterial hypertension.
Hypertension. 1990 ; **15** (4) : 339-347.

O'ROURKE MF, KELLY R, AVOLIO A.
Mechanisms of Abnormal Pulses in Disease.
The Arterial Pulse.
1992 ; Lea & Febiger, London : 146-176.

O'ROURKE MF, STAESSEN JA, VLACHOPOULOS C, DUPREZ D, PLANTE GE.
Clinical applications of arterial stiffness; definitions and reference values.
Am J Hypertens. 2002 ; **15** (5) : 426-444.

OYAMA Y, AKUZAWA N, NAGAI R, KURABAYASHI M.
PPARgamma ligand inhibits osteopontin gene expression through interference with binding of nuclear factors to A/T-rich sequence in THP-1 cells.
Circ Res. 2002 ; **90** (3) : 348-355.

PERSHADSINGH HA.
Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma: therapeutic target for diseases beyond diabetes: quo vadis?
Expert Opin Investig Drugs. 2004 ; **13** (3) : 215-228.

PUDDU P, PUDDU GM, MUSCARI A.
Peroxisome proliferator-activated receptors: are they involved in atherosclerosis progression?
Int J Cardiol. 2003 ; **90** (2-3) : 133-40.

RICOTE M, LI AC, WILLSON TM, KELLY CJ, GLASS CK.
The peroxisome proliferator-activated receptor-gamma is a negative regulator of macrophage activation.
Nature. 1998a ; **391**: 79-82.

RICOTE M, HUANG J, FAJAS L, LI A, WELCH J, NAJIB J, WITZTUM JL, AUWERX J, PALINSKI W, GLASS CK.
Expression of the peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARgamma) in human atherosclerosis and regulation in macrophages by colony stimulating factors and oxidized low density lipoprotein.
Proc Natl Acad Sci U S A. 1998b ; **95** (13) : 7614-7619.

ROACH MR, BURTON AC.
The reason for the shape of the distensibility curves of arteries.
Can J Med Sci. 1957 ; **35** (8) : 681-690.

ROUTH RE, JOHNSON JH, MCCARTHY KJ.
Troglitazone suppresses the secretion of type I collagen by mesangial cells in vitro.
Kidney Int. 2002 ; **61** (4) : 1365-1376.

ROY S.
The elastic properties of the arterial wall.
J Physiol. 1880 ; **3** : 125-159.

RUBINS HB, ROBINS SJ, COLLINS D, FYE CL, ANDERSON JW, ELAM MB, FAAS FH, LINARES E, SCHAEFER EJ, SCHECTMAN G, WILT TJ, WITTES J.
Gemfibrozil for the secondary prevention of coronary heart disease in men with low levels of high-density lipoprotein cholesterol. Veterans Affairs High-Density Lipoprotein Cholesterol Intervention Trial Study Group.
N Engl J Med. 1999 ; **341** (6) : 410-418.

RUCKER RB, FORD D, RIEMANN WG, TOM K.

Additional evidence for the binding of calcium ions to elastin at neutral sites.

Calcif Tissue Res. 1974 ; **14** (4) : 317-325.

RYAN MJ, DIDION SP, MATHUR S, FARACI FM, SIGMUND CD.

PPAR(γ) agonist rosiglitazone improves vascular function and lowers blood pressure in hypertensive transgenic mice.

Hypertension. 2004 ; **43** (3) : 661-666.

SAFAR ME.

Treatment of hypertension based on both systolic and diastolic pressure could influence the cost of therapy.

Cardiovasc Drugs & Therapy. 1989 ; **3** : 841-845.

SAFAR ME, LONDON GM, PLANTE GE.

Arterial stiffness and kidney function.

Hypertension. 2004 ; **43** (2) : 163-168.

SCHIFFRIN EL, AMIRI F, BENKIRANE K, IGLARZ M, DIEP QN.

Peroxisome proliferator-activated receptors: vascular and cardiac effects in hypertension.

Hypertension. 2003 ; **42** (4) : 664-668.

SCHOHN H, HUIN C, PASSILLY-DEGRACE P, COLLET P, LATRUFFE N, DOMENJOUR L, DAUCA M.

