



HAL
open science

Développement d'un modèle de surcharge cardio-vasculaire de calcium : réactivité vasculaire et effets des inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine I et des inhibiteurs de flux calciques

Daniel Henrion

► To cite this version:

Daniel Henrion. Développement d'un modèle de surcharge cardio-vasculaire de calcium : réactivité vasculaire et effets des inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine I et des inhibiteurs de flux calciques. Médecine humaine et pathologie. Université Henri Poincaré - Nancy 1, 1991. Français. NNT : 1991NAN10454 . tel-01747164

HAL Id: tel-01747164

<https://hal.univ-lorraine.fr/tel-01747164>

Submitted on 29 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>

DB 6003

UNIVERSITE DE NANCY 1

1991

GROUPE DE FORMATION DOCTORALE "BIOLOGIE-MEDICAMENT"

THESE

présentée et soutenue publiquement
le 4 novembre 1991

pour obtenir le titre de
DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE NANCY 1
mention PHARMACOLOGIE

par

Daniel HENRION

Titulaire du Diplôme d'Etudes Approfondies de Pharmacologie

sujet :

DEVELOPPEMENT D'UN MODELE DE SURCHARGE CARDIO-VASCULAIRE
DE CALCIUM : REACTIVITE VASCULAIRE ET EFFETS DES
INHIBITEURS DE L'ENZYME DE CONVERSION DE L'ANGIOTENSINE
I ET DES INHIBITEURS DE FLUX CALCIQUES

MEMBRES DU JURY

Président : Professeur J. Atkinson, Nancy

Juges :

Rapporteur Professeur J.L. Davrainville, Nancy

Rapporteur Docteur P.E. Hicks, Montlhéry

Professeur M. Hoffman, Nancy



GROUPE DE FORMATION DOCTORALE "BIOLOGIE-MEDICAMENT"

Collège I :

Professeurs J. Atkinson
 A.M. Batt
 J.C. Block
 J.C. Jardillier (Reims)
 B. Krafft
 V. Loppinet
 P. Netter
 A. Nicolas
 J.L. Schwartzbrod
 G. Siest
 P. Vert

Collège II :

Maîtres de conférence

J. Mounie (Dijon)
D. Desor
J.P. Kantelip (Besançon)

Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance à

Monsieur le Professeur Jeffrey Atkinson

pour la confiance qu'il m'a accordé en m'accueillant dans son laboratoire en 1986 et en dirigeant ce travail. Il m'a fait bénéficier de son expérience et de son enthousiasme pour la recherche avec rigueur, disponibilité et patience.

Je le remercie tout particulièrement de m'avoir laissé, chaque fois qu'il le jugeait possible, une autonomie très motivante et instructive.

Monsieur le Professeur Jean-Louis Davrainville

pour l'attention qu'il a bien voulu me témoigner en acceptant de juger ce travail et pour y avoir apporté ces compétences de physiologiste à l'analyse de ce travail.

Monsieur le Docteur Peter E.Hicks

pour l'enthousiasme qu'il m'a communiqué pendant ce travail dont il est, avec Jeffrey Atkinson, l'initiateur et pour son aide dans l'interprétation des phénomènes observés.

Monsieur le Professeur Maurice Hoffman

pour l'aide inestimable qu'il n'a apporté durant mon internat et pour m'avoir permis de mener à bien mon travail de recherche durant mon internat.

Ma reconnaissance très sincère s'adresse à tous les membres du laboratoire avec lesquels j'ai eu beaucoup de plaisir à travailler.

Je tiens tout particulièrement à adresser ma reconnaissance à Christine Capdeville-Atkinson pour son aide et sa patience lors de la lecture et correction de ce manuscrit.

Je termine en remerciant mon épouse, Suzanne et mes enfants, Adrien et Baptiste, pour leur amour.

Plan

1. RESUME

2. INTRODUCTION

2.1. Vieillessement artériel

2.1.1. Modifications hémodynamiques associées au vieillissement

2.1.2. Etude globale du vieillissement vasculaire in vitro

2.1.2.1. Vasoconstriction

2.1.2.2. Vasodilatation

2.1.2.3. Endothélium vasculaire

2.1.2.4. Neurotransmission

2.1.2.5. Matrice extra-cellulaire

2.2. Surcharge calcique et vieillissement artériel

2.2.1. Historique

2.2.2. Calcium et réactivité vasculaire

2.2.3. Surcharge calcique : observations chez l'Homme

2.2.4. Surcharge calcique : observations chez l'animal

2.2.5. Modifications hémodynamiques liées à la surcharge calcique vasculaire

2.3. Modèles d'étude du vieillissement vasculaire impliquant la surcharge calcique

2.4. "Traitement" du vieillissement vasculaire

2.5. Objectifs du travail

3. DEVELOPPEMENT DU MODELE DE SURCHARGE CARDIO-VASCULAIRE EN CALCIUM CHEZ LE RAT

3.1. Matériel et méthodes

3.1.1. Animaux utilisés

3.1.2. Induction de la surcharge calcique

3.1.3. Contenu tissulaire en calcium, magnésium, sodium, potassium et phosphates

3.1.4. Analyse plasmatique

3.1.5. Expression des résultats et analyse statistique

3.2. Résultats

3.2.1. Analyse plasmatique

3.2.2. Taux de calcium tissulaire total dans les modèles de surcharge calcique 1/1, 2/1, 3/1, 4/1, 4/13, 4/180, 2/15 et 1/16

3.2.3. Modèle de surcharge calcique retenu : 1/16

3.2.3.1. Evolution pondérale

3.2.3.2. Analyse plasmatique

3.2.3.3. Taux tissulaire de calcium, magnésium, sodium, potassium et phosphates

4. CONTRACTILITE IN VITRO (1) : LIT MESENTERIQUE ISOLE ET PERFUSE

4.1. Matériel et méthodes

4.2. Résultats

4.2.1. Courbes concentration-réponse à la noradrénaline

4.2.2. Courbes concentration-réponse à la sérotonine

4.2.3. Vasorelaxations dépendantes ou non de l'endothélium vasculaire

4.2.3.1. Carbachol

4.2.3.2. Histamine

4.2.3.3. Papavérine

4.2.3.4. Nitroprussiate de sodium

5. CONTRACTILITE IN VITRO (2) : AORTE ISOLEE (MODELE 1/16)

5.1. Matériel et méthodes

5.2. Résultats

5.2.1. Courbes concentration-réponse à la noradrénaline

5.2.2. Vasorelaxations dépendantes ou non de l'endothélium vasculaire

5.2.2.1. Carbachol

5.2.2.2. Nitroprussiate de sodium

6. TRAITEMENT PAR DES INHIBITEURS DE L'ENZYME DE CONVERSION ET PAR UN INHIBITEUR DE FLUX CALCIQUES (MODELE 1/16)

6.1. Matériel et méthodes

6.2. Résultats

- 6.2.1. Evolution pondérale
- 6.2.2. Contenu tissulaire en calcium total
- 6.2.3. Analyse plasmatique
- 6.2.4. Lit mésentérique isolé et perfusé
 - 6.2.4.1. Traitement par le NaCl 0,15 M
 - 6.2.4.2. Traitement par le perindopril
 - 6.2.4.3. Traitement par le captopril
 - 6.2.4.4. Traitement par l'isradipine
- 6.2.5 Aorte isolée
 - 6.2.5.1. Traitement par le NaCl 0,15 M
 - 6.2.5.2. Traitement par le perindopril
 - 6.2.5.3. Traitement par le captopril
 - 6.2.5.4. Traitement par l'isradipine
- 6.2.6. Résumé des résultats

7. DISCUSSION

- 7.1. Généralités sur le traitement par la vitamine D₃ et la nicotine
- 7.2. Sélectivité ionique et tissulaire de la surcharge calcique
- 7.3. Evolution et étiologie éventuelle de la surcharge calcique
- 7.4. Conséquences fonctionnelles
- 7.5. Traitement préventif par les inhibiteurs de flux calciques et par les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine I.

8. CONCLUSION

9. REFERENCES

10. ANNEXES

Liste des abréviations utilisées

- CE_{10mmHg} : concentration efficace 10 mm Hg, concentration d'agoniste nécessaire pour obtenir une réponse vasoconstrictrice de 10 mm Hg.
- CE_{0.1g} : concentration efficace 0,1 g, concentration d'agoniste nécessaire pour obtenir une réponse vasoconstrictrice de 0,1 g.
- CE_{50%} : concentration efficace 50 %, concentration d'agoniste nécessaire pour obtenir une réponse égale à 50 % de l'effet maximum.
- CI_{50%} : concentration inhibitrice 50 %, concentration d'antagoniste nécessaire pour obtenir une réponse égale à 50 % de l'effet maximum.
- CV% : coefficient de variation exprimé en %
- EDCF : "endothelium derived contracting factor", facteur contractant dérivé de l'endothélium
- EDRF : "endothelium derived relaxing factor", facteur relaxant dérivé de l'endothélium
- esm : écart standard de la moyenne
- IEC : inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine I
- IFC : inhibiteurs de flux calciques
- im : intramusculaire
- ip : intrapéritonéal
- IP₃ : 1,4,5-inositol triphosphate
- m : moyenne
- min : minute
- PAD : pression artérielle diastolique
- PAM : pression artérielle moyenne
- PAS : pression artérielle systolique
- ROC : "receptor operated channel", canaux calciques activés par un récepteur
- sec : seconde
- SHR : rat spontanément hypertendu
- UI : unités internationales

VOC : "voltage operated channel", canaux calciques activés par une dépolarisation

Modèle 1/16 : rats Wistar jeunes recevant 1 jour de traitement par la vitamine D₃ (1 x 300 000 UI/kg par voie intramusculaire) et la nicotine (2 x 25 mg/kg, per os), suivi de 16 jours de repos.

C3 : traitement par le captopril (3 mg/kg).
C10 : traitement par le captopril (10 mg/kg).
P0,3 : traitement par le perindopril (0,3 mg/kg).
P1 : traitement par le perindopril (1 mg/kg).
P3 : traitement par le perindopril (3 mg/kg).
IS1 : traitement par l'isradipine (1 mg/kg).

1. RESUME

Parmi les modifications cardio-vasculaires engendrées par le vieillissement, la surcharge calcique vasculaire revêt une importance particulière. Le taux de calcium total aortique augmente en effet de 150 fois entre les âges de 10 et 90 ans chez l'Homme (Fleckenstein et coll., 1985).

Un modèle de surcharge calcique cardio-vasculaire a été développé chez le rat adulte jeune, dans lequel la surcharge calcique est comparable, par son ampleur et ses effets, à celle observée lors du vieillissement chez l'Homme. Un jour de traitement par la vitamine D₃ (1 x 300 000 UI/kg, par voie intramusculaire) et la nicotine (2 x 25 mg/kg, per os), suivi de 16 jours de repos (modèle 1/16), induit une surcharge calcique et une augmentation de la pression artérielle différentielle.

La surcharge calcique est localisée au coeur et aux artères, ainsi qu'aux organes "cibles" de la vitamine D (reins et intestin). La sélectivité cardio-vasculaire est la suivante : aorte et artère carotide > myocarde > vaisseaux de résistance.

In vitro, dans l'aorte et le lit mésentérique, la surcharge calcique provoque une baisse de la réactivité à la noradrénaline et à la sérotonine, ainsi qu'une diminution de la fonction endothéliale.

Ce modèle se caractérise également par une pression différentielle augmentée chez le rat anesthésié et une compliance aortique abaissée. Ces modifications sont provoquées par la surcharge calcique, en présence d'un profil lipidique plasmatique normal.

L'isradipine (inhibiteur de flux calciques, IFC) prévient la surcharge calcique dans le lit mésentérique et l'artère caudale.

Les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine I (IEC : captopril et perindopril) et l'isradipine préviennent la perte de réactivité à la noradrénaline dans le lit mésentérique et l'aorte.

Les IEC et IFC rétablissent la fonction endothéliale dans le lit mésentérique alors que seuls les IEC la rétablissent dans l'aorte.

La réversibilité de la surcharge calcique dans les artères de résistance ainsi que la réversibilité des modifications de réactivité vasculaire induites par cette même surcharge, permettent d'entrevoir une stratégie thérapeutique des troubles cardio-vasculaires qu'elle engendre lors du vieillissement et de l'hypertension artérielle. Des résultats cliniques montrent que les IEC et les IFC ont un effet bénéfique sur la compliance artérielle de patients hypertendus.

Le modèle que nous décrivons dans cette thèse constituera un outil important dans la recherche de nouveaux IEC et IFC efficaces dans les cas de surcharge vasculaire de calcium.

Mots clés : Aorte - Artères - Calcium - Vieillissement - Artériosclérose - Endothélium - inhibiteur de flux calciques - inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine I

2. INTRODUCTION

Le contenu en calcium total des artères augmente avec l'âge chez l'Homme (Fleckenstein et coll., 1986). Afin d'étudier l'influence de la surcharge calcique dans le vieillissement artériel, nous avons développé un modèle de surcharge calcique chez le rat adulte jeune. Un traitement court (1 jour) par la vitamine D₃ et la nicotine, suivi de 16 jours de repos, entraîne une surcharge calcique cardio-vasculaire, sans modification du métabolisme lipidique.

Dans ce chapitre, nous décrirons :

- 1) les modifications cardio-vasculaires engendrées par le vieillissement,
- 2) les travaux effectués sur la surcharge calcique artérielle, 3) les différents modèles d'étude du vieillissement vasculaire, plus particulièrement les modèles de surcharge calcique et
- 4) les objectifs de notre étude et les méthodes utilisées.

2.1. Vieillissement artériel

La fréquence et la sévérité des pathologies cardio-vasculaires augmentent avec l'âge. Les pressions artérielles systolique et diastolique s'accroissent lors du vieillissement (Kannel, 1987). Après 60 ans, la pression systolique continue à augmenter et la pression diastolique tend à diminuer. Ceci est en partie la cause de la mortalité plus importante des sujets hypertendus qui "sortent" ainsi des statistiques.

Il en résulte une élévation de la pression artérielle différentielle. Ces observations suggèrent une baisse de la compliance artérielle. Des atteintes du système cardio-vasculaire à différents niveaux sont à l'origine de ces modifications hémodynamiques.

En effet, le vieillissement entraîne des altérations des fonctions adrénergique, sérotoninergique et histaminergique, de la transmission neuromusculaire, du système rénine-angiotensine et

des fonctions réflexes (Docherty, 1990). Toutefois le système cardio-vasculaire du sujet âgé fonctionne normalement au repos et lors d'efforts modérés (Docherty, 1990).

Sur le plan expérimental, les études du vieillissement font appel à des modèles présentant des pathologies dont la fréquence augmente lors du vieillissement (lapin hypercholestérolémique et rats hypertendus par exemple), ou à des animaux âgés. La réponse des tissus isolés aux agonistes a fait l'objet de nombreux travaux et le vieillissement semble provoquer une atténuation de la réactivité vasculaire.

2.1.1. Modifications hémodynamiques associées au vieillissement

La pression artérielle moyenne au repos augmente avec l'âge chez l'Homme (Kannel, 1987). La situation est moins évidente chez l'animal : la pression artérielle semble non modifiée lors du vieillissement chez le rat (McCarty, 1985; Wei et coll., 1987), le lapin (Owen, 1986) ou le chien (Cox et coll., 1981).

La concentration de noradrénaline plasmatique est pourtant augmentée par le vieillissement, tant chez l'animal que chez l'Homme (paragraphe 2.1.1.4.). Ainsi, la relation entre la pression artérielle et la noradrénaline circulante ne semble pas directe. Ceci confirme le fait que la hausse du taux sanguin de noradrénaline ne reflèterait que la baisse de réactivité adrénérgique (paragraphe 2.1.1.4.).

Le rythme cardiaque, quant à lui, ne diminue pas chez l'Homme âgé, au repos et en l'absence de pathologie cardiaque (Simpson et Wicks, 1988).

Chez l'animal, malgré des observations parfois divergentes, le rythme cardiaque ne semble pas non plus se modifier lors du vieillissement (Fouda et Atkinson, 1986). Toutefois, la tachycardie induite par l'isoprénaline s'atténue avec l'âge chez l'Homme (Bühler et coll., 1980) et le rat (Simpkins et coll., 1983). La sensibilité des baroréflexes est elle aussi abaissée

lors du vieillissement (Frolkis et coll., 1975).

Ainsi, au repos, la fonction cardiaque reste normale (en l'absence de pathologie cardiaque) chez le sujet âgé, mais lors d'efforts ou de stimulations, par l'isoprénaline par exemple, la probabilité d'apparition de signes d'insuffisance cardiaque augmente (Docherty, 1990).

Enfin, malgré des observations contradictoires et une connaissance encore incomplète des effets du vieillissement sur le système cardio-vasculaire, il est possible d'affirmer que le vieillissement provoque une perte globale de réactivité.

Une cascade d'évènements tend à compenser cette perte et à maintenir ainsi un état apparent de bon fonctionnement chez le sujet âgé. La rigidification des vaisseaux et la baisse de filtration glomérulaire, associées à l'âge, entraînent une élévation progressive de la pression artérielle. L'augmentation de la post-charge consécutive à celle du volume extracellulaire qu'induit la baisse de filtration glomérulaire, provoque, quant à elle, une hypertrophie ventriculaire gauche conduisant à un remplissage inadéquat en systole.

La baisse de filtration glomérulaire déclenche une hypersécrétion d'hormone natriurétique afin d'augmenter l'excrétion rénale du sodium. Ceci se répercute au niveau vasculaire par une hypertonicité qui va élever la pression artérielle systolique. Il en résulte un accroissement de la probabilité d'insuffisance cardiaque (figure 1). Malgré tout, au repos, le système cardio-vasculaire âgé fonctionne normalement.

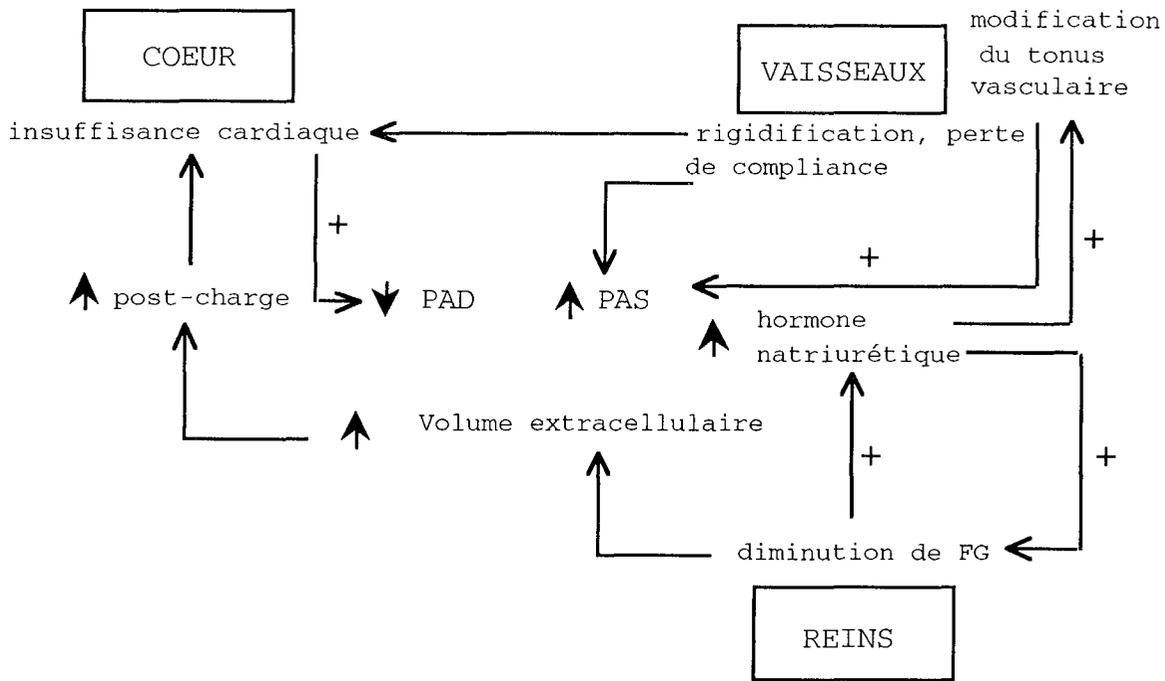


Figure 1 : Modifications induites par la vieillissement sur le fonctionnement du système cardio-vasculaire chez l'Homme (d'après Blaustein et Hamlyn, 1984 et Docherty, 1990).

PAS : pression artérielle systolique; PAD : pression artérielle diastolique; FG : filtration glomérulaire.

+ : indique une activation.

2.1.2. Etude globale du vieillissement vasculaire in vitro

2.1.2.1. Vasoconstriction

Dans les tissus isolés, la plupart des études montrent une modification, avec l'âge, des réponses induites par les agonistes (noradrénaline, sérotonine et histamine, notamment).

La réactivité vasculaire à l'histamine baisse lors du vieillissement (Toda et coll., 1986).

Le cas de la noradrénaline est plus controversé et les conclusions varient en fonction du tissu utilisé. Selon les auteurs, les réponses du système adrénergique sont, soit diminuées (Tuttle, 1966; Fouda et Atkinson, 1986), soit inchangées par le

vieillissement (Scott et Reid, 1982; Duckles et coll., 1985). Sur l'aorte de rat, l'âge abaisse la réactivité aux agonistes adrénergiques et la réserve de récepteurs alpha-adrénergiques (Docherty, 1990).

Comme pour la noradrénaline, les effets du vieillissement sur la réactivité à la sérotonine varient suivant les études.

La réactivité à la sérotonine baisse dans l'aorte du rat (Cohen et Berkowitz, 1976; Wanstall et O'Donnell, 1989). Dans d'autres vaisseaux, l'âge ne provoque pas de modification (artères mésentérique et carotide du rat : Emmick et Cohen, 1986; artères coronaires du chien : Toda et coll., 1987; veines de l'avant-bras chez l'Homme : Blauw et coll., 1988).

A l'opposé, une hausse de réactivité à la sérotonine est observée dans l'aorte (Emmick et Cohen, 1986) et dans les artères coronaires du rat (augmentation de la réponse maximale et de la sensibilité à la sérotonine et hausse de l'affinité des récepteurs : Nyborg, 1991).

Les plaquettes constituent le principal réservoir de sérotonine dans le système cardio-vasculaire. Leur contenu en sérotonine et leur capacité de recaptage de la sérotonine diminuent avec l'âge : ceci a été associé à une hausse de libération intravasculaire du neuromédiateur ainsi qu'à une augmentation de la réactivité vasculaire à la sérotonine (Doyle, 1988).

Cette hypothèse est soutenue par des études cliniques montrant que des patients hypertendus âgés sont plus sensibles à la kétansérine que de jeunes patients hypertendus (Doyle, 1988). Néanmoins, dans une étude invasive menée chez l'Homme, au niveau de l'avant-bras où la sérotonine se comporte comme un vasodilatateur, il a été montré que l'âge n'induit pas de modification (Blauw et coll., 1988).

Quant au fonctionnement du système rénine-angiotensine, il diminue également lors du vieillissement (James et coll., 1986).

En fait, la baisse de l'activité réninique plasmatique et la

baisse consécutive du taux d'angiotensine II participeraient à l'hyporéactivité vasculaire décrite pour la noradrénaline.