Peroxisome proliferator-activated receptors are key regulators in cell-differentiation.

Recent research developments in lipids, 5.

2001 ; Trivandrum, India : 147-165.

SCHOONJANS K, STAELS B, AUWERX J.

The peroxisome proliferator activated receptors (PPARS) and their effects on lipid metabolism and adipocyte differentiation.

Biochim Biophys Acta. 1996 ; **1302** (2) : 93-109.

SCHOONJANS K, MARTIN G, STAELS B, AUWERX J.

Peroxisome proliferator-activated receptors, orphans with ligands and functions.

Curr Opin Lipidol. 1997 ; **8** (3) : 159-166.

SELZER F, SUTTON-TYRRELL K, FITZGERALD S, TRACY R, KULLER L, MANZI S.

Vascular stiffness in women with systemic lupus erythematosus.

Hypertension. 2001 ; **37** (4) : 1075-1082.

SNELL-BERGEON JK, HOKANSON JE, JENSEN L, MACKENZIE T, KINNEY G, DABELEA D, ECKEL RH, EHRLICH J, GARG S, REWERS M.

Progression of coronary artery calcification in type 1 diabetes: the importance of glycemic control.

Diabetes Care. 2003 ; **26** (10) : 2923-2928.

SOOD HS, HUNT MJ, TYAGI SC.

Peroxisome proliferator ameliorates endothelial dysfunction in a murine model of hyperhomocysteinemia.

Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 2003 ; **284** (2) : L333-L341.

SPORN MB, SUH N, MANGELSDORF DJ.

Prospects for prevention and treatment of cancer with selective PPAR γ modulators (SPARMs).

Trends Mol Med. 2001 ; **7** (9) : 395-400.

STARLING MR.

Left ventricular-arterial coupling relations in the normal human heart.

Am Heart J. 1993 ; **125** (6) : 1659-1666.

STAELS B, DALLONGEVILLE J, AUWERX J, SCHOONJANS K, LEITERSDORF E, FRUCHART JC.

Mechanism of action of fibrates on lipid and lipoprotein metabolism.

Circulation. 1998 ; **98** (19) : 2088-2093.

SUZUKI M, ODAKA H, SUZUKI N, SUGIYAMA Y, IKEDA H.

Effects of combined pioglitazone and metformin on diabetes and obesity in Wistar fatty rats.

Clin Exp Pharmacol Physiol. 2002 ; **29** (4) : 269-274.

TATCHUM-TALOM R, NIEDERHOFFER N, AMIN F, MAKKI T, TANKOSIC P, ATKINSON J.

Aortic stiffness and left ventricular mass in a rat model of isolated systolic hypertension.

Hypertension. 1995 ; **26** (6) : 963-970.

TEDGUI A, MALLAT Z.

Mécanismes inflammatoires et anti-inflammatoires dans la paroi vasculaire.

Biologie et pathologie du cœur et des vaisseaux.

2002 ; Flammarion Médecine-Sciences, Paris : 395-407.

THAM DM, WANG YX, RUTLEDGE JC.

Modulation of vascular inflammation by PPARs.

Drug News Perspect. 2003 ; **16** (2) : 109-116.

THORIN E, HENRION D, OSTER L, THORIN-TRECASES N, CAPDEVILLE C, MARTIN JA, CHILLON JM, HICKS PE., ATKINSON J.

Vascular calcium overload produced by administration of vitamin D₃ and nicotine in rats. Changes in tissue calcium levels, blood pressure, and pressor responses to electrical stimulation or norepinephrine *in vivo*.

J Cardiovasc Pharmacol. 1990 ; **16** (2) : 257-266.

TOWBIN H, STAEHELIN T, GORDON J.

Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications.

Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1979 ; **76** : 4350-4354.

TODA T, TSUDA N, NISHIMORI I, LESZCZYNSKI DE, KUMMEROW FA.

Morphometrical analysis of the aging process in human arteries and aorta.

Acta Anat. 1980 ; **106** (1) : 35-44.