Il est aussi important de noter que l'angiotensine n'agit pas seulement directement par son effet vasoconstricteur puissant, mais également par potentialisation des vasoconstrictions induites par la noradrénaline, en activant la protéine kinase C (Laher et coll., 1990).

La diminution d'activité du système rénine-angiotensine pourrait aussi expliquer la moindre efficacité des IEC à corriger la pression artérielle chez les patients hypertendus âgés (Bühler et coll., 1980). Cette dernière observation est toutefois controversée (Baker, 1988).

La réactivité vasculaire aux agonistes, hormis la sérotonine, semble donc globalement diminuer avec l'âge. L'action des agents vasoconstricteurs étant contrebalancée par des mécanismes vasodilatateurs, il n'est pas inattendu que ces derniers subissent eux aussi des modifications lors du vieillissement.

2.1.2.2. Vasodilatation

Les principaux mécanismes pouvant induire une vasodilatation *in vitro* sont modifiés par le vieillissement.

Les réponses du système béta-adrénergique diminuent dès la période de maturation, et cette baisse s'accroît avec l'âge dans l'aorte, l'artère pulmonaire, les veines jugulaires et porte du rat et du lapin et dans les artères cérébrales et mésentériques du chien (revue : Lakatta, 1987), les veines de la main (Hiremath et coll., 1989) et la veine saphène de l'Homme (Ikezono et coll., 1987).

2.1.2.3. Endothélium vasculaire

L'endothélium vasculaire subit lui aussi une modification fonctionnelle avec l'âge. Furchgott et Zawadzki (1981) ont démontré le rôle indispensable de l'endothélium dans la relaxation de l'aorte du lapin par l'acétylcholine.

L'endothélium, sous l'effet de l'acétylcholine, libère de l'EDRF ("endothelium derived relaxing factor"), facteur relaxant, sous la dépendance du calcium extracellulaire. Les propriétés de l'EDRF sont globalement assimilables à celles de l'oxyde nitrique, NO^{\bullet} (Furchgott, 1985; Palmer et coll., 1987; Kelm et coll., 1988) qui, au niveau de la cellule musculaire lisse, active la guanylate-cyclase, entraînant un accroissement de la concentration intracellulaire de guanosine 3'-5'-monophosphate cyclique (GMPC) (Holzmann, 1982; Rappoport et Murad, 1983; Furchgott et coll., 1984; Ignarro et coll., 1984) et induit une vasorelaxation.

Les vasodilatateurs nitrés (EDRF et nitroprussiate de sodium, notamment) agissent directement sur la cellule musculaire lisse.

Ils mettent en jeu plusieurs mécanismes :

- 1) hyperpolarisation de la membrane plasmique, à fortes doses, par activation de la pompe électrogénique Na^+/K^+ ou par augmentation de la perméabilité de la membrane au potassium, ou par les deux simultanément,
- 2) inhibition de l'influx calcique transmembranaire et
- 3) augmentation de la production de GMPC, aboutissant à l'inhibition de la mobilisation du calcium (Weiss et coll., 1990).

Le dernier mécanisme semble prédominant (Weiss et coll., 1990). La vasorelaxation, liée à l'augmentation de la concentration intracellulaire du GMPC, n'est pas encore complètement expliquée.

Il a toutefois été démontré que plusieurs mécanismes complémentaires entrent en jeu.

La guanylate-cyclase est une enzyme présente dans la cellule sous deux formes : une forme soluble (cytoplasmique) et une forme liée à la membrane plasmique, activée uniquement par les atriopeptides dont les récepteurs sont proches du site de l'enzyme.

Son activation aboutit à la formation de GMPC, lequel réduit la concentration intracytoplasmique de calcium par augmentation du flux calcique dans les vésicules microsomales, activation de

l'efflux calcique hors de la cellule (activation des pompes calcium-ATPasiques et de l'échangeur Na^+ - Ca^{++} dans la membrane plasmique), baisse de l'influx calcique vers le cytoplasme et diminution de la formation du 1,4,5-inositol triphosphate (IP_3) (d'où une baisse de la libération de calcium par le réticulum sarcoplasmique) (Weiss et coll., 1990).

A côté de l'EDRF, l'endothélium libère d'autres "facteurs relaxants", tels l'EDHF (facteur hyperpolarisant, Bolton et coll., 1984; Félétou et Vanhoutte, 1988) et la prostacycline (Wekler et coll., 1977; Frangos et coll., 1985).

A l'inverse, il a été démontré que l'endothélium pouvait provoquer une vasoconstriction (Hickey et coll., 1985).

L'endothéline, isolée de cellules endothéliales porcines en culture est un vasoconstricteur puissant de durée d'action longue, dépendante du calcium extracellulaire (Yanagisawa et coll., 1988) et intracellulaire (Wagner-Mann et Stureck, 1991).

L'endothélium porte également à sa surface l'enzyme de conversion de l'angiotensine I (Bünning et coll., 1986) et peut synthétiser la rénine et l'angiotensine I.

Ainsi, l'endothélium joue un rôle important dans l'homéostasie vasculaire (Gryglewski et coll., 1988; Lüscher, 1988). Il module les réponses des vaisseaux aux agents constricteurs (Criscione et coll., 1990) et dilatateurs (Shirazaki et coll., 1986).

De plus, l'endothélium est sensible aux variations de pression et de flux sanguin. Il est le site de "mécanorécepteurs" sensibles à la pression et de récepteurs sensibles aux forces de cisaillement ("shear stress") ou récepteurs de flux (Rubanyi et coll., 1990).

L'activation des récepteurs de flux susciterait la production d'EDRF; l'activation des "mécanorécepteurs" aboutirait à la production d'EDCF ("endothelium derived contracting factor") et ralentirait celle de l'EDRF (Rubanyi et coll., 1990).

L'endothélium n'est toutefois pas le seul site de "mécanorécepteurs" et de récepteurs de flux. Ces deux types de récepteurs ou "senseurs" ont été mis en évidence dans des préparations vasculaires dépourvues d'endothélium (Bevan et Laher, 1991). Leur répartition entre l'endothélium et la membrane cellulaire pourrait varier en fonction du lit vasculaire étudié (Henrion et Bevan, résultats non publiés).

Avec l'âge, la relaxation dépendante de l'endothélium s'atténue, comme cela a été montré dans l'aorte et l'artère fémorale (Soltis, 1988), l'artère mésentérique du rat (Moritoki et coll., 1986) et dans l'artère mésentérique du chien (Shimizu et Toda, 1986).

Cette atténuation de la vasorelaxation induite par l'endothélium survient aussi dans des pathologies associées au vieillissement, dans l'hypertension artérielle (Hongo et coll., 1988) et dans l'athérosclérose (Jayakody et coll., 1987). La réactivité des vaisseaux aux vasodilatateurs nitrés, dont l'action est similaire à celle de l'EDRF, est soit abaissée (Karaki et coll., 1985; Moritoki et coll., 1988), soit non modifiée avec l'âge (O'Donnell et Wanstall, 1986; Tsujimoto et coll., 1986).

Les modifications de réponse aux vasodilatateurs nitrés sont équivoques et l'hypofonctionnement de l'endothélium vasculaire prédomine lors du vieillissement.

Le système béta-adrénergique et l'endothélium jouent un rôle clé dans la modulation des vasoconstrictions, tout comme le système alpha-2-adrénergique, dont le fonctionnement est lui aussi atténué par le vieillissement (Kelly et O'Malley, 1984).

A ce sujet, l'atténuation par la yohimbine (antagoniste alpha 2-adrénergique) des réponses à la stimulation électrique baisse avec l'âge (Hyland et Docherty, 1985).

Les principaux mécanismes de vasodilatation sont donc atténués lors du vieillissement, à l'instar des mécanismes vasoconstricteurs. L'ensemble de ces mécanismes agissent de

concert pour moduler la neurotransmission.

2.1.2.4. Neurotransmission

La concentration plasmatique de noradrénaline s'élève avec l'âge, au repos (Lakatta, 1987; Vargas et coll., 1987) ou à la suite d'un stress tel un changement de position (Saar et Gordon, 1979; Sowers et coll., 1983), l'ingestion de glucose (Young et coll., 1980) ou un exercice musculaire (Fleg et coll., 1985; Vargas et coll., 1987).

Par contre la concentration plasmatique d'adrénaline ne change pas (Vargas et coll., 1987).

Le vieillissement provoque aussi une réduction du contenu tissulaire artériel en noradrénaline chez le rat (Fouda et Atkinson, 1986; Duckles, 1987) et dans d'autres espèces (revue par Roberts et Turner, 1987).

De plus, la densité des fibres sympathiques vasculaires diminue, l'activité de la monoamine oxydase vasculaire augmente (Handa et Duckles, 1987) et la libération de noradrénaline tritiée provoquée par la stimulation nerveuse s'abaisse (Roberts et Turner, 1987).

Cette baisse du contenu en noradrénaline des vaisseaux est probablement liée en partie à celle du recaptage neuronal de la noradrénaline (Docherty et Hyland, 1986; Duckles, 1987). La diminution de la fonction alpha-2-adrénergique serait une cause de cette atténuation (Kelly et O'Malley, 1984; Docherty et Hyland, 1986).

La modification de ces différents mécanismes compense la perte partielle de réactivité du système alpha-adrénergique survenant lors du vieillissement et aurait pour conséquence l'augmentation de la concentration plasmatique en noradrénaline.

2.1.2.5. Matrice extra-cellulaire

Avec l'âge, la paroi des vaisseaux s'épaissit chez le rat (Tuttle, 1966; Wolinski, 1979; Kojimahara, 1985) et chez l'Homme

(Kawasaki et coll., 1987).

La rigidité vasculaire s'accroît de pair avec l'épaississement pariétal (Wolinski, 1979; Kawasaki et coll., 1987; Lakatta, 1987; Labat-Robert et Robert, 1988).

La synthèse et la concentration pariétale de collagène augmentent par suite d'un accroissement de l'activité de la proline-hydroxylase (Newman et Langner, 1978) alors que le taux d'élastine baisse, conséquence d'une hyperactivité élastasique (Labat-Robert et Robert, 1988). Il s'en suit une inversion du rapport élastine / collagène (Cox, 1977). Cette inversion est liée à la hausse du nombre de cellules myointimales responsables de la synthèse du collagène, de la fibrine et des glycosamino-glycanes.

Enfin, les dépôts lipidiques s'accroissent lors du vieillissement (Labat-Robert et Robert, 1988) et les vaisseaux se calcifient (Kojimahara, 1985).

La rigidification vasculaire engendrée aboutit à l'artériosclérose. Cette rigidification se produit aussi bien en absence qu'en présence d'athérosclérose, laquelle est toutefois un facteur aggravant.

Quant à la surcharge de calcium des vaisseaux, elle est très probablement une cause majeure de la modification de la réactivité vasculaire et son importance dans le vieillissement sera développée dans le chapitre 2.2.

2.2. Surcharge calcique et vieillissement artériel

2.2.1. Historique

La paroi artérielle se sclérose par accumulation de lipides (cholestérol surtout) et de calcium. L'attention des chercheurs s'est portée sur les lipides, l'accumulation de calcium étant négligée (Fleckenstein et coll., 1990).

Pourtant, les deux phénomènes ont été mis en évidence la même année.

Anitschkow, en 1913 (d'après Fleckenstein et coll., 1990), a reproduit des lésions athéromateuses chez le lapin par une alimentation riche en cholestérol et Katase (1913) (d'après Fleckenstein et coll., 1990) a montré que le calcium précipite autour des fibres élastiques de la paroi vasculaire et provoque leur fragmentation.

Les travaux de Katase furent toutefois éclipsés par ceux de Anitschkow, malgré la publication, en 1939, des recherches de Burger (d'après Fleckenstein et coll., 1989) montrant l'augmentation parallèle des taux de calcium et de cholestérol dans l'aorte humaine entre les âges de 10 et de 70 ans. L'augmentation proportionnelle du calcium est toutefois supérieure à celle du cholestérol.

Depuis 1970, Fleckenstein et ses collaborateurs ont mené des travaux sur la surcharge vasculaire en calcium. La microscopie électronique a permis de confirmer les observations de Katase : le calcium précipite dans la paroi artérielle et entraîne la calcification des fibres élastiques. Il en résulte une perte de distensibilité et de compliance des vaisseaux. La même équipe a montré que la surcharge calcique pouvait être prévenue par les inhibiteurs de flux calciques.

L'amplitude de cette surcharge calcique des vaisseaux est telle qu'elle doit nécessairement influencer la réactivité vasculaire, dont le calcium est l'élément clé.

2.2.2. Calcium et réactivité vasculaire

Que la contraction d'une cellule musculaire lisse soit induite par un agoniste ou par une dépolarisation, elle dépend d'une augmentation de la concentration de calcium dans le milieu intracellulaire (Khalil et coll., 1990).

Le calcium peut entrer dans la cellule musculaire lisse, à partir du milieu extracellulaire, par différents types de canaux : des canaux dépendant de l'activation de récepteurs par un agoniste (Benham et Tsien, 1987), des canaux activés par une dépolarisation (Bean et coll., 1986; Toro et Stefani, 1987) ou des canaux activés

par un étirement (Laher et coll., 1988).

Il existe, de plus, une entrée passive de calcium, s'effectuant constamment et dont l'effet est annihilé par stockage dans le réticulum sarcoplasmique et par expulsion hors de la cellule (Khalil et van Breemen, 1988).

L'augmentation du taux de calcium intracellulaire lors de la contraction musculaire fait également intervenir les stocks intracellulaires, responsables de la phase transitoire de la contraction (Cauvin et coll., 1983).

La libération du calcium de ces stocks intracellulaires (réticulum sarcoplasmique surtout) est induite par l'IP₃ (Berridge et Irvine, 1984) et par le calcium lui-même ("calcium-induced calcium release") (Saida, 1981).

De plus, le réticulum sarcoplasmique superficiel joue un rôle de tampon en absorbant une partie de l'influx calcique entrant dans la cellule lors de la contraction (van Breemen et coll., 1985). La contraction en elle même est le produit de l'interaction de l'actine avec la myosine (Adelstein et Eisenberg, 1980).

Elle est déclenchée par le calcium libre qui, se liant à la calmoduline, active la MLCK ("myosin light chain kinase"), laquelle induit la phosphorylation des chaînes légères de myosine et génère ainsi la contraction (Adelstein et Sellers, 1987).

La sortie du calcium fait appel à la pompe à calcium ATPasique (Casteels et van Breemen, 1975) et à l'échangeur sodium-calcium de la membrane plasmique (Reuter et coll., 1973) et à la pompe à calcium ATPasique de la membrane du réticulum sarcoplasmique (Borlé, 1981). Ainsi, la concentration et les mouvements du calcium dans la cellule musculaire lisse déterminent son état de contraction ou de repos.

La modification de la réactivité vasculaire et l'accumulation importante de calcium dans les vaisseaux de sujets âgés sont elles liées ? Des études de la surcharge calcique, réalisées chez l'Homme et chez l'animal montrent que l'accumulation de calcium

atteint un niveau élevé, mais son rôle dans les modifications observées lors du vieillissement reste encore à établir.

2.2.3. Surcharge calcique : observations chez l'Homme

La surcharge calcique du système cardio-vasculaire est un phénomène commun à de nombreuses situations telles la sénescence et l'hypertension artérielles.

Cette accumulation de calcium, toxique pour les cellules, représente un facteur essentiel dans le développement de lésions de la paroi artérielle (Fleckenstein et coll., 1983a,b). Elle débute dès l'enfance et s'accroît avec l'âge (Henry, 1985). Chez l'Homme, entre les âges de 1-10 ans et de 81-90 ans, on observe une augmentation du taux de calcium tissulaire de 100 fois dans l'aorte, de 20 fois dans l'artère coronaire gauche, de 7 fois dans l'artère mésentérique supérieure et de 10 fois dans l'artère basilaire (Fleckenstein et coll., 1983a).

Dans ces mêmes tissus, le taux de magnésium n'est pas modifié, ce qui souligne la spécificité calcique de la surcharge.

L'accumulation de calcium précède l'apparition des lésions athérosclérotiques dans l'aorte humaine (Blumenthal et coll., 1944) et cette observation est confirmée par celles de l'équipe de Fleckenstein d'une augmentation du taux de calcium tissulaire dans l'aorte dès l'enfance. De même que le vieillissement, l'hypertension artérielle s'accompagne d'un accroissement du contenu en calcium des vaisseaux (Fleckenstein et coll., 1989).

L'hypertension artérielle, l'athérosclérose, l'abus de nicotine et le diabète mal corrigé représentent des facteurs de risque importants et accroissent considérablement la surcharge calcique observée lors du vieillissement (Fleckenstein et coll., 1986). Des patients diabétiques, âgés de 60 ans, et qui présentent des troubles circulatoires au niveau des jambes, ont un taux de calcium artériel 12 fois plus élevé que des sujets sains du même âge. Ce taux est multiplié par 4 chez les fumeurs (Fleckenstein et coll., 1986).

Spécifiquement, la surcharge calcique atteint un niveau critique entre les âges de 70 et 80 ans (Fleckenstein et coll.,

1983a). La limite au delà de laquelle la surcharge calcique devient cytotoxique est comprise entre 100 et 300 micromoles de calcium total par gramme de tissu sec, limite franchie à l'âge de 60 ans (Fleckenstein et coll., 1986).

2.2.4. Surcharge calcique : observations chez l'animal

Chez l'animal, l'accumulation de calcium n'atteint pas le même niveau que chez l'Homme, mais reste toutefois importante : le taux est multiplié par 5 dans les artères coronaires de chiens âgés de 13 à 16 ans par rapport à celui de chiens de 4 ans (Fleckenstein et coll., 1983a).

Chez le rat, cette élévation est plus faible, de 2 à 3 fois chez des rats Wistar, âgés de 24 mois, ou des rats spontanément hypertendus (Fleckenstein et coll., 1983).

La courte espérance de vie du rat pourrait expliquer cette hausse moins importante (Skalicky et coll., 1990). Néanmoins, bien que le rat ne développe pas d'athérosclérose (Armstrong et Heistad, 1990), l'augmentation de rigidité des vaisseaux et l'accumulation de calcium apparaissent à la même vitesse que chez l'Homme (Skalicky et coll., 1990).

Chez le rat spontanément hypertendu (SHR), l'évolution de la surcharge calcique aboutit à des valeurs de calcium vasculaire plus élevées que chez le rat normotendu Wistar Kyoto (Fleckenstein et coll., 1983a).

Elle atteint préférentiellement les vaisseaux de résistance : le contenu en calcium est multiplié par 2 dans l'artère mésentérique supérieure proximale et par 20 lorsque le diamètre diminue dans le lit vasculaire mésentérique (Fleckenstein et coll., 1987).

Ainsi la différence entre le rat hypertendu et le rat âgé est une différence de localisation et d'intensité de la surcharge calcique : les artères de compliance sont très surchargées chez le rat âgé et moins surchargées chez le rat hypertendu, les artères de résistance sont plus surchargées chez le rat hypertendu que chez le rat âgé.

Le myocarde, contrairement aux vaisseaux sanguins, n'est pas affecté par la surcharge calcique lors du vieillissement, chez le

chien, chez l'Homme (Fleckenstein et coll., 1985) et chez le rat (Henrion et coll., 1991).

2.2.5. Modifications hémodynamiques liées à la surcharge calcique vasculaire

Ces modifications du taux de calcium vasculaire ont des répercussions hémodynamiques. Elles ont surtout été étudiées dans un modèle de surcharge calcique vasculaire chez le rat.

Dans un modèle de surcharge vasculaire de calcium chez le jeune rat adulte, traité par de la vitamine D₃ et de la nicotine, il se développe une accumulation de calcium qui présente la sélectivité cardio-vasculaire suivante : artères de conductance > artères de résistance > myocarde (Oster et coll., 1989a,b).

In vivo, les réponses contractiles induites par la noradrénaline endogène et exogène sont diminuées (Thorin et coll., 1990). Dans ce modèle, si les rats sont laissés au repos pendant 13 jours à la suite du traitement, la surcharge calcique s'amplifie et une hypertension systolique isolée apparaît in vivo (Thorin et coll., 1990).

Dans un modèle similaire où la durée du traitement est plus courte (modèle appelé 1/16, objet de notre étude), il a été montré que la surcharge calcique vasculaire provoque une augmentation de la pression artérielle différentielle (Henrion et coll., 1990a, 1991), une baisse de la compliance aortique (Henrion et coll., 1990a) et une atténuation du baroréflexe cardiaque (Lartaud et coll., 1991).

Enfin, une corrélation positive entre l'accumulation de calcium avec l'âge et l'augmentation de la vitesse de propagation de l'onde aortique pulsée a été mise en évidence chez l'Homme, indiquant une perte de compliance artérielle (Fleckenstein et coll., 1990).

2.3. Modèles d'étude du vieillissement vasculaire impliquant la surcharge calcique

Les animaux âgés (rat âgé de 24 à 30 mois, chien âgé de 10

ans et plus, etc.) sont des modèles largement utilisés, où de nombreux paramètres interagissent.

L'utilisation de tissus humains présente un inconvénient d'interprétation des résultats, lié aux maladies et traitements intercurrents.

Des modèles ont été développés chez l'animal adulte jeune afin de permettre l'étude isolée de certains aspects du vieillissement. Les modèles peuvent se partager en modèles d'athérosclérose, d'hypertension artérielle et de surcharge calcique.

Le modèle d'athérosclérose le plus fréquemment utilisé est le lapin hypercholestérolémique; le rat ne développe pas d'athérosclérose, quelle que soit son alimentation, bien qu'on puisse y provoquer une hyperlipidémie (Armstrong et Heistad, 1990 : revue des modèles d'athérosclérose chez l'animal).

Les rats hypertendus constituent un autre groupe de modèles. Ils présentent une calcification de la média associée à une prolifération de cellules dans l'espace sous-endothélial.

L'épaisseur de la paroi vasculaire augmente et, finalement, des lésions endothéliales ainsi que des thrombi solides et calcifiés apparaissent. De plus, dans l'artériosclérose des rats Dahl sensibles au sel (alimentation enrichie en chlorure de sodium), des plaques intimaes contenant du calcium et des lipides apparaissent.

Ce processus s'accompagne d'une desquamation des cellules endothéliales avec par conséquent le recouvrement de la surface interne des vaisseaux par de la fibrine (Fleckenstein et coll., 1986).

Le troisième modèle d'étude du vieillissement vasculaire fait appel au traitement d'animaux par la vitamine D, qui induit une accumulation de calcium dans les tissus vasculaires (Fleckenstein et coll., 1985).

L'administration d'une dose de 300 000 UI de vitamine D₃ entraîne l'apparition d'une surcharge calcique spécifique des artères coronaires et rénales de rat (Fleckenstein et coll., 1985).

Pour Mutoh et coll. (1988), l'administration au rat Fischer 344 de 1-alpha-vitamine D pendant 2 semaines conduit à une augmentation importante du taux de calcium tissulaire (voir paragraphe 2.4).

La vitamine D₃ (cholécalficérol) est généralement utilisée dans ces modèles. Le cholécalficérol, hydroxylé au niveau hépatique en 25-hydroxycholécalficérol (figure 2), subit dans le rein une seconde hydroxylation en 1-alpha. Le 1,25-dihydroxycholécalficérol résultant est le métabolite actif de la vitamine D. La synthèse de ce dernier est régulée par la parathormone, elle-même modulée par la calcémie.

Dans le noyau des cellules cibles de la vitamine D, le 1,25-alpha-dihydroxycholécalficérol stimule la synthèse d'ARN messager aboutissant à la formation de protéines fixant le calcium, de phosphatases alcalines et de calcium ATPases (figure 2).

Le rôle de la vitamine D dans l'homéostasie calcique est particulièrement crucial aux niveaux intestinal (absorption du calcium), osseux (résorption), rénal (réabsorption), et musculaire squelettique (stockage) (Bowman et Rand, 1980).

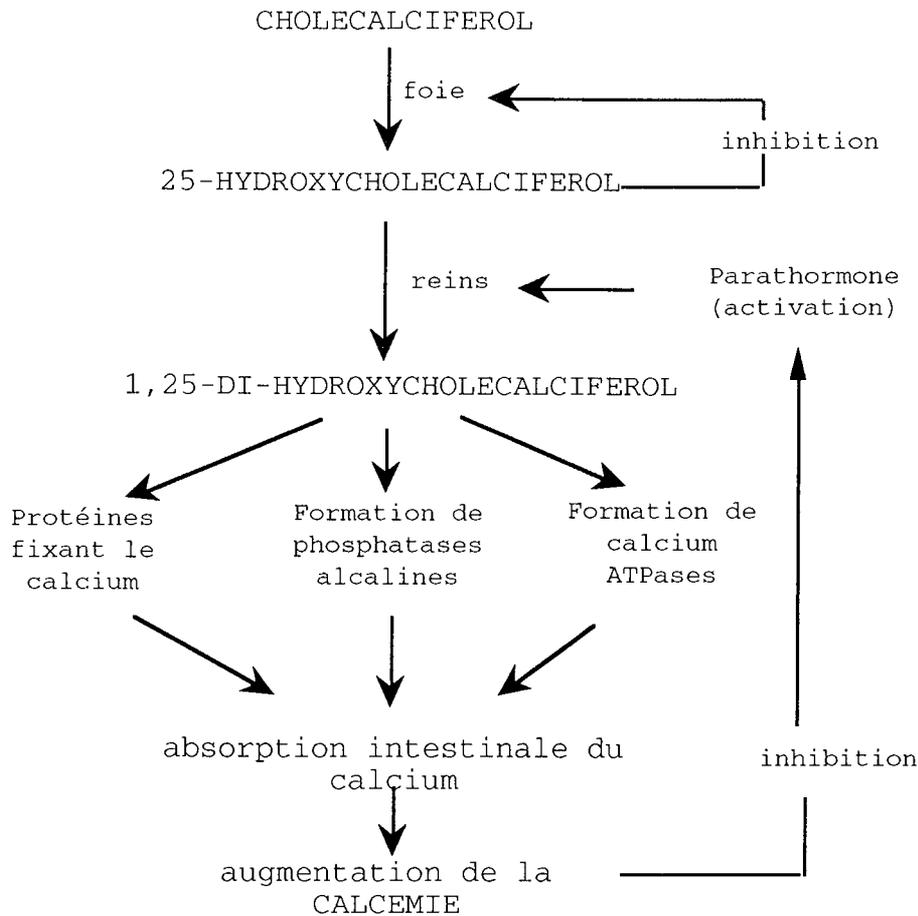


Figure 2 : Métabolisme et action de la vitamine D₃ (d'après Guyton, 1986)

Fleckenstein et coll. (1983a) ont proposé un modèle de surcharge calcique des vaisseaux, induite par l'administration simultanée de vitamine D₃ et de nicotine, avançant que l'induction rapide d'une surcharge calcique pouvait aboutir à un modèle d'artériosclérose.

Dans ce modèle, une injection unique de vitamine D₃ (300 000 UI/kg) et l'administration per os de nicotine (25 mg/kg, 2 fois par jour) entraînent chez le rat adulte jeune une importante surcharge calcique des tissus cardio-vasculaires et la mort des animaux au bout de 6 jours. La surcharge calcique due à la vitamine D₃ est amplifiée par la nicotine qui agit par libération de catécholamines (Su et Bevan, 1970). Les catécholamines ainsi libérées provoquent une augmentation de l'influx de calcium dans les cellules musculaires lisses et, de pair avec la nicotine, entraînent la libération du calcium contenu dans leur réticulum sarcoplasmique (Kahlil et coll., 1990).

Nous avons retenu pour notre étude ce modèle de surcharge vasculaire de calcium chez le rat (vitamine D₃ et nicotine). Il permet d'obtenir chez un animal jeune, sans autres pathologies, une accumulation de calcium comparable à celle observée lors du vieillissement humain.

Le modèle décrit par Fleckenstein a été modifié de sorte que les rats ne meurent pas à l'issue du traitement. Le traitement consiste ici en l'administration d'une dose unique de vitamine D₃ (300 000 UI/kg) associée à celle de la nicotine (25 mg/kg, 2 fois par jour, pendant 4 jours), contrairement au modèle décrit par Fleckenstein, où la nicotine est administrée pendant 6 jours au moins. Il en résulte une surcharge de calcium dont la sélectivité cardio-vasculaire est la suivante : artères de conductance > artères de résistance > myocarde (Oster et coll., 1989a,b).

In vitro, la surcharge calcique augmente les temps de vasorelaxation de l'artère caudale isolée (Thorin-Trescases et coll., 1989a,b,c) et, in vivo, les réponses tensionnelles induites par la noradrénaline endogène et exogène sont diminuées (Thorin et coll., 1990).

Dans une variante du modèle, les rats sont laissés au repos pendant 13 jours après la fin du traitement. La surcharge calcique ainsi que le temps de vasorelaxation in vitro sont alors amplifiés, et une hypertension systolique isolée apparaît in vivo (Thorin et coll., 1990).

2.4. "Traitement" du vieillissement vasculaire

La surcharge de calcium vasculaire est à l'origine de modifications hémodynamiques importantes. Il doit en être tenu compte dans l'élaboration du traitement des troubles cardio-vasculaires apparaissant lors du vieillissement.

Les pathologies cardio-vasculaires sont plus fréquentes avec l'âge et les facteurs de risque liés au mode de vie en accroissent la fréquence et la sévérité.

Il devient alors important de corriger les dérapages des mécanismes physiologiques menant à une issue pathologique. Par exemple, l'hypertension artérielle est un facteur de risque important pour l'athérosclérose et la fréquence de ces deux phénomènes augmente avec l'âge.

Il est donc logique de penser que le traitement de l'hypertension artérielle pourrait prévenir les conséquences de l'athérosclérose, en partie du moins. Il y a toutefois peu d'évidences de réduction des complications athérosclérotiques par les traitements antihypertenseurs chez l'Homme (Spence, 1989).

Parmi les substances étudiées, les IFC et les IEC semblent les plus prometteurs, tant pour le traitement de l'hypertension du sujet âgé que pour l'athérosclérose, et permettent un meilleur maintien de la qualité de vie durant le traitement (Bursztyrn et coll., 1989).

Chez le lapin, les lésions athérosclérotiques entraînées par une alimentation riche en cholestérol pourraient être corrigées par les IFC. Des revues et éditoriaux récents soulignent le fait de résultats encore controversés et de mécanismes d'action peu clairs (Henry, 1990; Overtuft, 1990).

L'isradipine (IFC), proposée par Overtuft (1990) comme l'agent le plus prometteur, serait antiathérogène à une dose inférieure aux doses antihypertensives.

Chez le rat, les IFC empêchent l'apparition de la surcharge calcique se développant entre 2 et 10 mois (vérapamil 100 mg/kg per os pendant 8 mois, Fleckenstein et coll., 1986). Des rats traités pendant 2 semaines par la 1-alpha-vitamine D₃ développent une surcharge calcique vasculaire qu'un traitement par les IFC atténue (Mutoh et coll., 1988).

Dans l'aorte thoracique, le taux de calcium tissulaire est de 13 µmoles/g de tissu sec dans le groupe contrôle et de 325 µmoles/g de tissu sec après traitement par la 1-alpha-vitamine D₃ (Mutoh et coll., 1988).

Plusieurs IFC ont été essayés à la dose de 100 mg/kg per os durant les 2 semaines de traitement par la 1-alpha-vitamine D₃. Les résultats suivants ont été obtenus :

IFC	surcharge calcique divisée par
Nilvadipine	13
Nifédipine	3
Nicardipine	10
Vérapamil	3
Diltiazem	1

La classe des IFC est hétérogène dans son action contre la surcharge calcique et dans le meilleur des cas (nilvadipine), cette surcharge calcique demeure importante.

Dans un modèle proche, où la surcharge calcique est induite par la vitamine D₃ et la nicotine (Fleckenstein et coll., 1983a,b), l'accumulation de calcium dans les vaisseaux de compliance et de résistance est prévenue par plusieurs IFC à fortes doses.

De même, Fleckenstein et ses collaborateurs (1985) ont montré que, chez les rats hypertendus SHR, rénovasculaires "Goldblatt" et "Dahl-S sensibles au sel", la surcharge calcique est prévenue par les IFC à fortes doses.

Tout comme les IFC, le captopril (IEC), en traitement préventif pendant 20 mois, empêche la surcharge calcique chez le rat SHR tout en abaissant sa pression artérielle (Fleckenstein et coll., 1986).

Par contre, d'autres substances antihypertensives appartenant à des classes différentes des IFC et des IEC (dihydralazine, pindolol, indapamide et chlorothiazide) se sont avérées inefficaces contre l'accumulation de calcium, bien qu'elles corrigent la pression artérielle (Fleckenstein et coll., 1986).

Par ailleurs, la perte de compliance accompagnant l'hypertension artérielle chez le rat peut être corrigée par un traitement par le lisinopril (IEC). Ce dernier augmente toutefois

la compliance artérielle tant chez le rat hypertendu que normotendu (Levy et coll., 1989).

Chez l'Homme, cette compliance artérielle, réduite chez le sujet hypertendu, est restaurée par un traitement pendant 6 mois par l'énalapril (IEC), alors qu'elle ne l'est pas sous l'effet de l'aténolol, dans les mêmes conditions (par exemple, baisse de pression artérielle similaire) (De Luca et coll., 1988).

London et coll. (1989) ont montré que la compliance s'améliore après traitement par un IEC ou par un IFC. Là également, une substance antihypertensive appartenant à une classe différente, la cadralazine, abaisse la pression de la même façon que les IEC et que les IFC, tout en restant inopérante sur la compliance.

Les mécanismes impliqués dans les effets observés sont toutefois peu clairs, voire inexpliqués.

Néanmoins, la correction par les IEC et par les IFC de la baisse de compliance induite par la surcharge calcique, ne dépend pas de leur action antihypertensive et probablement pas non plus de leur action "primitive", l'inhibition de flux calciques pour les IFC et l'inhibition de l'enzyme de conversion de l'angiotensine I pour les IEC.

Afin de mieux étudier la surcharge calcique et ses conséquences, le développement de modèles s'impose.

2.5. Objectifs du travail

Nous avons étudié le modèle décrit par Fleckenstein et coll. (1983), en utilisant un traitement court et une période de repos plus longue : injection d'une dose unique de vitamine D₃ (300 000 UI/kg) et administration de nicotine (25 mg/kg, 2 fois par jour à 9 heures d'intervalle), suivis de 16 jours de repos.

Cette modalité de traitement a pour but d'en minimiser les perturbations toxiques. En effet, dans les modèles précédents, des perturbations de la calcémie, de l'urémie et de la créatininémie ont été observées (Thorin et coll, 1990).

L'objectif de cette étude a été de déterminer le rôle de la

surcharge calcique dans les modifications cardio-vasculaires observées lors du vieillissement.

Nous en avons étudié la localisation et l'intensité dans différents tissus (coeur et vaisseaux notamment) et les conséquences sur la réactivité des vaisseaux de compliance (aorte) et de résistance (lit artériel mésentérique).

Les vaisseaux de compliance sont les plus touchés par la surcharge calcique lors du vieillissement, et bien que les vaisseaux de résistance le soient moins (Fleckenstein et coll., 1989), leur rôle dans l'hypertension artérielle en rend l'étude aussi importante.

Dans ces deux types de vaisseaux, nous avons étudié les propriétés les plus concernées par le vieillissement : réactivité aux agonistes vasoconstricteurs (noradrénaline et sérotonine) et fonction endothéliale.

Le rôle de l'accumulation de calcium dans ces modifications n'est pas clair. Il a toutefois été démontré, d'une part, que l'athérosclérose diminue les capacités relaxantes de l'endothélium vasculaire (Jayakody et coll., 1987) et que, d'autre part, chez le rat SHR (surcharge calcique vasculaire sans troubles lipidiques), la fonction relaxante endothéliale est également atténuée (Hongo et coll., 1988).

Dans notre modèle de surcharge calcique induite par la vitamine D₃ et la nicotine, il n'y a ni hypertension artérielle (pression artérielle moyenne inchangée), ni troubles du métabolisme lipidique.

Ceci nous a permis de déterminer la part de la surcharge calcique dans ces désordres de la réactivité vasculaire. Le dernier aspect de notre étude a été de rechercher l'efficacité des IFC et des IEC dans la prévention de la surcharge calcique et de ses conséquences vasculaires.

A forte dose, ils se sont avérés efficaces contre la surcharge calcique du rat SHR (Fleckenstein et coll., 1986) et du rat traité

par la vitamine D₃, en association (Fleckenstein et coll., 1986) ou non (Mutoh et coll., 1988) avec la nicotine.

De plus, les IFC et les IEC pouvant corriger la perte de compliance occasionnée par l'hypertension artérielle, indépendamment de leur activité antihypertensive (London et coll., 1989), il nous a semblé important d'étudier ces deux familles médicamenteuses sur le modèle de surcharge calcique induite par la vitamine D₃ et la nicotine. Nous l'avons fait en utilisant de faibles doses.

Afin de parvenir à ces objectifs, nous avons dosé les taux de calcium, de magnésium, de sodium, de potassium et de phosphates total dans les artères, le coeur et dans différents tissus chez le rat témoin et traité par l'association vitamine D₃ et nicotine.

Les paramètres hémodynamiques de base (pression artérielle et rythme cardiaque) ont été mesurés chez l'animal anesthésié (travaux de J.M. Chillon, dont il sera question dans la discussion).

Des paramètres plasmatiques (phospho-calciques, hépatiques, rénaux et cardiaques) ont été mesurés afin d'apprécier l'éventuelle toxicité du traitement.

L'étude des modifications de la réactivité vasculaire *in vitro* a été menée sur le lit artériel mésentérique, isolé et perfusé, et sur l'aorte de rat. Nous y avons étudié les réponses vasoconstrictrices induites par la noradrénaline et la sérotonine exogènes et les vasorelaxations consécutives.

L'étude de la relaxation provoquée par le carbachol, l'histamine, le nitroprussiate de sodium et la papavérine, nous a permis de connaître le degré d'atteinte de l'endothélium vasculaire dans ce modèle de surcharge calcique.

La relaxation suscitée par le carbachol ou l'histamine s'effectue par l'intermédiaire de la libération d'EDRF par l'endothélium. Le nitroprussiate de sodium active directement la guanylate-cyclase (comme tous les vasodilatateurs nitrés), de la même façon que l'EDRF; il agit donc indépendamment de la

libération d'EDRF.

La papavérine agit elle aussi directement sur la cellule musculaire lisse vasculaire, mais par un mécanisme indépendant de l'activation de la guanylate-cyclase; elle inhibe la phosphodiesterase liée à l'AMPC ou les mouvements calciques, ou les deux (Servin et coll., 1988).

3. DEVELOPPEMENT DU MODELE DE SURCHARGE CARDIO-VASCULAIRE EN CALCIUM CHEZ LE RAT

3.1. Matériel et méthodes

3.1.1. Animaux utilisés

Des rats Wistar mâles non consanguins (Ico:WI IOPS AF/Han) (Iffa-Credo, L'Arbresle, France), âgés de 2 mois, d'un poids moyen de 180 à 200 g, sont nourris *ad libitum* (nourriture standard A04, U.A.R., Villemoisson, France) et boivent une eau de composition ionique contrôlée (Volvic[®], Société des eaux de Volvic, Volvic, Puy-de-Dôme, France; composition ionique en mmoles/l : calcium 0,26, magnésium 0,25, sodium 0,35, potassium 0,13, chlorures 0,20, nitrates 0,06, sulfates 0,14). Les cycles jour-nuit sont fixés comme suit : lumière éteinte de 20h00 à 8h00.

3.1.2. Induction de la surcharge calcique

Les rats reçoivent à 8h00 une administration intramusculaire (im) d'une dose unique, quel que soit le groupe, de vitamine D₃ (300 000 UI/kg, soit 1 ml/kg de Vi-Dé 3[®] Hydrosol, Wander A.G., Berne, Suisse) et une dose de nicotine (25 mg/kg, per os, sous un volume de 5 ml/kg; bitartrate de nicotine, Sigma, Saint-Louis, MO, USA).

L'administration de nicotine est répétée à 17h00 (jour 1).

Les rats témoins (groupe contrôle) sont traités à 8h00 par du chlorure de sodium (NaCl 0,15 M, 1 ml/kg) par voie im et par de l'eau distillée per os (5 ml/kg). L'administration d'eau distillée est répétée à 17h00.

L'administration biquotidienne de nicotine dure de 1 à 4 jours : 1 jour dans les groupes 1/1 et 1/16 (définis ci-dessous), 2 jours dans les groupes 2/1 et 2/15, 3 jours dans le groupe 3/1, et 4 jours dans les groupes 4/1, 4/13 et 4/180.

Le traitement est suivi, ou non, d'une période de repos. Les groupes de rats, sont définis comme suit, en fonction du traitement reçu :

- groupe contrôle : traitement im par le NaCl 0,15 M et per os par l'eau distillée .

- groupes sans période de repos après la fin du traitement;
expériences le lendemain du dernier jour de traitement :

1/1 : traitement le jour 1, expérience le jour 2.

2/1 : traitement les jours 1 et 2, expérience le jour 3.

3/1 : traitement les jours 1, 2 et 3, expérience le jour 4.

4/1 : traitement les jours 1, 2, 3 et 4, expérience le jour 5.

- groupes avec une période de repos après la fin du traitement :

4/13 : traitement les jours 1, 2, 3 et 4, expérience le jour 17 .

4/180 : traitement les jours 1, 2, 3 et 4, expérience le jour 184.

2/15 : traitement les jours 1 et 2, expérience le jour 17.

1/16 : traitement le jour 1, expérience le jour 17.

La dénomination du groupe réfère au traitement et au jour de l'expérience. Par exemple, le groupe 1/16 est traité le jour 1, et les expériences sont effectuées après 16 jours de repos, le jour 17 (17 = 16 + 1).

Dans une série d'expériences comprenant des rats 1/16 et des rats contrôles, la nourriture et la boisson ont été pesées quotidiennement, du jour 1 au jour 17. La différence de poids en nourriture et eau entre les jours 2 et 1 de l'étude est considérée

comme étant la consommation du jour 1.

3.1.3. Contenu tissulaire en calcium, magnésium, sodium, potassium et phosphates

Les différents dosages ont été effectués dans le service du Professeur M. Hoffman, Pharmacie, Hôpital Central, Nancy, grâce à l'aide d'Isabelle Lartaud et de Jean-Marc Chillon.

Après chaque expérience, une autopsie est pratiquée, et les tissus suivants sont prélevés (environ 100 mg) : reins, foie, intestin (partie distale du jéjunum), cortex cérébral, artère caudale ventrale (20 à 30 mg), branche descendante de l'aorte abdominale, aorte thoracique, artère carotide, lit mésentérique (2 dernières branches), fémur (épiphyse et diaphyse), yeux et myocarde.

Les tissus sont pesés, puis déshydratés jusqu'à poids constant (24 heures à 110°C). Le poids sec des tissus est exprimé en pourcentage par rapport au poids frais. Chaque tissu sec est dissous dans l'acide nitrique 14 N (Merck, Darmstadt, Allemagne) et laissé 72 heures à température ambiante. L'échantillon est ensuite dilué dans une solution de chlorure de lanthane 10^{-3} mole/l ("pour analyse", Merck, Darmstadt, Allemagne).

La solution est atomisée et les changements de densité optique aux longueurs d'onde de 422,7 nm (calcium) et 285,2 nm (magnésium) sont déterminés par spectrophotométrie d'absorption atomique (spectrophotomètre modèle 2380, Perkin-Elmer, Norwalk, Connecticut, USA).

Les phosphates forment un complexe phosphomolybdate avec l'hepta-molybdate d'ammonium en présence des agents réducteurs sulfate de fer et acide sulfurique. La densité optique mesurée à 700 nm est proportionnelle à la quantité de phosphates présente dans l'échantillon.

Sodium et potassium sont déterminés par photométrie d'émission de flamme. Le sodium émet à la longueur d'onde de 589 nm et le potassium à celle de 767 nm. Le lithium est utilisé comme standard interne.

comme étant la consommation du jour 1.

3.1.3. Contenu tissulaire en calcium, magnésium, sodium, potassium et phosphates

Les différents dosages ont été effectués dans le service du Professeur M. Hoffman, Pharmacie, Hôpital Central, Nancy, grâce à l'aide d'Isabelle Lartaud et de Jean-Marc Chillon.

Après chaque expérience, une autopsie est pratiquée, et les tissus suivants sont prélevés (environ 100 mg) : reins, foie, intestin (partie distale du jéjunum), cortex cérébral, artère caudale ventrale (20 à 30 mg), branche descendante de l'aorte abdominale, aorte thoracique, artère carotide, lit mésentérique (2 dernières branches), fémur (épiphyse et diaphyse), yeux et myocarde.

Les tissus sont pesés, puis déshydratés jusqu'à poids constant (24 heures à 110°C). Le poids sec des tissus est exprimé en pourcentage par rapport au poids frais. Chaque tissu sec est dissous dans l'acide nitrique 14 N (Merck, Darmstadt, Allemagne) et laissé 72 heures à température ambiante. L'échantillon est ensuite dilué dans une solution de chlorure de lanthane 10^{-3} mole/l ("pour analyse", Merck, Darmstadt, Allemagne).

La solution est atomisée et les changements de densité optique aux longueurs d'onde de 422,7 nm (calcium) et 285,2 nm (magnésium) sont déterminés par spectrophotométrie d'absorption atomique (spectrophotomètre modèle 2380, Perkin-Elmer, Norwalk, Connecticut, USA).

Les phosphates forment un complexe phosphomolybdate avec l'hepta-molybdate d'ammonium en présence des agents réducteurs sulfate de fer et acide sulfurique. La densité optique mesurée à 700 nm est proportionnelle à la quantité de phosphates présente dans l'échantillon.

Sodium et potassium sont déterminés par photométrie d'émission de flamme. Le sodium émet à la longueur d'onde de 589 nm et le potassium à celle de 767 nm. Le lithium est utilisé comme standard interne.

3.1.4. Analyse plasmatique

Les différents dosages ont été effectués dans le service du Professeur J.P. Nicolas, INSERM U 308, CHRU Brabois, Nancy, à l'aide d'Isabelle Lartaud et de Jean-Marc Chillon.

Le sang des rats est prélevé dans des tubes en polyéthylène de 5 ml héparinés (10 UI/ml), au niveau de l'aorte abdominale, après anesthésie des animaux par administration intrapéritonéale de pentobarbital.

Le sang est centrifugé pendant 10 minutes à 1000 g et à 4°C, puis le plasma est collecté pour analyse.