TONTONOZ P, HU E, GRAVES RA, BUDAVARI AI, SPIEGELMAN BM.

mPPAR gamma 2: tissue-specific regulator of an adipocyte enhancer.

Genes Dev. 1994 ; **8** (10) : 1224-1234.

VAN GORP A, VAN INGEN SCHENAU DS, WILLIGERS J, HOEKS AP, DE MEY JG, STRUYKER BOUDIER HA, RENEMAN RS.

A technique to assess aortic distensibility and compliance in anesthetized and awake rats.

Am J Physiol. 1996 ; **270** : H780-H786.

VERA ER, BATTELL ML, BHANOT S, MCNEILL JH.

Effects of age and anesthetic on plasma glucose and insulin levels and insulin sensitivity in spontaneously hypertensive and Wistar rats.

Can J Physiol Pharmacol. 2002 ; **80** (10) : 962-970.

VLAEMINCK-GUILLEM V, LAUDET V, DUTERQUE-COQUILLAUD M.

Negative cross-talk between nuclear receptors and transcription factors: implications in inflammation and oncogenesis.

Med Sci (Paris). 2003 ; **19** (11) : 1121-1127.

WADA K, NAKAJIMA A, BLUMBERG RS.

PPARgamma and inflammatory bowel disease: a new therapeutic target for ulcerative colitis and Crohn's disease.

Trends Mol Med. 2001 ; **7** (8) : 329-331.

WEIGERT C.

Über eine Methode zur Färbung elastischer Fasern.

Zentralblatt für allgemeine Pathologie und pathologische Anatomie. 1898 ; **9** : 289-292.

WESTERHOF N, ELZINGA G, SIPKEMA P.

An artificial arterial system for pumping hearts.

J Appl Physiol. 1971 ; **31** (5) : 776-781.

WIESENBERG I, VAN DER MEIDE PH, SCHELLEKENS H, ALKAN S.

Suppression and augmentation of rat adjuvant arthritis with monoclonal anti-interferon-gamma antibody.

Clin Exp Immunol. 1989 ; **78** (2) : 245-249.

WILSON TM, BROWN PJ, STERNBACH DD, HENKE BR.

The PPARs : From Orphan Receptors to Drug Discovery.

J Med Chem. 2000 ; **43** (4) : 527-550.

WOLINSKY H, GLAGOV S.

A lamellar unit of aortic medial structure and function in mammals.

Circ. Res. 1967 ; **20** : 99-111.

WONG M, TOH L, WILSON A, ROWLEY K, KARSCHIMKUS C, PRIOR D, ROMAS E, CLEMENS L, DRAGICEVIC G, HARIANTO H, WICKS I, MCCOLL G, BEST J, JENKINS A.

Reduced arterial elasticity in rheumatoid arthritis and the relationship to vascular disease risk factors and inflammation.

Arthritis Rheum. 2003 ; **48** : 81-89.

YAMAMOTO K, OHKI R, LEE RT, IKEDA U, SHIMADA K.

Peroxisome proliferator-activated receptor gamma activators inhibit cardiac hypertrophy in cardiac myocytes.

Circulation. 2001 ; **104** (14) : 1670-1675.

YAMASAKI Y, KAWAMORI R, WASADA T, SATO A, OMORI Y, EGUCHI H, TOMINAGA M, SASAKI H, IKEDA M, KUBOTA M, ISHIDA Y, HOZUMI T, BABA S, UEHARA M, SHICHIRI M, KANEKO T.

Pioglitazone (AD-4833) ameliorates insulin resistance in patients with NIDDM. AD-4833 Glucose Clamp Study Group, Japan.

Tohoku J Exp Med. 1997 ; **183** (3) : 173-183.

YASMIN, MCENERY CM, WALLACE S, MACKENZIE IS, COCKCROFT JR, WILKINSON IB.
C-Reactive Protein Is Associated With Arterial Stiffness in Apparently Healthy Individuals.
Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2004 ; **24** : 1-6.