La calcémie est déterminée par colorimétrie, à une longueur d'onde de 610 nm. Le bleu de méthylthymol sert d'indicateur de coloration à pH 11 (tampon éthanolamine) et les interférences dues au magnésium sont éliminées par la 8-hydroxyquinone.

La phosphatémie est déterminée par colorimétrie à 700 nm. Les ions phosphates forment un complexe phosphomolybdate avec l'heptamolybdate d'ammonium en présence des agents réducteurs sulfate de fer et acide sulfurique.

Le taux de magnésium plasmatique est déterminé par colorimétrie à 546 nm. Le magnésium forme un complexe avec la calmagite (acide 3-hydroxy-4-(2-hydroxy-5-méthylphénylazo)-1-naphtalène-sulfonique), à pH 11 (tampon éthanolamine) et en présence d'EGTA qui élimine les interférences dues au calcium.

La créatininémie est déterminée par colorimétrie. La créatinine forme avec un picrate un complexe coloré, en milieu alcalin (pH 11, tampon éthanolamine). La vitesse d'augmentation de densité optique à 520 nm et à 37°C est proportionnelle à la concentration de créatinine de l'échantillon.

L'urémie est déterminée enzymatiquement à 340 nm et à 30°C par utilisation de l'uréase qui forme à partir d'urée et d'eau de

l'anhydride carbonique et de l'ammoniaque. Ensuite, l'ammoniaque, le 2-alpha-cétoglutarate et le NADH sont transformés par la glutamate déshydrogénase en glutamate, eau et NAD⁺. La vitesse de diminution de l'absorbance à 340 nm (consommation de NADH) est proportionnelle à la concentration en urée de l'échantillon.

Le taux plasmatique d'acide urique est déterminé par utilisation de l'enzyme uricase :

- 1) Acide urique + H₂O + O₂ -(uricase)--> CO₂ + allantoine + H₂O₂
- 2) H₂O₂ + tampon chromogène --(péroxydase)--> quinonimine

La densité optique maximale de la quinonimine se situe à 520 nm, et après 10 minutes à température ambiante, cette densité optique est proportionnelle à la concentration d'acide urique de l'échantillon.

L'activité de la glutamate pyruvate transaminase (GPT) est déterminée comme suit :

- 1) L-alanine + 2-oxo-glutarate --- (GPT) ---> pyruvate + glutamate
- 2) Pyruvate + NADH + H⁺ -(lactate déshydrogénase)--> lactate + NAD⁺

La vitesse de diminution de l'absorbance à 340 nm (consommation de NADH dans la deuxième réaction) est proportionnelle à la concentration de GPT de l'échantillon.

L'activité de la glutamate oxaloacétate transaminase (GOT) est déterminée comme suit :

- 1) L-aspartate + 2-oxo-glutarate -- (GOT) --> oxaloacétate + glutamate
- 2) Oxaloacétate, NADH + H⁺ -- (malate déshydrogénase) ---> malate + NAD⁺

La vitesse de diminution de l'absorbance à 340 nm (consommation de NADH dans la deuxième réaction) est proportionnelle à la concentration de GOT de l'échantillon.

L'activité de l'alpha-hydroxybutyrate déshydrogénase (HBDH) est déterminée comme suit :

- 1) Alpha-céto-butyrates + NADH + H⁺ -- (HBDH) ---> alpha-hydroxybutyrates + NAD⁺

La vitesse de diminution de l'absorbance à 340 nm (consommation de NADH) est proportionnelle à la concentration de HBDH dans l'échantillon.

L'activité de la créatine kinase (CK) est déterminée comme suit :

- 1) Créatine-phosphate + ADP --- (CK) ---> créatine + ATP
- 2) Glucose + ATP ---- (hexokinase) ----> glucose-6-phosphate + ADP
- 3) Glucose-6-phosphate + NADP⁺ + H⁺ ---- (glucose-6-phosphate déshydrogénase) ----> gluconate-6-phosphate + NADPH

La vitesse d'augmentation de l'absorbance à 340 nm (production de NADPH dans la dernière réaction) est proportionnelle à la concentration de CK de l'échantillon.

L'activité de la phosphatase alcaline (PAL) est déterminée comme suit :

- 1) Nitro-4-phényl-phosphate --- (PAL) ---> nitro-4-phénol + phosphate

La vitesse d'augmentation de l'absorbance à 405 nm (formation de nitro-4-phénol), à 30°C, est proportionnelle à la concentration de PAL de l'échantillon.

La glycémie est déterminée comme suit :

- 1) Glucose --- (glucose oxydase) ---> H₂O₂ + acide gluconique
- 2) H₂O₂ + phénol + amino-4-antipyrine -- (péroxydase) ---> quinonimine

Après 10 minutes à 37°C, la densité optique à 505 nm (formation de quinonimine) est proportionnelle à la concentration de glucose de l'échantillon.

Les protéines sont dosées par la méthode de Biuret : Le plasma est incubé en présence de réactif de Biuret, à température ambiante et pendant 10 minutes, puis la densité optique mesurée à 546 nm est proportionnelle à la concentration de protéines de l'échantillon.

La cholestérolémie est déterminée comme suit :

- 1) Cholestérol estérifié --- (cholestérol-estérase) ---> cholestérol

+ acide gras

2) Cholestérol non estérifié + cholestérol issu de 1) ---
(cholestérol-oxydase)---> cholestène-4, one-3 + H₂O₂

3) H₂O₂ + phénol + amino-4-antipyrine --- (péroxydase)---->
quinonimine

Après 5 minutes à 37°C, la densité optique à 505 nm
(formation de quinonimine) est proportionnelle à la concentration
de cholestérol total de l'échantillon.

La triglycéridémie est déterminée comme suit :

1) Triglycérides -----(lipase)-----> glycérol + acide gras

2) Glycérol + ATP --- (glycérokinase)---> glycérol-3 phosphate +
ADP

3) Glycérol-3 phosphate -----(glycérol-3 phosphate oxydase)----->
dihydroxyacétone - phosphate et H₂O₂

4) H₂O₂ + parachlorophénol + amino-4 antipyrine -----(péroxydase)--
---> quinonimine

Après 5 minutes à 37°C , la densité optique à 500 nm
(formation de quinonimine) est proportionnelle à la concentration
de triglycérides de l'échantillon.

Sodium et potassium sont déterminés par photométrie
d'émission de flamme (photomètre de flamme, modèle PHF 103, ISA
Biologie, Pouilly-en-Auxois, France). Le sodium émet à 589 nm et
le potassium à 767 nm; le lithium est utilisé comme standard
interne.

3.1.5. Expression des résultats et analyse statistique

Les résultats sont exprimés par leur moyenne (m) ± écart
standard à la moyenne (esm). n représente le nombre d'animaux
étudiés dans chaque groupe. Le coefficient de variation est calculé
de la façon suivante : CV% = (ES / m) x 100 où ES est l'écart
standard et m est la moyenne.

La signification des différences entre groupes est déterminée
par le test t de Student pour séries appariées ou non.

Le niveau de probabilité choisi pour qu'une différence entre
deux groupes soit significative est P < 0,05; ceci s'applique

également aux chapitres suivants.

3.2. Résultats

3.2.1. Analyse plasmatique

Le tableau 1 rassemble les valeurs moyennes et les coefficients de variation des taux plasmatiques et des activités enzymatiques, mesurés au cours de ce travail, et les compare à ceux obtenus auprès du fournisseur Iffa-Credo et à ceux donnés par Waynforth (1980). Il est à noter que cette dernière référence n'indique pas les coefficients de variation.

Les valeurs moyennes ainsi que leurs coefficients de variation, que nous avons obtenus, sont comparables aux deux références choisies.

De façon globale, les coefficients de variation des différents paramètres se situent aux environs de 20 %, à l'exception des activités enzymatiques dont les coefficients de variation sont plus élevés.

La plus forte variabilité, observée au niveau des coefficients de variation des déterminations d'activités enzymatiques, pourrait provenir du fait que les dosages pratiqués sont ceux mis au point pour l'Homme. Les conditions biochimiques ne sont éventuellement pas adaptées aux dosages plasmatiques chez le rat.

Il est difficile de connaître les modifications "pathologiques" compte tenu de l'absence de données pour le rat dans la littérature.

De plus, des extrapolations, basées sur les changements de profil plasmatique observés lors de différentes pathologies chez l'Homme (hypervitaminose D, par exemple), sont trop spéculatives.

Tableau 1 : Analyse plasmatique de rats contrôles Wistar non consanguins.

ce travail		Iffa-Credo		Waynforth (1980)
m	CV%	m	CV%	m
calcium (mmoles/l)				
2,37	5	2,72	4	2,6
phosphates (mmoles/l)				
2,06	25	-	-	2,3
magnésium (mmoles/l)				
0,96	7	-	-	1,3
sodium (mmoles/l)				
139,00	1	143,8	10	135
potassium (mmoles/l)				
4,23	17	3,9	10	4,9
cholestérol (mmoles/l)				
1,78	50	1,66	16	1,9
triglycérides (mmoles/l)				
0,97	59	1,42	38	-
glucose (mmoles/l)				
9,1	21	6,13	16	10,1
protéines (g/l)				
55,2	19	-	-	-
acide urique (mmoles/l)				
54,8	99	-	-	-
urée (mmoles/l)				
6,6	19	5,64	27	6,9
créatinine (μ moles/l)				
54,3	20	83	25	44,5

Activités enzymatiques (UI/l)				
HBDH				
49,2	65	-	-	71
CK				
250,0	64	-	-	368
GOT				
66,9	129	105	18	-
GPT				
54,2	89	27	26	-
PAL				
133,0	48	132	25	410

m : moyenne; CV% : coefficient de variation en %.

HBDH : hydroxybutyrate déshydrogénase; CK : créatine-kinase; GOT : glutamate oxaloacétate transaminase; GPT : glutamate pyruvate transaminase; PAL : phosphatase alcaline

Iffa-Credo = "Données Biologiques Rat Wistar", Octobre 1988, Iffa-Credo S.A., L'Arbresle, France.

Dans les groupes de rats contrôles 4/1, 4/13, 1/16 et 2/15, les paramètres suivants ont été mesurés : calcium, magnésium, urée et créatinine (tableau 2).

La calcémie, l'urémie et la créatininémie augmentent respectivement de 1,6, de 2,1 et de 1,4 fois dans le groupe 4/1.

Dans les groupes 4/13, 1/16 et 2/15, la créatininémie est abaissée de 10 %, 20 %, et 23 % respectivement. Dans les groupes 1/16 et 2/15, l'urémie est elle aussi abaissée de 23 % et de 29 % respectivement.

La calcémie et le taux plasmatique de magnésium, dans les groupes 4/13, 1/16 et 2/15, ne diffèrent pas des valeurs des contrôles correspondantes.

Tableau 2 : Taux plasmatiques ($m \pm \text{esm}$) d'urée (mmoles/l), de créatinine ($\mu\text{moles/l}$), de calcium (mmoles/l) et de magnésium (mmoles/l) des rats traités par la vitamine D₃ et la nicotine (4/1, 4/13, 1/16 et 2/15) et des rats contrôles.

Groupe	contrôle	4/1	4/13	1/16	2/15
n	26	4	4	32	5
Urée	6,9 $\pm 0,1$	14,7 $\pm 2,8^*$	7,1 $\pm 0,2$	5,3 $\pm 0,2^*$	4,9 $\pm 0,5^*$
Créatinine	54,3 $\pm 0,3$	76,7 $\pm 10,5^*$	48,9 $\pm 1,7^*$	43,6 $\pm 2,3^*$	47,4 $\pm 1,7^*$
Calcium	2,4 $\pm 0,1$	3,9 $\pm 0,1^*$	2,6 $\pm 0,1$	2,40 $\pm 0,04$	2,4 $\pm 0,1$
Magnésium	0,96 $\pm 0,30$	1,05 $\pm 0,40$	1,05 $\pm 0,40$	0,98 $\pm 0,20$	0,93 $\pm 0,30$

n : nombre d'animaux

* : $P < 0,05$ par rapport au groupe contrôle.

3.2.2. Taux de calcium tissulaire total dans les modèles de surcharge calcique 1/1, 2/1, 3/1, 4/1, 4/13, 4/180, 2/15 et 1/16

Le taux de calcium total aortique augmente dans tous les groupes de rats traités par la vitamine D₃ et la nicotine, par rapport au groupe contrôle (figure 3). L'augmentation est croissante : le contenu en calcium total est multiplié par 2,5 dans le groupe 1/1, par 3,3 dans le groupe 2/1, par 6,1 dans le groupe 3/1, par 10,5 dans le groupe 4/13 et par 21 et 25 dans les groupes 2/15 et 1/16.

Le groupe 4/1 présente un taux de calcium aortique inférieur à celui du groupe 3/1. Cela s'explique par la mort des animaux les plus "surchargés" en calcium au troisième jour de traitement et qui ainsi n'apparaissent pas dans le groupe 4/1. Dans les groupes 2/15 et 1/16, la surcharge calcique atteint son maximum et ne diffère pas entre ces deux groupes. La surcharge calcique aortique du groupe 4/180 (x 6,9) est inférieure à celle du groupe 4/13 (x 10, 5), bien que toujours supérieure au groupe contrôle.

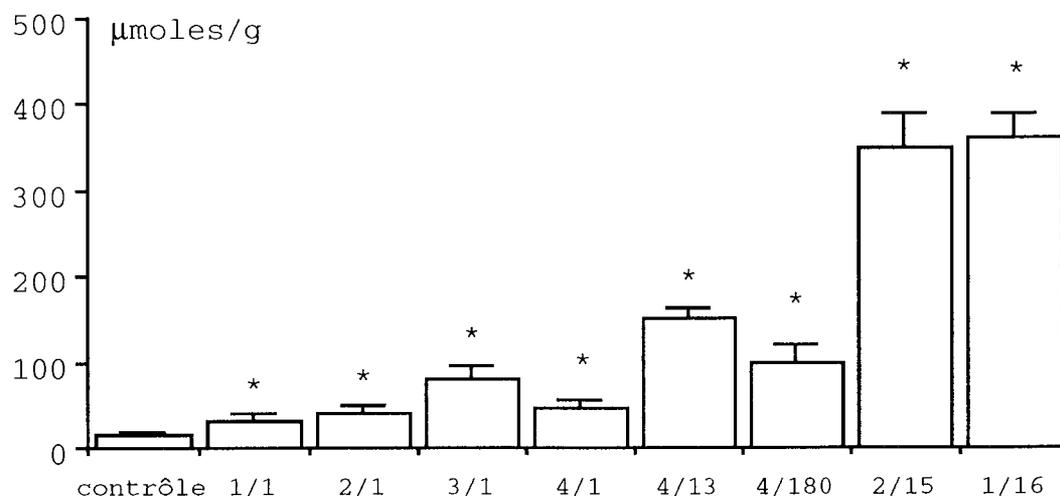


Figure 3 : Contenu en calcium total ($\mu\text{moles/g}$ de poids sec; $m \pm \text{esm}$) de l'aorte thoracique de rats traités par la vitamine D₃ et la nicotine (1/1, 2/1, 3/1, 4/1, 4/13, 4/180, 2/15 et 1/16) et de rats contrôles ($n = 12$ par groupe).

* : $P < 0,05$ par rapport au groupe contrôle.

3.2.3. Modèle de surcharge calcique retenu : 1/16

Le modèle 1/16 présente les avantages suivants : surcharge calcique cardio-vasculaire importante chez des rats en "bonne santé", après un traitement court.

3.2.3.1. Evolution pondérale

Les poids corporels initiaux (jour 1) des rats 1/16 ne diffèrent pas significativement de ceux des rats contrôles

Les rats 1/16 perdent du poids entre les jours 2 et 5 (- 18 %) après le traitement par la vitamine D₃ et la nicotine, puis en reprennent jusqu'au jour 17 (tableau 3, en annexe).

Le taux de croissance journalier des rats, entre les jours 5 et 17 est similaire dans les deux groupes (1/16 : $6,2 \pm 2,0$ g/jour et contrôle : $3,5 \pm 2,1$ g/jour, n = 6 par groupe).

Au dix septième jour, le poids des rats 1/16 reste plus faible et correspond à 72 % de celui des rats contrôles.

Du jour 2 au jour 5, la consommation de nourriture baisse de 76 % dans le groupe 1/16, puis reprend jusqu'au jour 17.

La consommation d'eau n'est pas modifiée par le traitement vitamine D₃ et nicotine (tableau 3, en annexe).

Dans le groupe contrôle, les consommations d'eau et de nourriture ne varient pas entre les jours 1 et 17 et le poids corporel augmente progressivement.

3.2.3.2. Analyse plasmatique

Le traitement par la vitamine D₃ et la nicotine, suivi de 16 jours de repos, abaisse les taux plasmatiques de phosphates (11 %), de sodium (1,4 %), d'urée (20 %), de créatinine (10 %) et l'activité créatine-kinase (24 %), alors que le taux plasmatique de magnésium (2 %) augmente (tableau 4).

Ces modifications sont statistiquement significatives, mais n'ont pas de signification physiopathologique si l'on se réfère aux différents coefficients de variation précisés dans le tableau 1.

Tableau 4 : Analyse plasmatique de rats traités par la vitamine D₃ et la nicotine (1/16) et de rats contrôles.

Groupe	contrôle	1/16
n	41	33
Calcium (mmoles/l)	2,37 ± 0,02	2,40 ± 0,03
Cholestérol (mmoles/l)	1,78 ± 0,14	1,89 ± 0,12
Phosphates (mmoles/l)	2,06 ± 0,08	1,84 ± 0,08*
Triglycérides (mmoles/l)	0,97 ± 0,09	1,14 ± 0,18
Magnésium (mmoles/l)	0,96 ± 0,01	0,98 ± 0,01*
Glucose (mmoles/l)	9,1 ± 0,3	9,2 ± 0,3
Sodium (mmoles/l)	139,00 ± 0,06	137,00 ± 0,10*
Protéines (g/l)	55,2 ± 1,6	60,4 ± 4,8
Potassium (mmoles/l)	4,23 ± 0,11	3,99 ± 0,14
Acide urique (mmoles/l)	54,8 ± 8,5	51,7 ± 6,2
Urée (mmoles/l)	6,6 ± 0,2	5,3 ± 0,2*
Créatinine (µmoles/l)	54,3 ± 1,7	48,9 ± 0,3*

<u>Activités enzymatiques (UI/l)</u>		
HBDH	49,2 ± 5,0	56,2 ± 5,5
CK	250,0 ± 25,0	190,0 ± 22,7*
GOT	66,9 ± 13,5	52,4 ± 2,0
GPT	54,2 ± 7,5	50,4 ± 2,3
PAL	133,0 ± 9,9	142,0 ± 18,7

Les valeurs sont exprimées par $m \pm \text{esm}$; n : nombre d'animaux.

* : $P < 0,05$ par rapport au groupe contrôle.

HBDH : alpha-hydroxybutyrate déshydrogénase; CK : créatine-kinase; GOT : glutamate oxaloacétate transaminase; GPT : glutamate pyruvate transaminase; PAL : phosphatase alcaline

L'évolution de la calcémie, entre le jour 1 et le jour 17, se

caractérise par une augmentation, dont le maximum est atteint entre les jours 3 et 5. La calcémie se normalise ensuite le jour 9 (figure 4).

En parallèle, l'urémie s'élève, atteint un maximum le jour 5, puis rejoint sa valeur normale le jour 9 (figure 4).

Entre les jours 1 et 17, la surcharge calcique de l'aorte augmente progressivement jusqu'au jour 13 et se stabilise à une valeur très supérieure à la valeur de départ (jour 1) (figure 4). Le contenu tissulaire en calcium total de l'aorte est supérieur à la valeur du jour 1 à partir du jour 5.

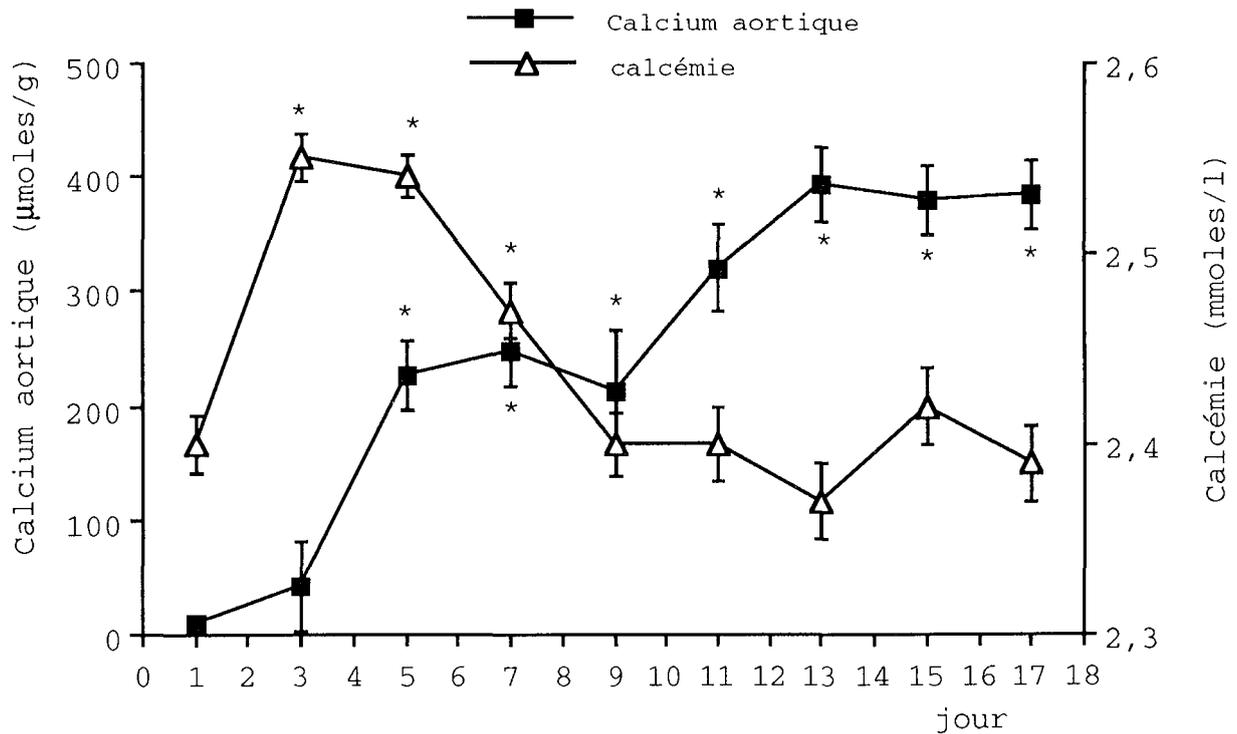


Figure 4 (a) : Evolution du taux de calcium total aortique (n = 6) et de la calcémie (n = 6) chez des rats traités par la vitamine D₃ et la nicotine le jour 1 (1/16) et laissés au repos jusqu'au jour 17. Les valeurs montrées représentent $m \pm \text{esm}$.

* : P < 0,05 par rapport au jour 1.

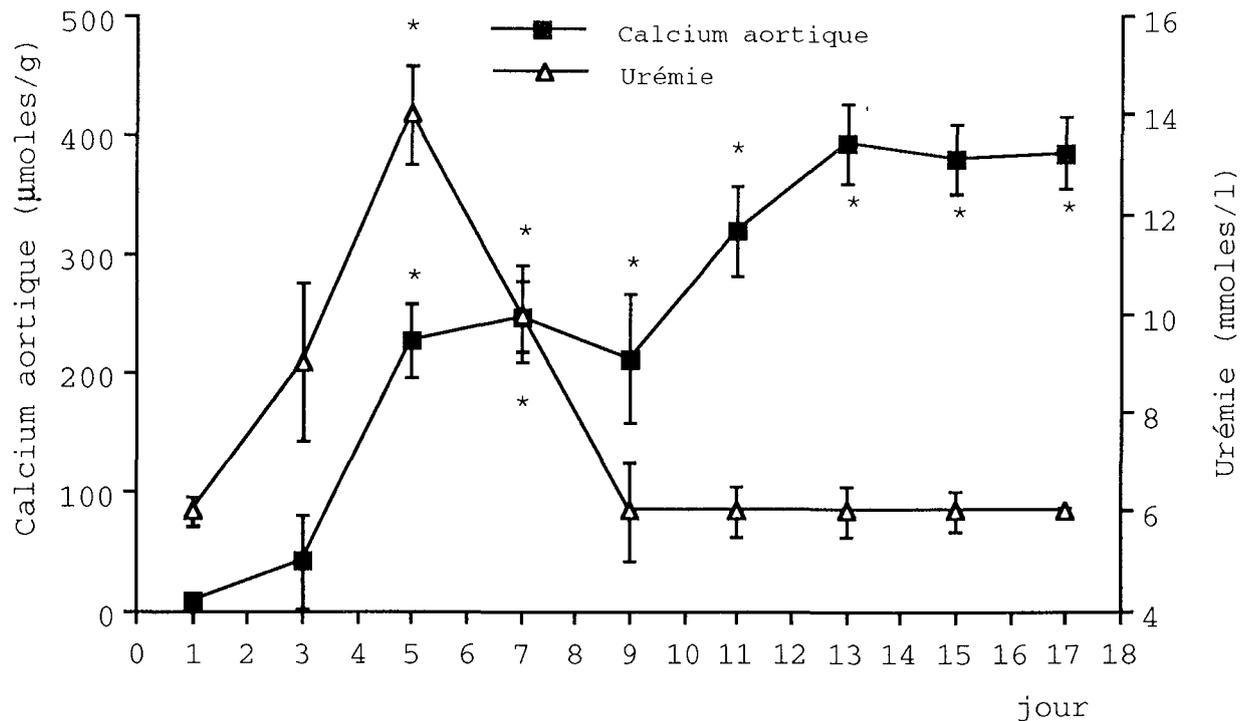


Figure 4 (b) : Evolution du taux de calcium total aortique (n = 6) et de l'urémie (n = 6) chez des rats traités par la vitamine D₃ et la nicotine le jour 1 (1/16) et laissés au repos jusqu'au jour 17. Les valeurs montrées représentent m ± esm.

* : P < 0,05 par rapport au jour 1.

3.2.3.3. Taux tissulaire de calcium, magnésium, sodium, potassium et phosphates

Le contenu en calcium total des tissus cardio-vasculaires augmente considérablement dans le groupe 1/16 (figure 5; tableau 5, en annexe).

Il est à noter que, dans le groupe contrôle, les valeurs moyennes ainsi que leurs coefficients de variation sont similaires à ceux donnés par Fleckenstein et coll. (1983a,b).

Ainsi, pour l'aorte descendante, Fleckenstein et coll. (1983a,b) donnent une valeur moyenne de 20 µmoles/g de poids sec, assortie d'un coefficient de variation de 54 % (n = 8).

Nos propres résultats montrent des valeurs similaires, c'est à dire une valeur moyenne de 16 µmoles/g de poids sec avec un coefficient de variation de 33 % (n = 60).

Dans le cas de l'aorte descendante, le dépassement d'une valeur de 25 $\mu\text{moles/g}$ de poids sec pour le taux de calcium total indiquera une augmentation physiologiquement significative.

Dans le groupe 1/16, l'élévation relative des teneurs tissulaires en calcium du système cardio-vasculaire est la suivante : aorte thoracique (35 fois) > aorte abdominale (20 fois) > artère carotide commune (13 fois) > myocarde (9 fois) > lit mésentérique (3,7 fois) > artère caudale (3,1 fois).

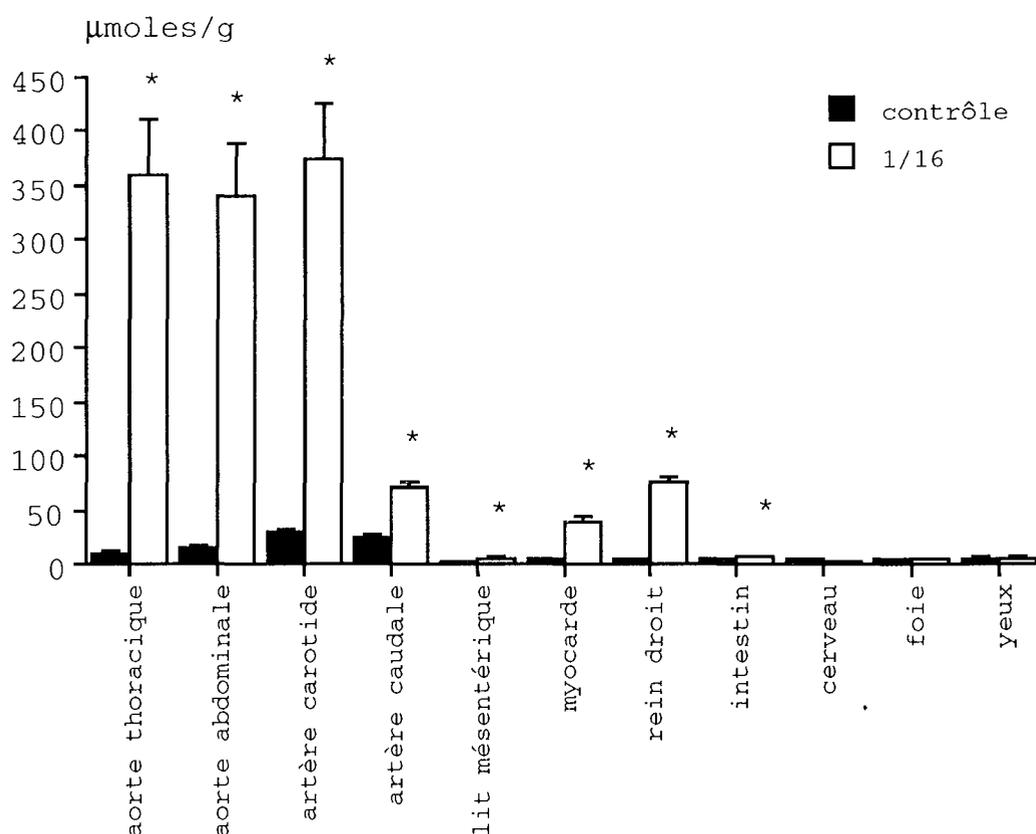


Figure 5 : Taux tissulaire de calcium total ($\mu\text{moles/g}$ de poids sec; $m \pm \text{esm}$) de rats traités par la vitamine D_3 et la nicotine (1/16) et de rats contrôles ($n = 60$ par groupe).

* : $P < 0,05$ par rapport au groupe contrôle.

En appliquant l'argumentation développée dans le pénultième paragraphe, ces élévations relèvent d'une importante signification physiologique.

De plus, le contenu en calcium total s'élève dans les reins (15 fois) et l'intestin (3 fois), organes cibles de la vitamine D₃, et s'abaisse dans le fémur (- 10 %). Il n'est pas significativement modifié dans le cerveau, le foie et les yeux.

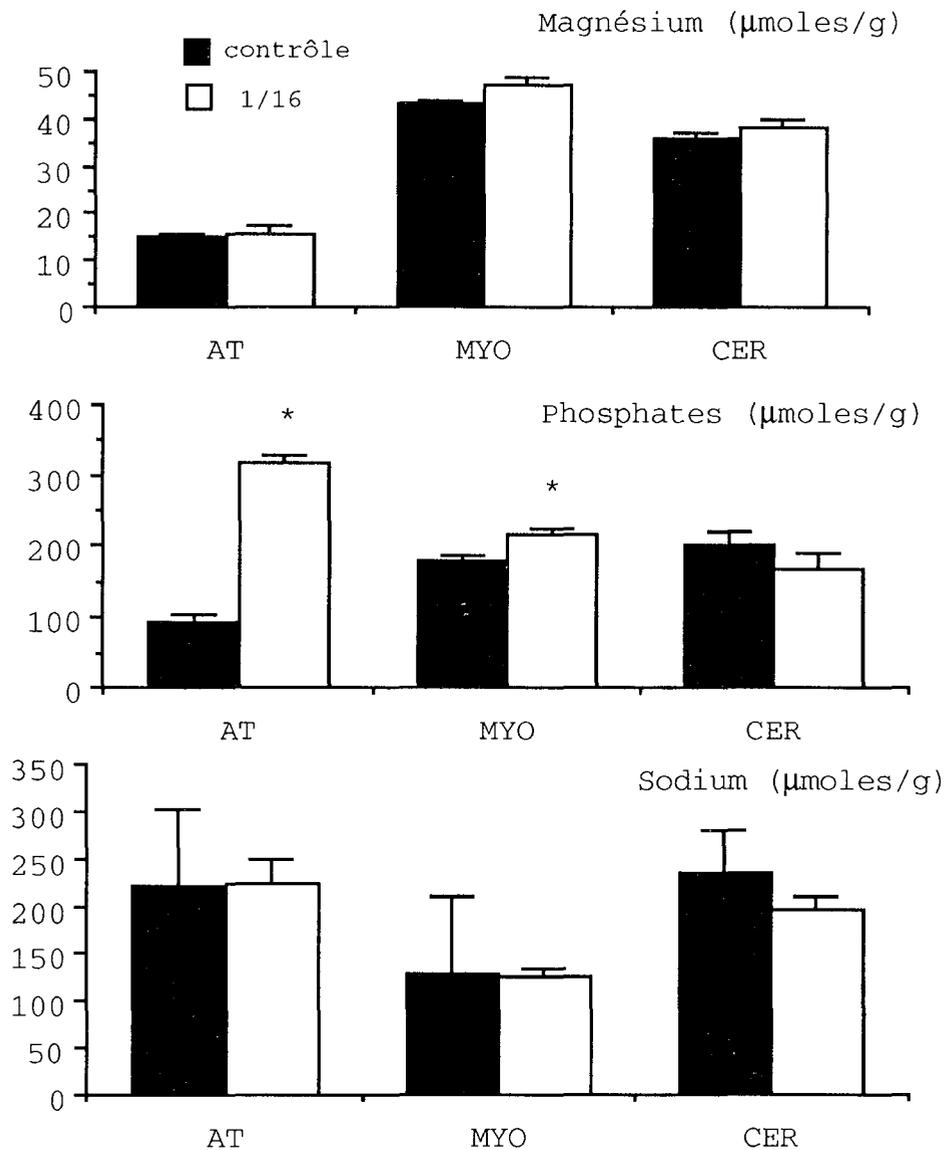


Figure 6 (a): Taux tissulaire (aorte thoracique : AT, myocarde : MYO et cerveau : CER) de magnésium ($n = 60$ par groupe), de phosphates ($n = 12$ par groupe) et de sodium ($n = 12$ par groupe), exprimés en $\mu\text{moles/g}$ de poids sec. Les tissus proviennent de rats traités par la vitamine D₃ et la nicotine (1/16) et de rats contrôles. Les valeurs sont exprimées par $m \pm \text{esm}$.

* : $P < 0,05$ par rapport au groupe contrôle.

Parallèlement au contenu tissulaire en calcium, le contenu tissulaire en phosphates s'élève dans les tissus cardiovasculaires : aorte thoracique (3,4 fois) > artère caudale (1,6 fois) > myocarde (1,2 fois); il augmente également dans les reins (1,5 fois) et n'est pas significativement modifié dans les autres tissus (figure 6; tableau 5, en annexe) Les contenus tissulaires en magnésium, sodium et potassium ne sont pas modifiés par le traitement 1/16 (figure 6; tableau 5, en annexe).

Ce traitement entraîne une hausse du rapport poids sec/poids frais (exprimé en % par rapport au poids frais) dans l'aorte abdominale (16 %), l'aorte thoracique (20 %), l'artère carotide (24 %) et l'artère caudale (30%) (figure 6; tableau 5, en annexe).

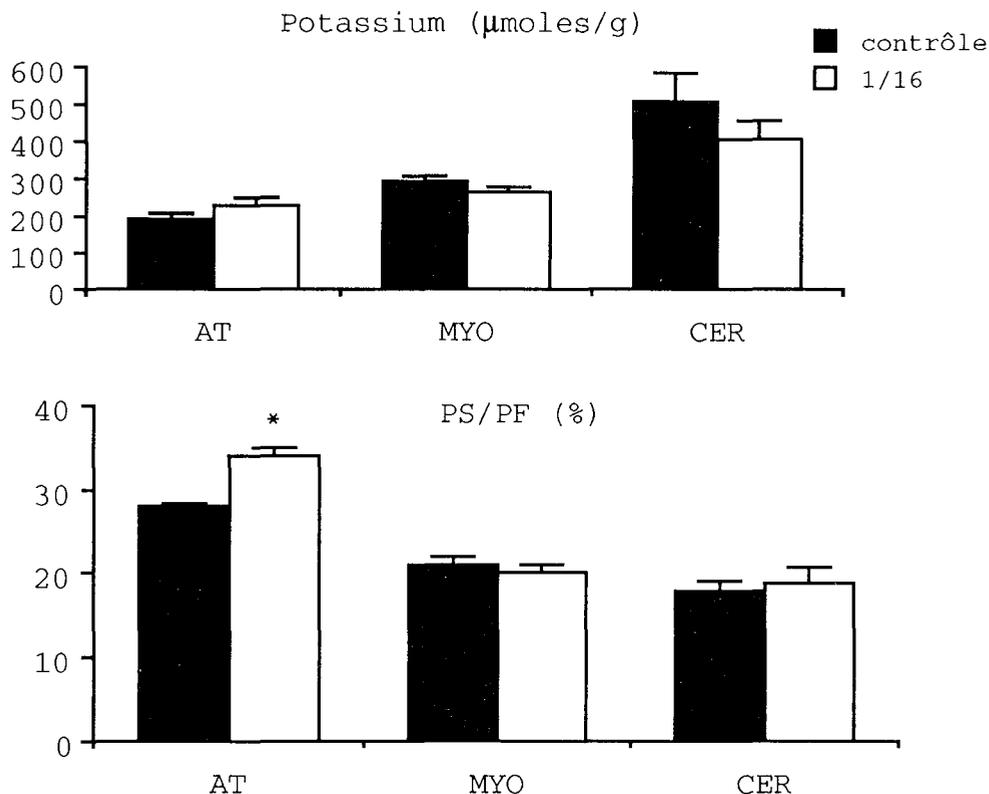


Figure 6 (b): Taux tissulaire (aorte thoracique : AT, artère caudale : AC et myocarde : MYO) de potassium ($\mu\text{moles/g}$ de poids sec) et rapport poids sec/poids frais (PS/PF, exprimé en % par rapport au poids frais) ($n = 12$ par groupe). Les tissus sont isolés de rats traités par la vitamine D₃ et la nicotine (1/16) et de rats contrôles.

Les valeurs sont exprimées par $m \pm \text{esm}$.

* : $P < 0,05$ par rapport au groupe contrôle.

4. CONTRACTILITE IN VITRO (1) : LIT MESENTERIQUE ISOLE ET PERFUSE

4.1. Matériel et méthodes

Les animaux utilisés sont des rats Wistar (définis dans le paragraphe 3.1.1.) et la surcharge calcique est induite par un traitement par la vitamine D₃ et la nicotine (modèle 1/16, paragraphe 3.1.2.)

Après anesthésie du rat par administration ip de pentobarbital, l'artère mésentérique supérieure est isolée et cathétérisée (diamètres interne : 0,58 mm et externe : 0,96 mm; Portex[®], LSA, Fontenay aux Bois, France).

Ce cathéter est inséré sur une distance de 20 mm dans l'artère mésentérique supérieure. Le lit mésentérique est ensuite séparé des intestins (McGregor, 1965) et perfusé par l'artère mésentérique supérieure à un débit de 4 ml/minute (pompe péristaltique, Meyer A.G., Luzern, Suisse) (figure 7).

La solution de perfusion a la composition suivante (mmoles/l) : NaCl 118, KCl 4,7, MgCl₂.6H₂O 1,2, NaH₂PO₄ 1,0, CaCl₂.2H₂O 2,6, NaHCO₃ 25, glucose 11,1. Elle est maintenue à 37°C et oxygénée par un mélange gazeux formé d'O₂ (95%) et de CO₂ (5%). Son pH est de 7,4 ± 0,1.

Un système de débullage est inséré dans le circuit de perfusion (pompe Minipuls[®], Ismatec, Zurich, Suisse, 0,2 ml/minute) afin d'éviter toute altération de l'endothélium vasculaire par des bulles de gaz.

La vasoconstriction artérielle (mm Hg) est estimée à partir des augmentations de pression de perfusion (capteur de pression, Statham, Ato-Rey, Porto-Rico, relié à un enregistreur Polygraphique Beckman, Palo-Alto, Californie, USA).

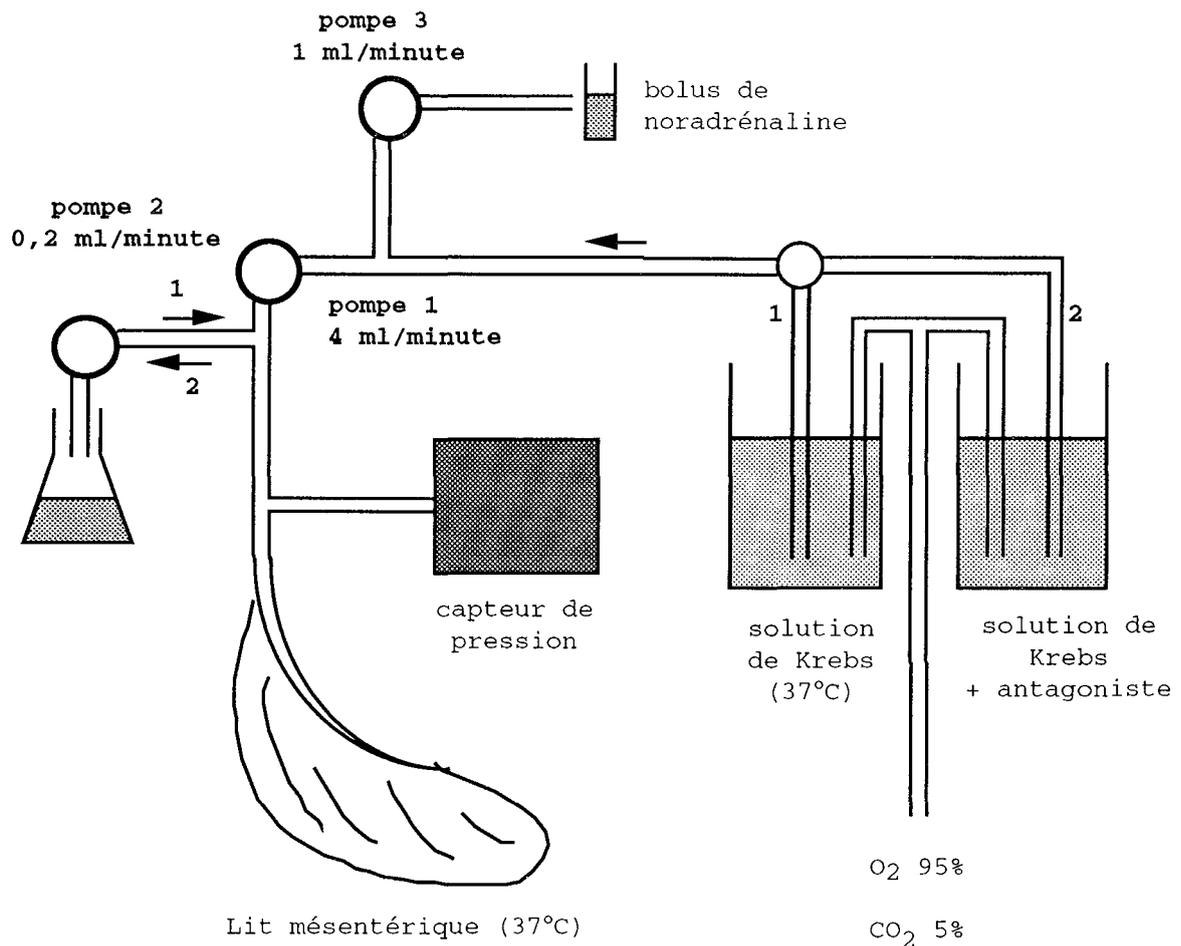


Figure 7 : Schéma du système de perfusion du lit mésentérique isolé de rat. La pompe principale (pompe 1) assure la perfusion de la préparation par un liquide de Krebs contenant (2) ou non (1) l'un des vasodilatateurs utilisés (carbachol, nitroprussiate de sodium, papavérine ou histamine). La pompe 2, dans le sens 2, assure le débullage du liquide de perfusion et, dans le sens 1, la perfusion de bulles d'air pour la destruction de l'endothélium. La pompe 3 permet l'injection de bolus de noradrénaline ou de sérotonine.

Après une période de stabilisation de 15 minutes, une vasoconstriction est induite par injection d'un bolus de noradrénaline ($CE_{50\%}$ moles, dans 0,33 ml, injecté en 20 secondes).

Cette injection est répétée toutes les 5 minutes jusqu'à stabilisation de la réponse obtenue (environ 25 minutes). Après cette période de stabilisation, une courbe "concentration"-réponse est réalisée par injection de "concentrations" croissantes de noradrénaline (3×10^{-10} à 3×10^{-7} mole) toutes les 5 minutes.

Dans une série séparée d'expériences, la sérotonine remplace la noradrénaline et le même protocole est appliqué. Après 15 minutes de stabilisation, la sérotonine est injectée en bolus (0,33 ml en 20 secondes, 3×10^{-9} mole) toutes les 5 minutes pendant 25 minutes environ, puis une courbe "concentration"-réponse est réalisée par injection de "concentrations" croissantes de sérotonine (3×10^{-10} à 10^{-7} mole).

Les "concentrations" de noradrénaline et de sérotonine n'étant pas déterminées au niveau du lit mésentérique, les quantités de chaque agent vasoconstricteur sont exprimées en mole.

Les réponses vasoconstrictrices induites par la noradrénaline et la sérotonine sont exprimées par les paramètres suivants :

- la réponse maximale (mm Hg),
- le seuil de réponse, $CE_{10\text{mmHg}}$, "concentration" nécessaire (nmoles) pour obtenir une réponse de 10 mm Hg,
- la sensibilité moyenne, $CE_{50\%}$, "concentration" nécessaire (nmoles) pour obtenir une réponse égale à la moitié de la réponse maximale.

La vasorelaxation est exprimée par le rapport temps de demi-vasorelaxation (temps nécessaire pour que la pression de perfusion retrouve une valeur égale à la moitié de la valeur du pic de vasoconstriction ou maximum) / hauteur du pic de vasoconstriction (sec/mm Hg)

Après établissement de la courbe "concentration"-réponse, des bolus de noradrénaline (3×10^{-9} mole) sont injectés toutes les 5 minutes jusqu'à stabilisation.