YOSHIMOTO T, NARUSE M, SHIZUME H, NARUSE K, TANABE A, TANAKA M, TAGO K,
IRIE K, MURAKI T, DEMURA H, ZARDI L.
Vasculo-protective effects of insulin sensitizing agent pioglitazone in neointimal thickening and
hypertensive vascular hypertrophy.
Atherosclerosis. 1999 ; **145** (2) : 333-340.

Ce travail a donné lieu à une communication affichée lors du 8^{ème} Congrès Annuel de la Société Française de Pharmacologie du 26 au 28 avril 2004 à Strasbourg et à un article soumis à *Hypertension* le 10 Mai 2004.

Résumé

CHRONIC TREATMENT WITH PIOGLITAZONE IMPROVES AORTIC WALL ELASTICITY IN A RAT MODEL OF STIFF VESSEL DISEASE

GAILLARD V, SCHOHN H, DAUCA M, ATKINSON J, LARTAUD I.
Fundam Clin Pharmacol. 2004 ;18 (2) : 240.

Introduction :

Inflammation of the arterial wall, which occurs in ageing and age-related vascular pathology, leads via calcification and fragmentation of elastic fibres to increased wall stiffness. We tested whether pioglitazone (PIO), an anti-inflammatory PPAR γ ligand could counteract these phenomena in an animal model of arterial wall elastocalcinosis induced by hypervitaminosis D plus nicotine (VDN).

Methods :

Male Wistar rats (200-220 g) were treated with vitamin D3 (300,000 IU/kg, im) and nicotine (2 x 25 mg/kg, po) at day 0. As calcification of the aortic wall develops during 2 weeks, PIO treatment (3 mg/kg/day) followed 2 regimes: preventive ("p", day 1-44) and curative ("c", day 15-44). The ratio of aortic elastic modulus (EM, calculated from thoraco-abdominal pulse wave velocity, Moens-Korteweg) to wall stress (WS, Lamé) was used as an index of intrinsic isobaric aortic wall stiffness. Disruption of elastic fibres was analyzed by 2D histomorphometry (Weigert stain), calcium content by atomic spectrometry.

Results :

Total calcium content of the aortic wall increased (50x) in VDN rats; elastic fibres showed severe fragmentation as revealed by the increase in the number of medial elastic segments and the decrease in medial area occupied by elastic fibres, and wall stiffness increased (EM/WS x2.5). Chronic PIO treatment reduced aortic wall calcification, elastic fibre fragmentation and wall stiffness, both following "p" or "c" regime.

P < 0.05 (3 ways ANOVA) * vs non-VDN, § vs PIO-		non-VDN		VDN	
		PIO-	PIO+	PIO-	PIO+
Calcium (n)	p	11±2 (5)	13±1 (9)	476±175 (5) *	252±86 (11)*§
	c	12±2 (4)	14±1 (10)	537±101 (5) *	386±95 (12)*§
Elastic fibres % of media	p	20.8±1.3	20.3±0.9	16.9±1.4 *	18.1±0.7 §
	c	19.9±1.2	18.1±0.8	16.6±2.1 *	19.4±0.6 §
segments number per 10 ⁴ μm ²	p	8.1±0.4	7.9±0.5	10.9±1.9 *	7.8±0.5 §
	c	8.5±0.8	6.6±0.4 §	10.9±1.0 *	9.4±0.7 §
EM/WS	p	3.2±0.4	3.5±0.5	9.0±1.9 *	5.9±1.3 *§
	c	4.2±0.7	3.3±0.2	8.1±2.1 *	4.8±0.6 *§

Conclusion :

In conclusion, chronic treatment by PIO protects elastic fibres and improves aortic wall elasticity in VDN rats by an anti-calcification mechanism. Present results may be relevant to the treatment of stiff vessel disease in patients.

**PIOGLITAZONE IMPROVES AORTIC WALL ELASTICITY IN A RAT MODEL
OF ELASTOCALCINOSIS**

Virginie Gaillard, *Hervé Schohn, *Michel Dauça, Jeffrey Atkinson, Isabelle Lartaud.

Cardiovascular Research Group (EA 3448), Faculté de Pharmacie,
and * Peroxisome Proliferators (EA 3446), Faculté des Sciences et Techniques,
Université Henri Poincaré Nancy-1, Nancy, France.