Le lit mésentérique est ensuite perfusé par une solution contenant du carbachol (10^{-9} mole/l) pendant 5 minutes.

A la fin de cette période de 5 minutes, un bolus de noradrénaline (3×10^{-9} mole, dans 0,33 ml, en 20 secondes) est injecté, en présence de carbachol. Le même protocole est répété avec des concentrations croissantes de carbachol jusqu'à 10^{-4} mole/l.

Dans des séries différentes d'expériences, ce protocole est répété avec l'histamine (10^{-9} à 10^{-5} mole/l), le nitroprussiate de

sodium (10^{-9} à 10^{-5} mole/l) et la papavérine (10^{-9} à 10^{-5} mole/l).

L'atténuation de la vasoconstriction induite par le carbachol, l'histamine, le nitroprussiate de sodium ou la papavérine, est exprimée par la vasoconstriction, exprimée en % de la réponse provoquée par la CE50% de la noradrénaline en absence de toute substance vasodilatatrice, obtenue en présence de carbachol, d'histamine, de papavérine ou de nitroprussiate de sodium.

Les paramètres suivants sont mesurés :

- la réponse maximale (%),
- la sensibilité, CI_{50%}, concentration nécessaire (μ moles/l) pour obtenir une réponse égale à la moitié de la réponse maximale.

Le protocole complet a été réalisé sur des séries séparées de lits mésentériques, privés de leur endothélium vasculaire par passage de bulles d'air (Story et Ziogas, 1986), par inversion du système de débullage pendant 5 minutes.

A la fin de chaque expérience, le lit mésentérique est enlevé du circuit de perfusion et la pression de perfusion générée par les tubulures seules enregistrée. Cette dernière est soustraite de la pression mesurée durant l'expérience.

L'analyse statistique des résultats est réalisée comme décrit dans le paragraphe 3.1.5.

4.2. Résultats

En début de perfusion, la résistance du lit mésentérique est inférieure dans le groupe 1/16. Sa valeur est de $10,0 \pm 1,0$ mm Hg/ml/min (n = 12) alors que celle du groupe contrôle est de $15,7 \pm 1,6$ mm Hg/ml/min (n = 11, P < 0,05).

Après 15 minutes de stabilisation, elle est similaire dans les deux groupes 1/16 ($4,5 \pm 0,2$ mm Hg/ml/min, n = 12) et contrôle ($4,7 \pm 0,3$ mm Hg/ml/min, n = 11).

La suppression de l'endothélium augmente non significativement la résistance du lit mésentérique dans les groupes 1/16 et contrôle (1/16 : $4,7 \pm 0,3$, $n = 12$, et contrôle : $5,7 \pm 0,5$ mm Hg/ml/min, $n = 11$).

4.2.1. Courbes concentration-réponse à la noradrénaline

La noradrénaline élève, de façon "concentration"-dépendante, la pression de perfusion dans les groupes contrôle et 1/16 (figure 8).

Dans le groupe 1/16, la réponse maximale (- 51%), le seuil de sensibilité ($CE_{10\text{mmHg}} \times 2,5$) et la sensibilité moyenne ($CE_{50\%} \times 2,1$) à la noradrénaline sont abaissés par rapport aux mêmes paramètres mesurés dans le groupe contrôle (tableau 6, en annexe).

Le retrait de l'endothélium augmente le seuil de sensibilité et la sensibilité moyenne dans les groupes 1/16 ($CE_{10\text{mmHg}} \times 0,42$ et $CE_{50\%} \times 0,59$) et contrôle ($CE_{10\text{mmHg}} \times 0,35$ et $CE_{50\%} \times 0,58$), alors que la réponse maximale n'augmente que dans le groupe 1/16 (+ 16%).

Le rapport "vasoconstriction avec endothélium / vasoconstriction sans endothélium" ne diffère pas entre les groupes 1/16 et contrôle pour les fortes "concentrations" de noradrénaline.

Il est abaissé par le traitement 1/16 aux faibles "concentrations" : pour la "concentration" 0,3 nmole de noradrénaline, les valeurs obtenues sont de $5,8 \pm 0,3$ dans le groupe contrôle et de $3,2 \pm 0,2$ dans le groupe 1/16 ($n = 12$ par groupe, $P < 0,05$); pour la "concentration" 1 nmole de noradrénaline, les valeurs obtenues sont de $4,9 \pm 0,2$ dans le groupe contrôle et de $3,0 \pm 0,2$ dans le groupe 1/16 ($n = 12$ par groupe, $P < 0,05$). (figure 8).

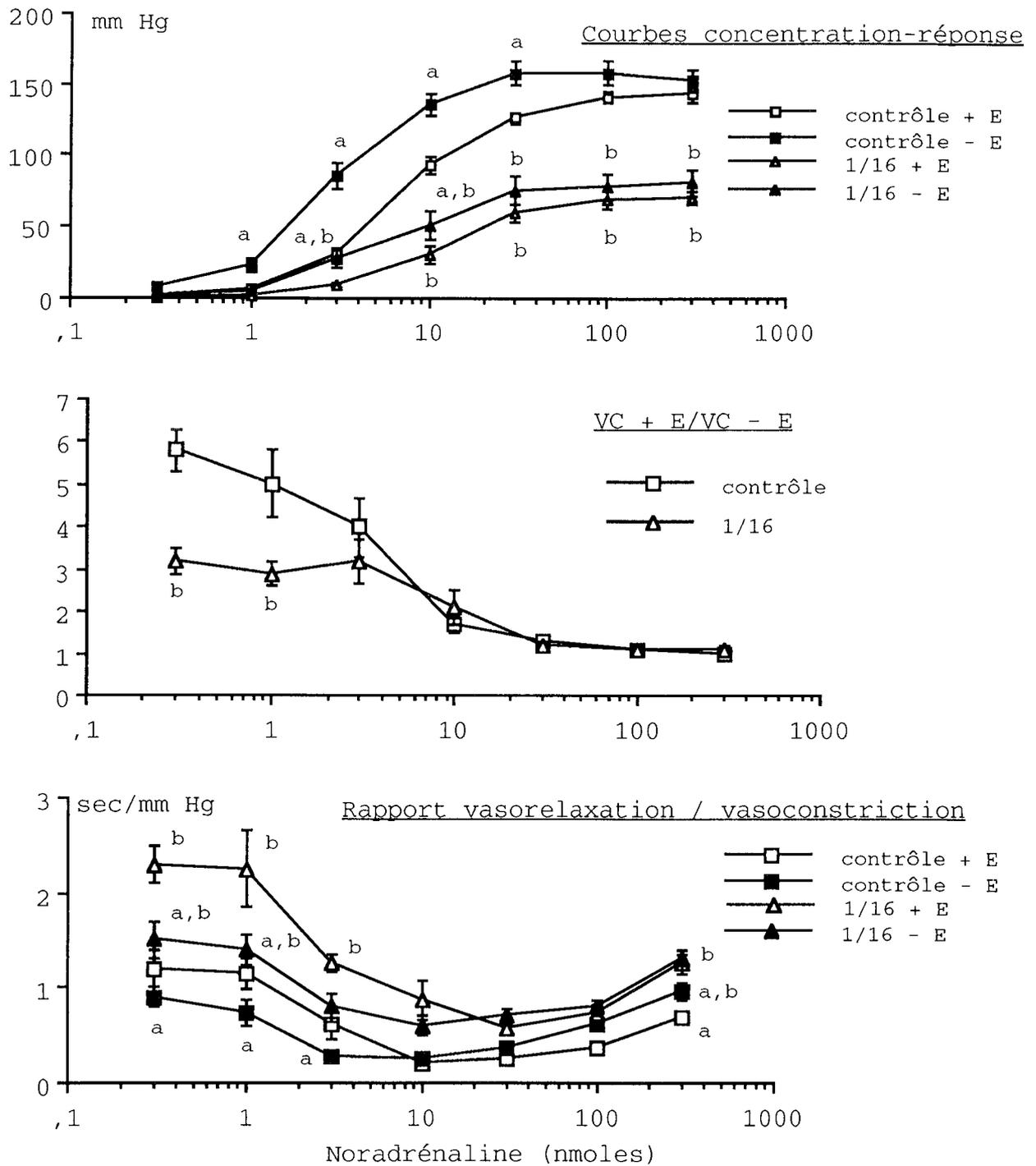


Figure 8 : Courbes "concentration"-réponse à la noradrénaline, rapport "vasoconstriction avec endothélium / vasoconstriction sans endothélium" (VC + E/VC - E) et rapport vasorelaxation / vasoconstriction dans le lit mésentérique de rats 1/16 et contrôles, avec (+ E) ou sans (- E) endothélium (n = 12 par groupe). Les valeurs représentées correspondent à $m \pm \text{esm}$.

a : $P < 0,05$ groupe (- E) par rapport au groupe (+ E) correspondant.

b : $P < 0,05$ par rapport aux groupe contrôle correspondant.

Le rapport "vasorelaxation / vasoconstriction" est multiplié par 1,9 pour la concentration 1 nmole de noradrénaline et par 2,9 pour la concentration 100 nmoles dans le groupe 1/16, indiquant une vasorelaxation plus longue (figure 8).

Ce rapport est abaissé après suppression de l'endothélium, pour les faibles "concentrations" de noradrénaline : dans le groupe 1/16, il diminue de 40 % à la "concentration" 1 nmole et de 33 % dans le groupe contrôle.

Il augmente ($\times 1,8$) pour les fortes "concentrations" dans le groupe contrôle uniquement (figure 8).

Mais, ce rapport "vasorelaxation / vasoconstriction" demeure plus élevé dans le groupe 1/16 ($1,1 \pm 0,1$) que dans le groupe contrôle ($0,8 \pm 0,1$) pour la "concentration" 100 nmoles de noradrénaline .

4.2.2. Courbes concentration-réponse à la sérotonine

La sérotonine élève, de façon "concentration"-dépendante, la pression de perfusion dans les groupes 1/16 et contrôle (figure 9).

La réponse maximale est abaissée de 31 % dans le groupe 1/16 par comparaison avec le groupe contrôle (tableau 6, en annexe).

Par contre, le seuil de sensibilité et la sensibilité moyenne ne changent pas d'un groupe à l'autre (tableau 6, en annexe).

En l'absence d'endothélium, la réponse maximale augmente dans les groupes 1/16 (+ 75%) et contrôle (+ 55%), contrairement au seuil de sensibilité et à la sensibilité moyenne (tableau 6, en annexe).

En l'absence d'endothélium, la réponse maximale induite par la sérotonine reste plus faible dans le groupe 1/16 que celle du groupe contrôle (- 22%); le seuil de sensibilité et la sensibilité moyenne demeurent similaires dans les deux groupes.

Le rapport "vasoconstriction sans endothélium / vasoconstriction avec endothélium" n'est pas modifié pour les

"concentrations" de sérotonine supérieures à 3 nmoles (figure 9).

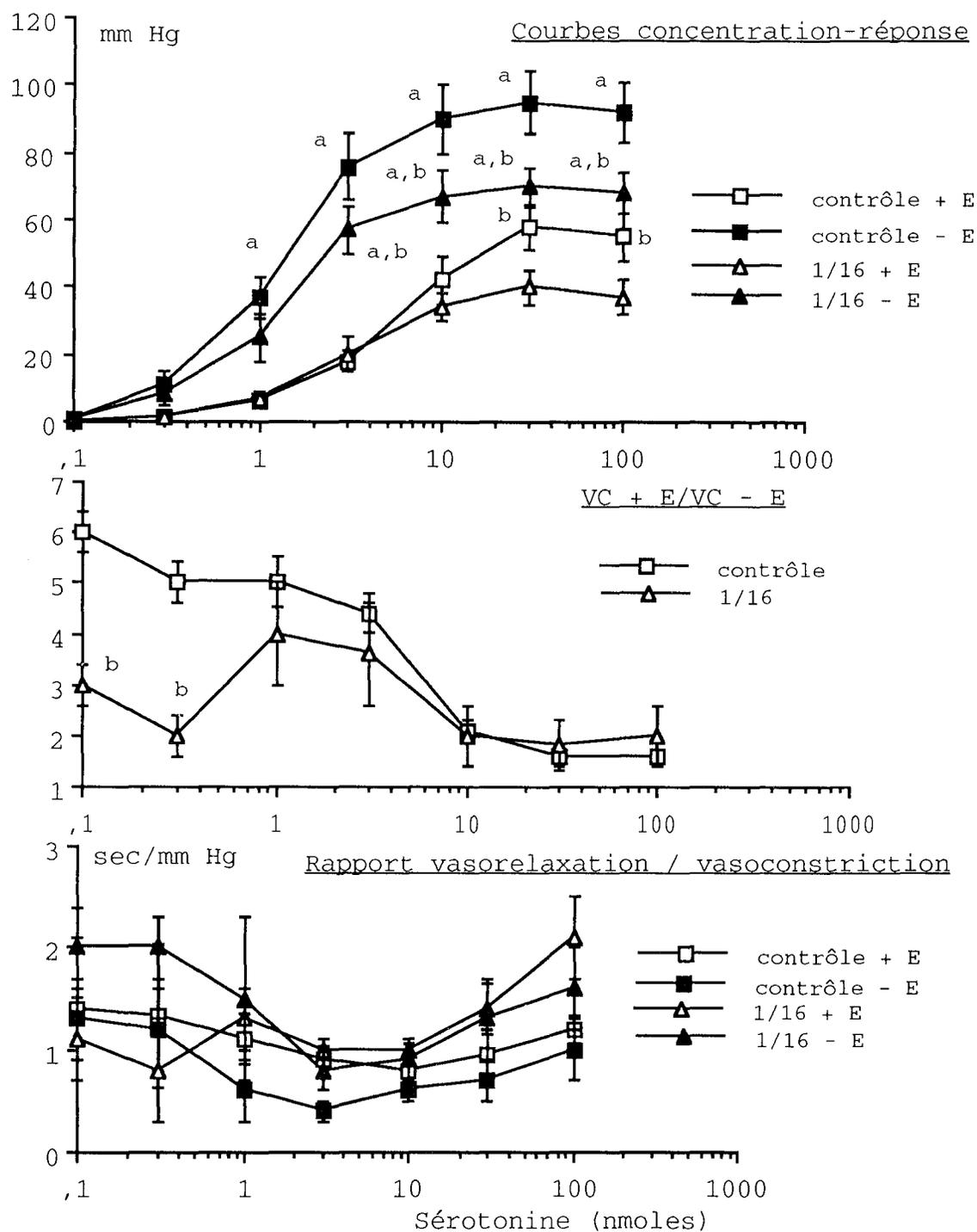


Figure 9 : Courbes "concentration"-réponse à la sérotonine, rapport "vasoconstriction avec endothélium / vasoconstriction sans endothélium" (VC + E/VC - E) et rapport vasorelaxation / vasoconstriction dans le lit mésentérique isolé de rats 1/16 et contrôles, avec (+ E) ou sans (- E) endothélium (n = 12 par groupe). Les valeurs représentées correspondent à $m \pm$ esm. a : P < 0,05 groupe (- E) par rapport au groupe (+ E) correspondant. b : P < 0,05 groupe 1/16 par rapport au groupe contrôle correspondant.

Il est abaissé par le traitement 1/16 pour les faibles "concentrations" : de 48 % à la "concentration" 0,1 nmole et de 63 % à la "concentration" 1 nmole de sérotonine (figure 9).

La vasorelaxation (sec/mm Hg) n'est atténuée, ni par le traitement 1/16, ni par l'absence d'endothélium (figure 9).

4.2.3. Vasorelaxations dépendantes ou non de l'endothélium vasculaire

4.2.3.1. Carbachol

Le carbachol inhibe les vasoconstrictions induites par la noradrénaline dans le lit mésentérique de rats 1/16 et contrôles (figure 10).

L'inhibition obtenue est réduite par le traitement 1/16 : l'amplitude de la réponse maximale est divisée par 3 et la sensibilité au carbachol diminuée ($CI_{50\%} \times 10$) (tableau 7, en annexe).

En absence d'endothélium, les effets du carbachol sont abolis dans les groupes 1/16 et contrôle.

La vasoconstriction induite par la noradrénaline, avant la première concentration de carbachol, est plus faible dans le groupe 1/16, avec (35 ± 4 mm Hg, groupe contrôle : 57 ± 4 mm Hg, $P < 0,05$) ou sans endothélium (46 ± 4 mm Hg, groupe contrôle : 76 ± 4 mm Hg, $P < 0,05$).

4.2.3.2. Histamine

L'histamine inhibe les vasoconstrictions induites par la noradrénaline dans le lit mésentérique de rats 1/16 et contrôles (figure 10).

L'inhibition est réduite par le traitement 1/16 : l'amplitude de la réponse maximale est divisée par 2, sans modification de la sensibilité à l'histamine (tableau 7, en annexe).

En l'absence d'endothélium, les effets de l'histamine sont

abolis dans les groupes 1/16 et contrôle.

La vasoconstriction induite par la noradrénaline, avant la première concentration d'histamine, est plus faible dans le groupe 1/16 avec (38 ± 3 mm Hg, groupe contrôle: 70 ± 3 mm Hg, $P < 0,05$) ou sans endothélium (42 ± 2 mm Hg, groupe contrôle: 80 ± 4 mm Hg, $P < 0,05$).

4.2.3.3. Papavérine

La papavérine inhibe les vasoconstrictions induites par la noradrénaline dans le lit mésentérique isolé de rats 1/16 et contrôle (figure 10).

L'inhibition obtenue n'est modifiée, ni par le traitement 1/16, ni par l'absence d'endothélium (tableau 7, en annexe).

La vasoconstriction induite par la noradrénaline, avant la première concentration de papavérine, est plus faible dans le groupe 1/16 avec (31 ± 3 mm Hg, groupe contrôle : 60 ± 5 mm Hg, $P < 0,05$) ou sans endothélium (50 ± 5 mm Hg, groupe contrôle : 70 ± 3 mm Hg, $P < 0,05$).

4.2.3.4. Nitroprussiate de sodium

Le nitroprussiate de sodium inhibe les vasoconstrictions induites par la noradrénaline dans le lit mésentérique isolé de rats 1/16 et contrôles (figure 10; tableau 7, en annexe). Le traitement 1/16 n'a pas d'effet sur le degré d'inhibition obtenu.

L'absence d'endothélium provoque une augmentation de la sensibilité, sans modification de la réponse maximale, dans les groupes 1/16 et contrôle : en présence d'endothélium, la valeur de la $CI_{50\%}$ est respectivement multipliée par 1,8 et par 2,6 par rapport à celle obtenue sans endothélium dans ces groupes.

La vasoconstriction induite par la noradrénaline, avant la première concentration de nitroprussiate de sodium, est plus faible dans le groupe 1/16 avec (43 ± 5 mm Hg, groupe contrôle : 80 ± 5 mm Hg, $P < 0,05$) ou sans endothélium (60 ± 3 mm Hg, groupe contrôle : 92 ± 5 mm Hg, $P < 0,05$).

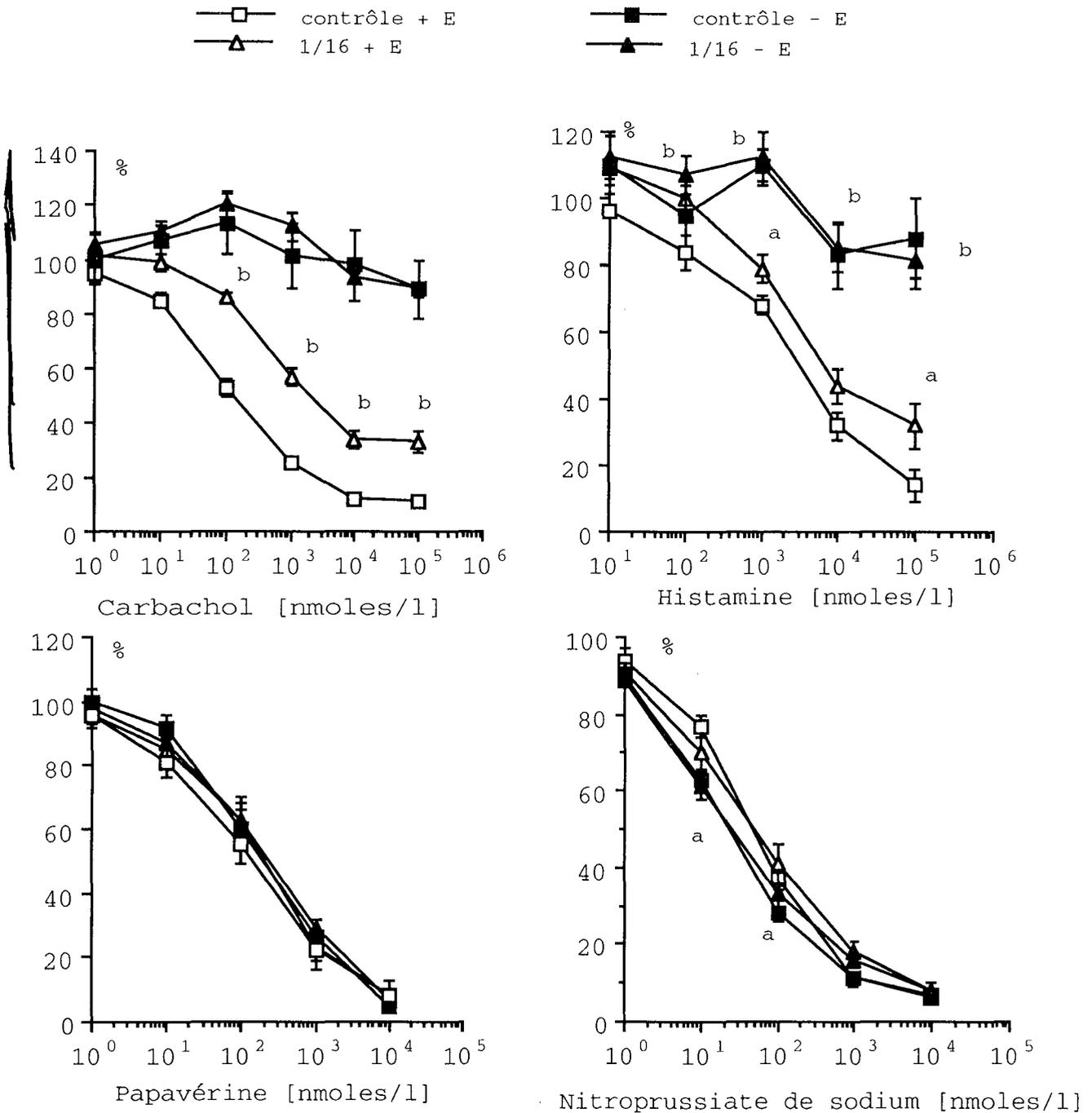


Figure 10 : Vasoconstriction, exprimée en % de la réponse provoquée par la CE₅₀% de la noradrénaline en absence de toute substance vasodilatatrice, obtenue en présence de carbachol, d'histamine, de papavérine ou de nitroprussiate de sodium sur le lit mésentérique isolé de rats 1/16 ou contrôles, avec (+ E) ou sans (- E) endothélium (n = 12 par groupe). Les valeurs représentées correspondent à m ± esm. ^a : P < 0,05 groupe (- E) par rapport au groupe (+ E) correspondant. ^b : P < 0,05 groupe 1/16 par rapport au groupe contrôle correspondant.

5. CONTRACTILITE IN VITRO (2) : AORTE ISOLEE (MODELE 1/16)

5.1. Matériel et méthodes

les animaux utilisés sont des rats Wistar (définis dans le paragraphe 3.1.1.) et la surcharge calcique est induite par un traitement par la vitamine D3 et la nicotine selon le modèle 1/16, défini dans le paragraphe 3.1.2.

Après anesthésie par le pentobarbital sodique (50 mg/kg, ip), l'aorte thoracique est isolée et débarrassée des tissus adhérents.

Un anneau de 3 mm de largeur est prélevé dans la zone proche de la crosse aortique et installé entre deux tiges métalliques dont l'une est fixe et l'autre reliée à un capteur isométrique (Apelex, Ugo Basile, Comesio, Italie). L'anneau d'aorte est alors soumis à une tension de 0,8 g.

Il est plongé dans une solution physiologique, dont la composition est la suivante, en mmol/l : NaCl 118; KCl 4,7; $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ 1,2; NaH_2PO_4 1,0; $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ 2,6; $NaHCO_3$ 25; glucose 11,1. Elle est maintenue à 37°C et oxygénée par bullage d'un mélange de O_2 (95 %) et CO_2 (5 %). Le pH est de $7,4 \pm 0,1$ (figure 11).

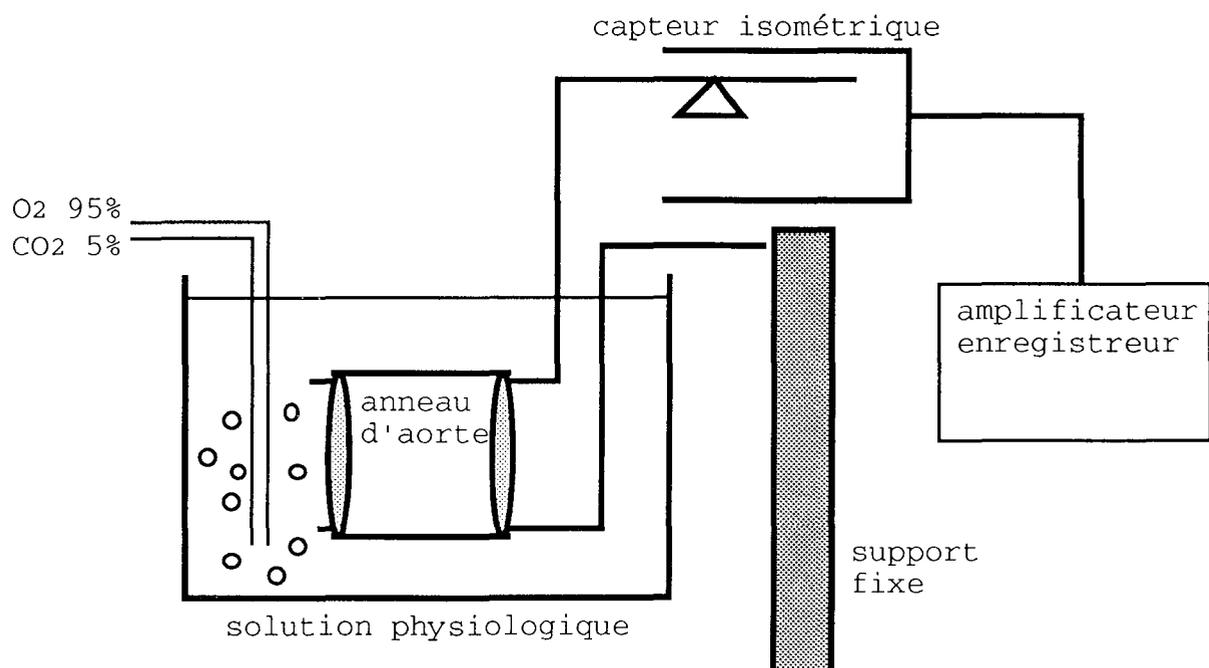


Figure 11 : Schéma du montage de l'anneau d'aorte isolée de rat.

Après 90 minutes d'équilibration, des concentrations de noradrénaline sont ajoutées au bain cumulativement, afin de provoquer une contraction de 0,5 g environ.

Au plateau de la contraction, des concentrations croissantes de carbachol (10^{-9} à 10^{-4} mole/l) sont ajoutées de façon cumulative au bain.

Après plusieurs lavages avec la solution physiologique et une période de 30 minutes de repos, une courbe concentration-réponse à la noradrénaline est construite par ajouts de concentrations croissantes de noradrénaline dans le bain (3×10^{-9} à 3×10^{-6} mole/l).

Les réponses vasoconstrictrices induites par la noradrénaline sont exprimées par :

- la tension maximale (g),
- le seuil de sensibilité, $CE_{0,1g}$, concentration requise pour obtenir une réponse de 0,1 g,
- la sensibilité moyenne, $CE_{50\%}$, concentration requise pour obtenir une réponse égale à la moitié de la tension maximale.

La relaxation spontanée, après la courbe concentration-réponse, est estimée par le temps de demi-vasorelaxation, temps nécessaire pour que la tension maximale (plateau) diminue de moitié. Elle est exprimée par le rapport du temps de demi-vasorelaxation à la valeur du maximum (min/g).

Après plusieurs lavages avec la solution physiologique et une période de 30 minutes de repos, des concentrations croissantes de noradrénaline sont additionnées au bain afin d'obtenir une tension de 0,5 g environ.

Lorsque le plateau est atteint, le nitroprussiate de sodium est ajouté en concentrations croissantes (10^{-10} à 10^{-5} mole/l) de façon cumulative dans le bain.

La relaxation par le carbachol ou le nitroprussiate de sodium de l'anneau d'aorte précontracté par la noradrénaline est exprimée :

- en pourcentage (%) par rapport à la contraction induite par la

noradrénaline avant ajout de la première concentration de carbachol ou de nitroprussiate de sodium,
 - par la sensibilité moyenne, $CI_{50\%}$, concentration nécessaire pour obtenir une relaxation de 50 %.

L'analyse statistique des résultats est réalisée comme décrit dans le paragraphe 3.1.5.

5.2. Résultats

5.2.1. Courbes concentration-réponse à la noradrénaline

La noradrénaline augmente de façon concentration-dépendante la tension de l'anneau d'aorte dans les groupes 1/16 et contrôle (figure 12).

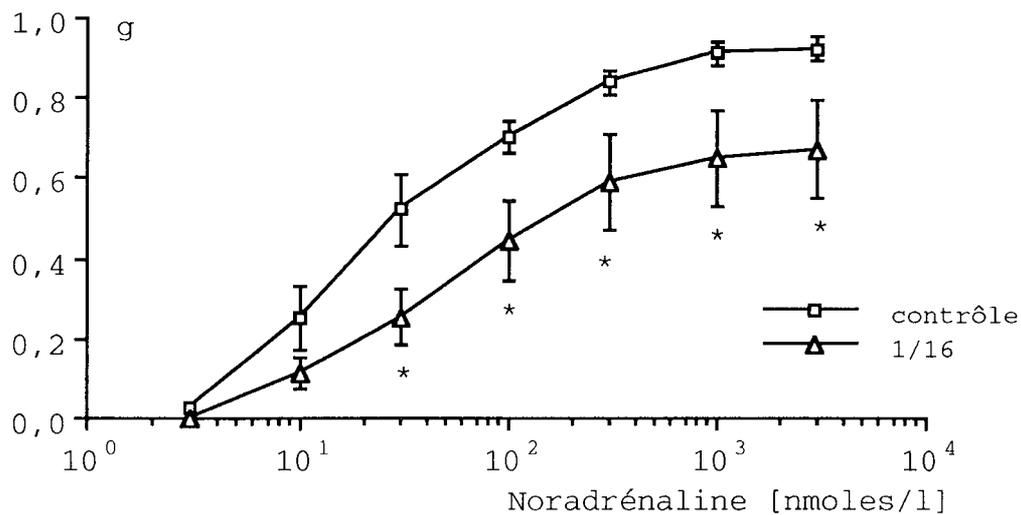


Figure 12 : Courbes concentration-réponse à la noradrénaline obtenues sur des anneaux d'aorte isolée de rats traités par la vitamine D₃ et la nicotine (1/16) ou de rats contrôles (n = 7 par groupe).

Les valeurs représentées correspondent à $m \pm \text{esm}$.

* : $P < 0,05$ par rapport au groupe contrôle.

Dans le groupe 1/16, la tension maximale et la sensibilité moyenne sont abaissées par rapport à celles du groupe contrôle.

La réponse maximale, dans le groupe 1/16, est en effet de $0,67 \pm 0,12$ g alors qu'elle est de $0,92 \pm 0,03$ g dans le groupe

contrôle (n = 7 par groupe, P < 0,05).

De même, la CE_{50%} du groupe 1/16 est de 53 ± 14 nmoles/l, celle du groupe contrôle n'étant que de 25 ± 6 nmoles/l (n = 7 par groupe, P < 0,05).

Le seuil de sensibilité, quant à lui, ne change pas significativement puisque les valeurs de CE_{0,1g} obtenues sont respectivement de 9,1 ± 4,1 nmoles/l et de 4,6 ± 1,4 nmoles/l dans les groupes 1/16 et contrôle (n = 7 par groupe).

La relaxation consécutive à la vasoconstriction induite par la noradrénaline est abaissée par le traitement vitamine D₃ et nicotine : dans le groupe 1/16, le temps de relaxation est de 31,6 ± 9,4 min/g, alors qu'il n'est que de 12,5 ± 2,0 min/g dans le groupe contrôle (n = 7 par groupe, P < 0,05).

5.2.2. Vasorelaxations dépendantes ou non de l'endothélium vasculaire

5.2.2.1. Carbachol

Le carbachol relaxe de façon concentration-dépendante l'anneau d'aorte de rat précontracté par la noradrénaline dans les groupes 1/16 et contrôle (figure 13).

Le traitement par la vitamine D₃ et la nicotine diminue la réponse maximale et la sensibilité au carbachol. Les valeurs maximales atteintes sont respectivement de 39 ± 5% et de 10 ± 2% dans les groupes 1/16 et contrôle (n = 7 par groupe, P < 0,05).

La CI_{50%}, dans le groupe 1/16 (4,0 ± 2,1 μmoles/l), est effectivement supérieure à celle du groupe contrôle (0,25 ± 0,01 μmole/l) (n = 7 par groupe, P < 0,05).

5.2.2.2. Nitroprussiate de sodium

Le nitroprussiate de sodium relaxe de façon concentration-dépendante l'anneau d'aorte de rat précontracté par la noradrénaline dans les groupes 1/16 et contrôle (figure 13).

Le traitement par la vitamine D₃ et la nicotine (groupe 1/16) n'altère pas significativement cette relaxation. L'effet maximal (4 ± 3 %) est similaire à celui du groupe contrôle (1 ± 1 %). Il en est de même des CI₅₀% dont les valeurs respectives sont de $4,3 \pm 1,7$ nmoles/l et de $2,3 \pm 1,1$ nmoles/l dans les groupes 1/16 et contrôle (n = 7 par groupe).

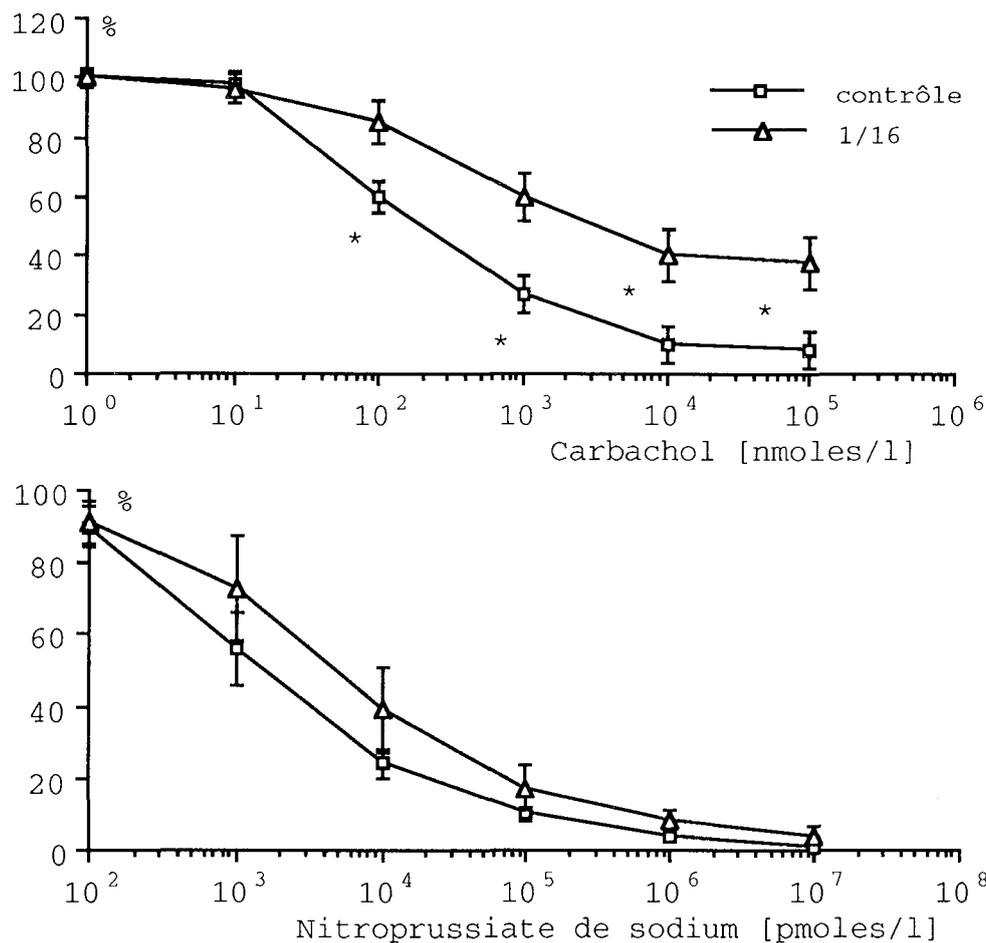


Figure 13 : Vasoconstriction, exprimée en % de la réponse provoquée par la CE₅₀% de la noradrénaline en absence de toute substance vasodilatatrice, obtenue en présence de carbachol ou de nitroprussiate de sodium sur des anneaux d'aorte précontractés par la noradrénaline, provenant de rats traités par la vitamine D₃ et la nicotine (1/16), ou de rats contrôles (n = 7 par groupe). Les résultats sont exprimés en $m \pm esm$.

* : P < 0,05 par rapport au groupe contrôle.

6. TRAITEMENT PAR DES INHIBITEURS DE L'ENZYME DE CONVERSION ET PAR UN INHIBITEUR DE FLUX CALCIQUES (MODELE 1/16)

6.1. Matériel et méthodes

Les deux groupes de rats contrôles et 1/16 (définis dans les paragraphes 3.1.1. et 3.1.2.) sont traités par un inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine I (perindopril ou captopril), par un inhibiteur de flux calciques (isradipine) ou par du soluté physiologique (NaCl 0,15 M).

Le traitement par la vitamine D₃ et la nicotine a lieu le jour 1.

Le traitement par le perindopril, le captopril, l'isradipine ou le NaCl 0,15 M débute le jour 2 et finit le jour 16. Les expériences se déroulent le jour 17.

Du jour 2 au jour 16, les rats des groupes contrôle et 1/16, reçoivent une injection ip à 9h00, de perindopril, de captopril, d'isradipine ou de NaCl 0,15 M, sous un volume de 0,5 ml/kg.

Ainsi, 7 groupes sont définis :

NaCl :	1 injection quotidienne de NaCl 0,15 M (groupe contrôle)
P0,3 :	1 injection quotidienne de perindopril, 0,3 mg/kg
P1 :	1 injection quotidienne de perindopril, 1 mg/kg
P3 :	1 injection quotidienne de perindopril, 3 mg/kg
C3 :	1 injection quotidienne de captopril, 3 mg/kg
C10 :	1 injection quotidienne de captopril, 10 mg/kg
IS1 :	1 injection quotidienne d'isradipine, 1 mg/kg

Le jour 17 (à partir de 13h00, le traitement étant arrêté depuis la veille, soit depuis 28h00), les expériences suivantes sont réalisées :

1. Analyse plasmatique (paragraphe 3.1.4.)
2. Prélèvement de tissus pour le dosage du taux tissulaire de calcium total (paragraphe 3.1.3.).

3. Réactivité vasculaire in vitro sur le lit mésentérique isolé (paragraphe 4.1.) et sur l'aorte isolée (paragraphe 5.1.)

L'analyse statistique des résultats est réalisée comme décrit dans le paragraphe 3.1.5.

6.2. Résultats

6.2.1. Evolution pondérale

L'évolution pondérale des rats (tableau 8, en annexe) n'est pas modifiée par le traitement NaCl 0,15 M, dans les groupes 1/16 et contrôle, par rapport aux groupes correspondants sans traitement par le NaCl 0,15 M, décrits dans les chapitres précédents (paragraphe 3.2.3.1.).

Le perindopril, à la dose de 3 mg/kg, provoque une perte significative de poids le jour 17, dans les groupes contrôle (-6%) et 1/16 (-13%) en comparaison des groupes 1/16 et contrôle NaCl correspondants. Les doses de 0,3 et 1 mg/kg sont sans effet.

Le captopril et l'isradipine ne modifient pas significativement l'évolution pondérale des rats 1/16 et contrôles, par rapport aux groupes 1/16 et contrôle NaCl correspondants.

Le taux de croissance (jours 5 à 17) des rats 1/16 et contrôles, n'est modifié par aucun des traitements (perindopril, captopril et isradipine), par rapport aux groupes NaCl correspondants. De plus, les taux de croissance ne diffèrent pas entre groupes 1/16 et contrôles, quel que soit le traitement (NaCl 0,15 M, perindopril, captopril ou isradipine).

6.2.2. Contenu tissulaire en calcium total

Le contenu en calcium total des tissus de rats 1/16 et contrôles traités par le NaCl 0,15 M ne diffère pas de celui des rats correspondants, non traités par le NaCl 0,15 M (chapitres

précédents), à l'exception du contenu en calcium de l'artère carotide, plus élevé de 44 % dans les groupes contrôle NaCl et 1/16 NaCl et du cerveau, moins élevé de 32 % dans le groupe contrôle NaCl et de 47 % dans le groupe 1/16 NaCl (figure 14 et tableau 9, en annexe).

Le rapport entre les groupes 1/16 et contrôle demeure toutefois similaire. Les tissus cardio-vasculaires de rats 1/16, traités par le NaCl 0,15 M, présentent une surcharge calcique dont la sélectivité est la suivante : aorte thoracique (x 31) > aorte abdominale (x 23) > artère carotide (x 13) > myocarde (x 9,5) > lit mésentérique (x 3,9) > artère caudale (x 2,5).

La surcharge calcique atteint également les reins (x 17) et l'intestin (x 1,4), et le contenu en calcium du fémur est abaissé (diaphyse - 15% et épiphyse - 10%).

Le cerveau, le foie et les yeux ne sont pas touchés par l'accumulation de calcium.

Le perindopril (0,3, 1 ou 3 mg/kg) et le captopril (3 ou 10 mg/kg) ne modifient pas le contenu tissulaire en calcium total des groupes contrôle ou 1/16. Ainsi, ils n'empêchent pas la surcharge calcique induite par le traitement par la vitamine D₃ et la nicotine (figure 14 et tableau 9, en annexe).

L'isradipine (1 mg/kg) protège les vaisseaux de résistance de la surcharge calcique engendrée par le traitement vitamine D₃ et nicotine. Dans le groupe 1/16, traité par l'isradipine, l'artère caudale et le lit mésentérique possèdent un contenu tissulaire en calcium total similaire à celui des vaisseaux correspondants dans le groupe contrôle recevant l'isradipine, mais non traités par la vitamine D₃ et la nicotine (figure 14 et tableau 9, en annexe).

L'isradipine n'empêche pas la surcharge calcique des vaisseaux de compliance (aorte, artère carotide), du myocarde, des reins et de l'intestin (tableau 9, en annexe).

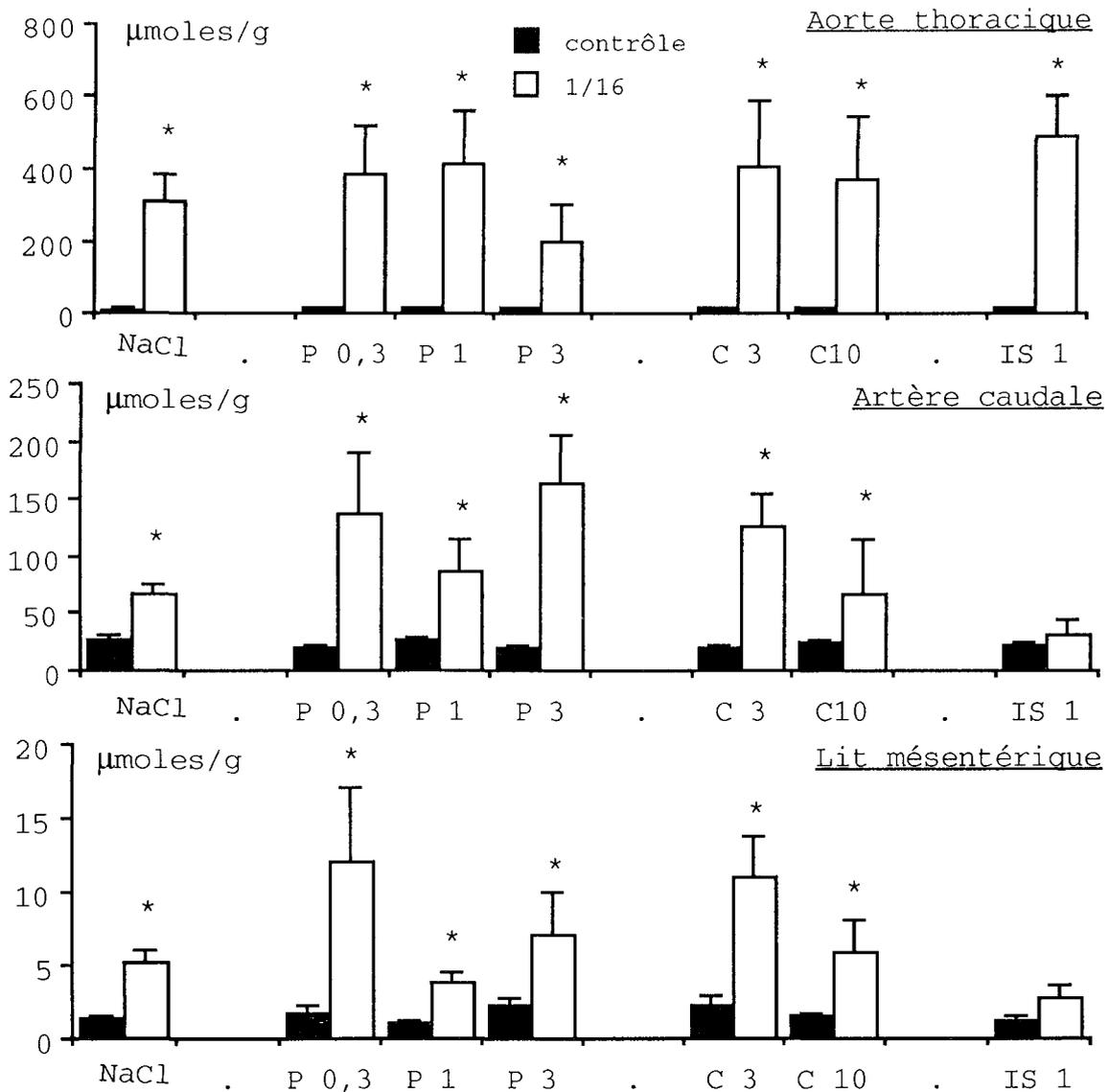


Figure 14 : Contenu tissulaire ($\mu\text{moles/g}$ de poids sec; $m \pm \text{esm}$) en calcium total de l'aorte thoracique, de l'artère caudale et du lit mésentérique de rats 1/16 et contrôles, traités par le NaCl 0,15 M (NaCl), le perindopril à la dose de 0,3 (P0,3), 1 (P1) ou 3 mg/kg (P3), le captopril à la dose de 3 (C3) ou 10 mg/kg (C10) ou l'isradipine à la dose de 1 mg/kg (IS1) par voie ip.