Short title : Pioglitazone protects against elastocalcinosis

Address for correspondence

Jeffrey Atkinson, Cardiovascular Research Group,
Faculté de Pharmacie de l'Université Henri Poincaré, Nancy I
5 rue Albert Lebrun, 54 000 Nancy, France
Tel: (33) 383.68.22.62, Fax: (33) 383.68.22.66, E-mail: Jeffrey.Atkinson@pharma.uhp-
nancy.fr

ABSTRACT

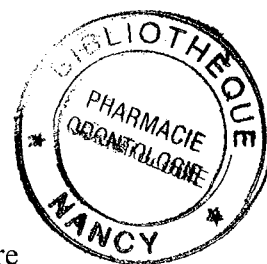
Specific treatment of age-related aortic wall arteriosclerosis and stiffening is lacking. As ligands for peroxisome proliferator-activated receptor-gamma (PPAR_γ) have beneficial effects on the arterial wall (in atherosclerosis), we investigated whether chronic pioglitazone (Pio) treatment protects against arteriosclerosis, focusing on important determinants of arterial stiffening – calcification and remodeling of the elastic network.

We used a rat model of elastocalcinosis induced by hypervitaminosis D and nicotine (VDN). Pioglitazone (3 mg.kg⁻¹ per day, p.o.) increased nuclear PPAR_γ immunostaining. In VDN (but not in controls) pioglitazone reduced aortic wall calcification (296 ± 69, P < 0.05 *versus* VDN Pio⁻ 562 ± 87 and non-VDN Pio⁻ 12 ± 1 μmol.g⁻¹ dry weight) and elastic fiber fragmentation (number of medial elastic segments per 10 000 μm², 8.5 ± 0.3, P < 0.05 *versus* VDN Pio⁻ 10.5 ± 0.6 and non-VDN Pio⁻ 8.0 ± 0.3). This was accompanied by a fall in aortic wall stiffness (elastic modulus / wall stress, 4.9 ± 0.6 in VDN Pio⁺, P < 0.05 *versus* VDN Pio⁻ 10.0 ± 1.6 and non-VDN Pio⁻ 3.6 ± 0.4).

Pioglitazone lowers calcification so protecting elastic fibers and lowering aortic wall stiffness in a model of elastocalcinosis.

KEY WORDS

● Arteriosclerosis ● PPAR ● extracellular matrix ● calcium ● pulse pressure



DEMANDE D'IMPRIMATUR

DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présenté par **Virginie GAILLARD**

Sujet :

Impact cardiovasculaire de la pioglitazone dans un modèle murin d'élastocalcinose

Jury :

Président : M. Jeffrey ATKINSON, Professeur

Juges : M. Michel DAUÇA, Professeur
M. Pierre GILLET, Professeur
Mme Isabelle LARTAUD, Maître de Conférences

Vu,

Nancy, le 3 mai 2004

Le Président du Jury

Le Directeur de Thèse

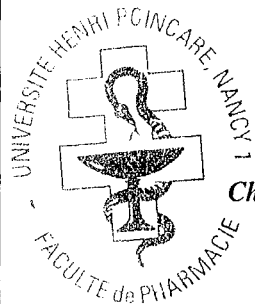
M. Jeffrey ATKINSON,
Professeur

Mme Isabelle LARTAUD
Maître de Conférences

Vu et approuvé,

Nancy, le 4 mai 2004

Doyen de la Faculté de Pharmacie
de l'Université Henri Poincaré – Nancy I,



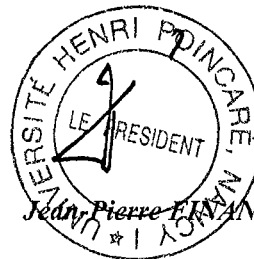
Chantal FINANCE

N°1940

Vu,

Nancy, le 7 Mai 2004

Le Président de l'Université Henri Poincaré – Nancy I,



Impression réalisée
par le Service de Reprographie
de la Faculté de Pharmacie de Nancy