* : $P < 0,05$ par rapport au groupe contrôle.

6.2.3. Analyse plasmatique

Les rats 1/16 NaCl présentent une baisse de la créatininémie et de la phosphatémie, par rapport au groupe contrôle NaCl (tableau 10, en annexe).

Le traitement par le perindopril, quelle que soit la dose, des rats contrôles ne modifie significativement aucun des paramètres mesurés, par rapport aux contrôles NaCl.

Chez les rats 1/16 les modifications de la créatininémie et de la phosphatémie ne sont pas significatives. Il en est de même pour les autres paramètres mesurés, à l'exception de la PAL qui est augmentée dans le groupe 1/16 traité par le perindopril à la dose de 3 mg/kg, par rapport aux rats contrôles P3 (tableau 10, en annexe).

Le traitement par le captopril, quelle que soit la dose employée, des rats contrôles ne modifie significativement aucun des paramètres mesurés, par rapport aux contrôles NaCl.

Chez les rats 1/16 traités par le captopril à la dose de 3 mg/kg, seules les activités de la GOT et de la PAL sont augmentées, par rapport à celles mesurées dans les groupes contrôle et 1/16 traités par le NaCl 0,15 M (tableau 10, en annexe).

Le traitement par l'isradipine, à la dose de 1 mg/kg, des rats contrôles et 1/16 ne modifie significativement que l'activité de la GOT : celle-ci est augmentée dans les groupes contrôle et 1/16, par rapport aux contrôles NaCl correspondants (tableau 10, en annexe).

Les variations observées sont "minimes" si l'on considère les coefficients de variations des paramètres mesurés (tableau 1 et remarques sur les techniques de dosages employées, chapitre 3.2.1.)

6.2.4. Lit mésentérique isolé et perfusé

6.2.4.1. Traitement par le NaCl 0,15 M

Le traitement des rats 1/16 et contrôles par le NaCl 0,15 M ne modifie ni la pression de perfusion de base, ni la réactivité à la noradrénaline, au carbachol et au nitroprussiate de sodium par rapport aux groupes correspondants sans traitement par le NaCl

0,15 M, étudiés dans les chapitres précédents.

Aucune différence significative n'apparaît entre les groupes contrôles P0,3, P1, P3, C3, C10, IS1 et NaCl, quant à la pression de perfusion de base du lit mésentérique isolé et perfusé (figure 15), à la réactivité à la noradrénaline (figures 15, 16, 17 et 18), que ce soit dans les groupes 1/16 ou contrôles, avec ou sans endothélium.

L'administration de NaCl 0,15 M ne modifie pas les effets du traitement des rats par la vitamine D₃ et la nicotine. Les différences entre les groupes contrôles et 1/16 sont les mêmes que dans les chapitres précédents, où les rats n'étaient pas traités par le NaCl 0,15 M.

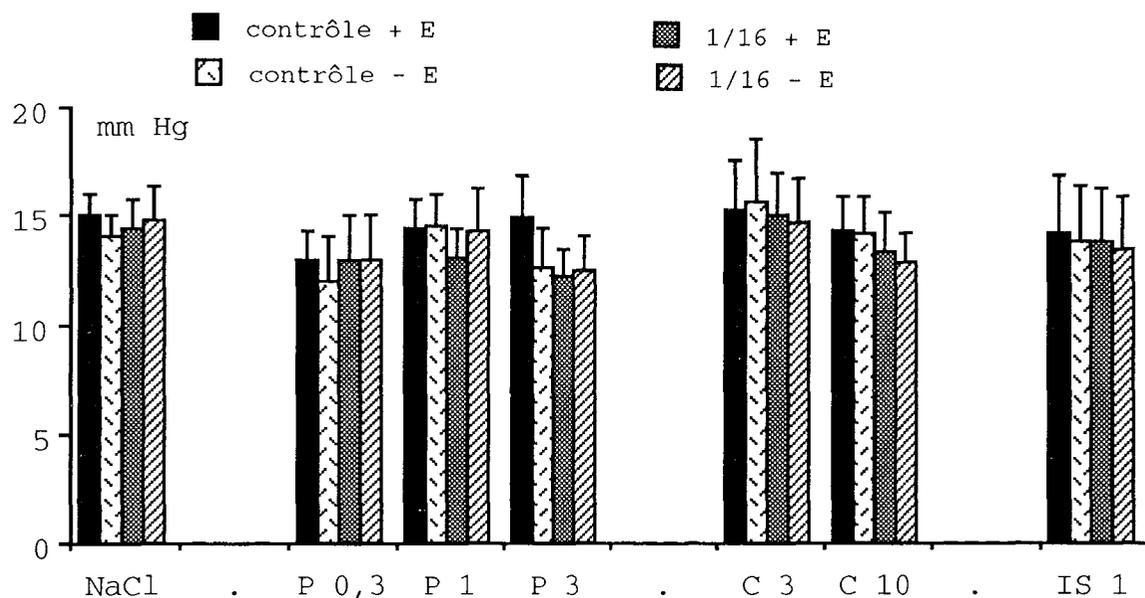


Figure 15 : Pression de perfusion de base ($m \pm esm$) de lits mésentériques isolés de rats 1/16 et contrôles, avec ou sans endothélium, traités par le NaCl 0,15 M (NaCl), le perindopril à la dose de 0,3 (P0,3), 1 (P1) ou 3 mg/kg (P3), le captopril à la dose de 3 (C3) ou 10 mg/kg (C10) ou l'isradipine à la dose de 1 mg/kg (IS1) ($n = 12$ par groupe).

6.2.4.2. Traitement par le perindopril

Le traitement par le perindopril ne change pas la pression de

perfusion de base des lits mésentériques isolés de rats 1/16 ou contrôles, que l'endothélium soit présent ou absent (figure 15).

La baisse de réactivité à la noradrénaline entraînée par le traitement des rats par la vitamine D₃ et la nicotine (groupe 1/16), est prévenue par le perindopril aux doses de 1 et 3 mg/kg, mais non à la dose de 0,3 mg/kg.

Le seuil de sensibilité (CE_{10mmHg}) est amélioré dans les groupes 1/16 P1 et P3, avec ou sans endothélium : les groupes 1/16 P1 et P3 ne sont pas significativement différents des groupes contrôles P1 et P3 (figure 16; tableau 11, en annexe). Dans les groupes 1/16 P0,3 et NaCl, le seuil de sensibilité est plus élevé (CE_{10mmHg} supérieure) que celui des groupes contrôles P0,3 et NaCl.

En absence d'endothélium, le seuil de sensibilité est abaissé (CE_{10mmHg} plus faible) dans les groupes contrôles NaCl, P0,3, P1, et P3. Dans le groupe 1/16 NaCl, l'absence d'endothélium ne modifie pas significativement la CE_{10mmHg}, alors que dans les groupes 1/16 P1 et P3, elle augmente le seuil de sensibilité à la noradrénaline : les valeurs de CE_{10mmHg} des groupes 1/16 P1 et P3 ne sont pas différentes de celles des groupes contrôles P1 et P3 correspondants.

La sensibilité moyenne (CE_{50%}) à la noradrénaline est elle aussi améliorée dans les groupes 1/16 P1 et P3 par rapport au groupe 1/16 NaCl, avec ou sans endothélium : les groupes 1/16 P1 et P3 sont similaires aux groupes contrôles P1 et P3 (figure 16; tableau 11, en annexe). Dans les groupes 1/16 NaCl et P0,3, la sensibilité moyenne à la noradrénaline est augmentée par rapport aux contrôles NaCl et P0,3, avec ou sans endothélium.

L'absence d'endothélium abaisse la CE_{50%}, traduisant une augmentation de sensibilité moyenne dans tous les groupes, et les différences ou similarités entre contrôles et 1/16 sont les mêmes qu'en présence d'endothélium.

La réponse maximale à la noradrénaline (figure 16; tableau 11, en annexe) est améliorée dans les groupes 1/16 P1 et P3 par

rapport au groupe 1/16 NaCl, avec ou sans endothélium. En effet, la réponse maximale des groupes 1/16 P1 et P3 est similaire à celle des groupes contrôles P1 et P3 et significativement plus élevée que celle du groupe 1/16 NaCl.

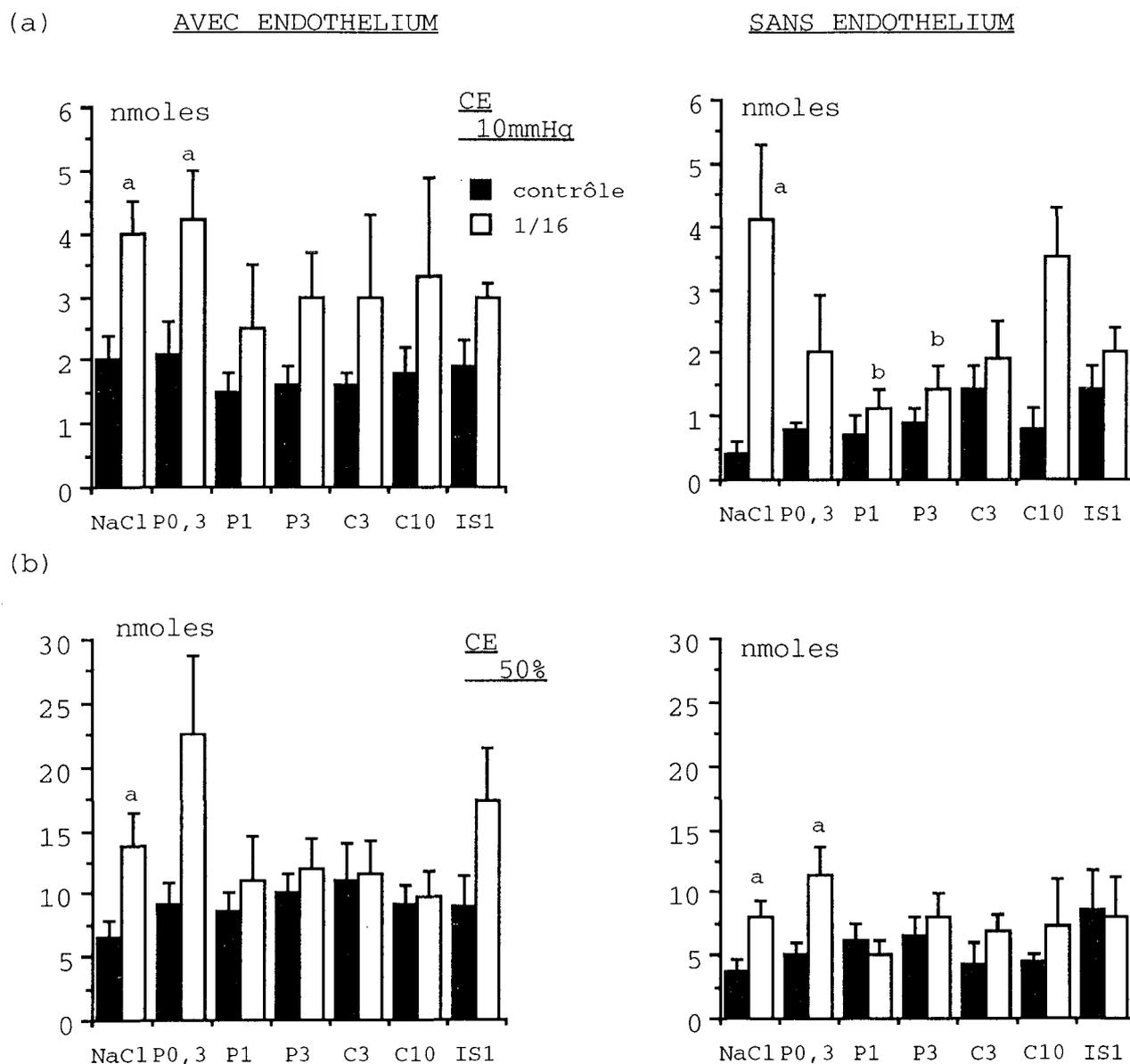


Figure 16 (a, b) : Valeurs ($m \pm \text{esm}$) du seuil de sensibilité (CE_{10mmHg}; a) et de la sensibilité moyenne (CE_{50%}; b) à la noradrénaline de lits mésentériques, avec ou sans endothélium, de rats 1/16 et contrôles, traités par le NaCl 0,15 M (NaCl), le perindopril à la dose de 0,3 (P0,3), 1 (P1) ou 3 mg/kg (P3), le captopril à la dose de 3 (C3) ou 10 mg/kg (C10) ou l'isradipine à la dose de 1 mg/kg (IS1) ($n = 12$ par groupe).

a : $p < 0,05$ par rapport au groupe contrôle correspondant.

b : $p < 0,05$ par rapport au groupe NaCl correspondant.

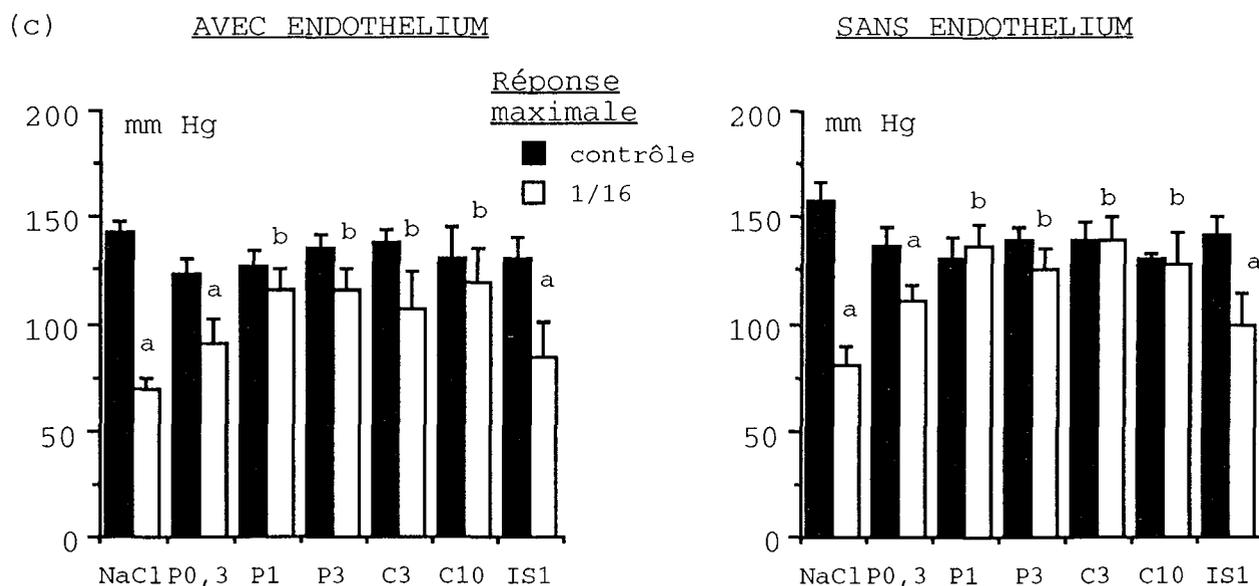


Figure 16 (c): Réponse maximale ($m \pm \text{esm}$) à la noradrénaline de lits mésentériques, avec ou sans endothélium, de rats 1/16 et contrôles, traités par le NaCl 0,15 M (NaCl), le perindopril à la dose de 0,3 (P0,3), 1 (P1) ou 3 mg/kg (P3), le captopril à la dose de 3 (C3) ou 10 mg/kg (C10) ou l'isradipine à la dose de 1 mg/kg (IS1) ($n = 12$ par groupe).

a : $P < 0,05$ par rapport au groupe contrôle correspondant.

b : $P < 0,05$ par rapport au groupe NaCl correspondant.

Dans les groupes 1/16 NaCl et P0,3, la réponse maximale à la noradrénaline est abaissée par rapport à celle évaluée chez les animaux contrôles NaCl et P0,3, avec ou sans endothélium.

L'absence d'endothélium ne modifie pas la réponse maximale à la noradrénaline et les différences ou similarités entre groupes contrôles et 1/16 sont les mêmes qu'en présence d'endothélium. Le rapport "vasoconstriction avec endothélium / vasoconstriction sans endothélium" (rapport $VC + E / VC - E$) a une valeur de $5,05 \pm 0,23$ dans le groupe contrôle NaCl pour une "concentration" de noradrénaline de 1 nmole (figure 17). Il baisse progressivement pour des "concentrations" croissantes de noradrénaline jusqu'à une valeur proche de 1 ($0,88 \pm 0,12$ dans le groupe contrôle NaCl) pour les "concentrations" les plus élevées, proches du maximum.

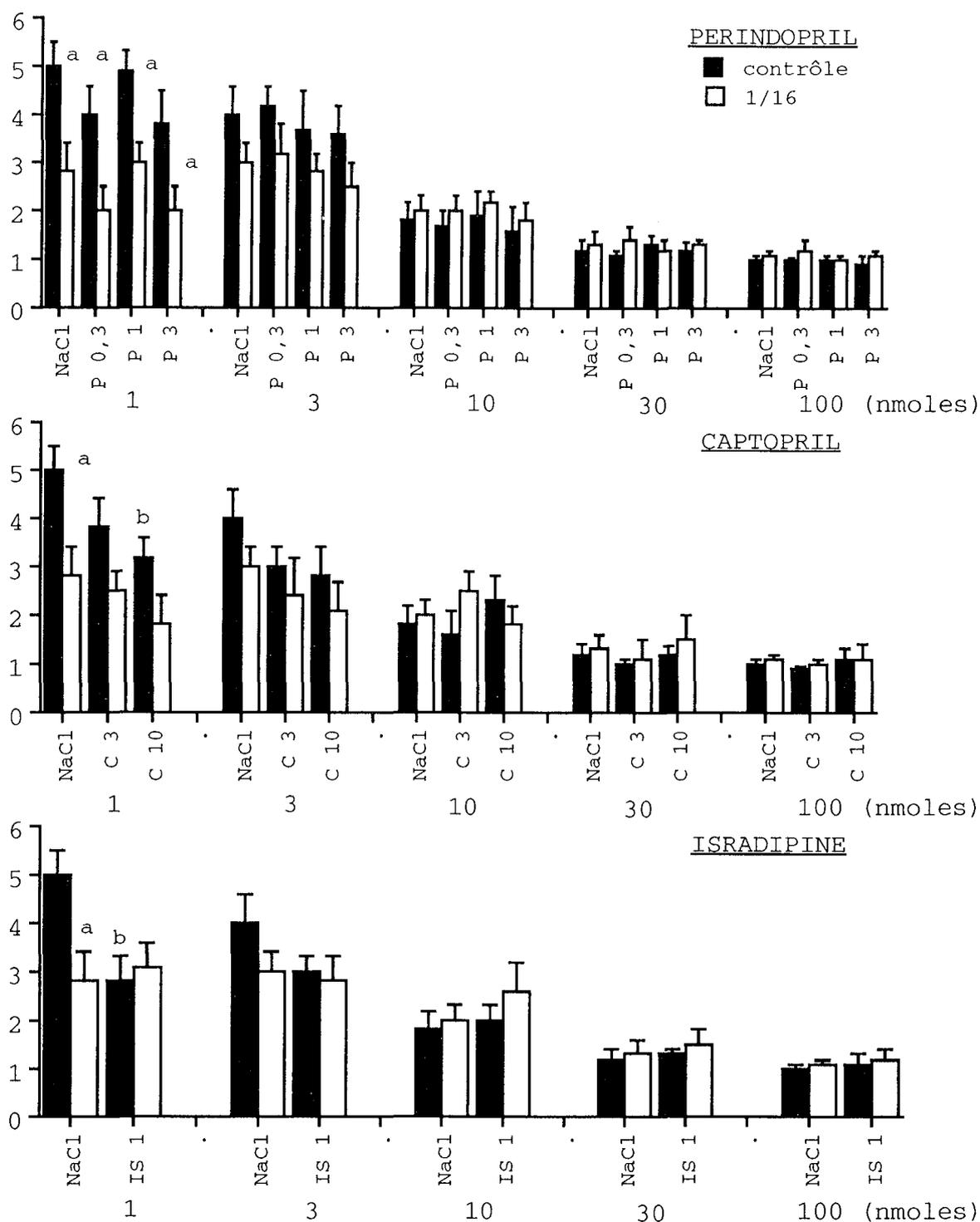


Figure 17 : Rapport "vasoconstriction avec endothélium / vasoconstriction sans endothélium" ($m \pm esm$) d'après les courbes "concentration"-réponse à la noradrénaline (1 à 100 nmoles) obtenues sur le lit mésentérique isolé de rats 1/16 et contrôles, traités par le NaCl 0,15 M (NaCl), le perindopril à la dose de 0,3 (P0,3), 1 (P1) ou 3 mg/kg (P3), le captopril à la dose de 3 (C3) ou 10 mg/kg (C10) ou l'isradipine à la dose de 1 mg/kg (IS1) ($n = 12$ par groupe).

a : $P < 0,05$ par rapport au groupe contrôle correspondant.

b : $P < 0,05$ par rapport au groupe NaCl correspondant.

Ceci montre que le rôle modulateur de l'endothélium vasculaire s'exerce puissamment sur les vasoconstrictions induites par de faibles "concentrations" de noradrénaline et qu'il baisse progressivement quand les vasoconstrictions induites sont plus fortes.

Le traitement par la vitamine D₃ et la nicotine abaisse le rapport $VC + E/VC - E$ pour les faibles "concentrations" de noradrénaline (significativement pour 1 nmole), ce qui indique une atteinte endothéliale dans le groupe 1/16 (figure 17).

Pour de plus fortes "concentrations" de noradrénaline, les groupes 1/16 et contrôles ne sont plus différents. Le perindopril (groupes P0,3, P1 et P3) n'a pas d'effet significatif sur le rapport $VC + E/VC - E$, aussi bien dans le groupe 1/16 que dans le groupe contrôle, par rapport au NaCl 0,15 M.

Le rapport "vasorelaxation/vasoconstriction" (VR/VC), calculé à partir des courbes "concentration"-réponse à la noradrénaline, a une valeur comprise entre 0,5 et 1 sec/mm Hg dans les groupes contrôles, quelle que soit la "concentration" de noradrénaline (3 et 30 nmoles représentées sur la figure 18).

La suppression de l'endothélium s'accompagne d'une baisse du rapport VR/VC, dans tous les groupes, pour la "concentration" faible de noradrénaline (3 nmoles), alors qu'à forte "concentration" (30 nmoles) ce rapport s'élève.

Dans le groupe NaCl, le traitement des rats par la vitamine D₃ et la nicotine augmente significativement le rapport VR/VC, en présence ou en absence d'endothélium.

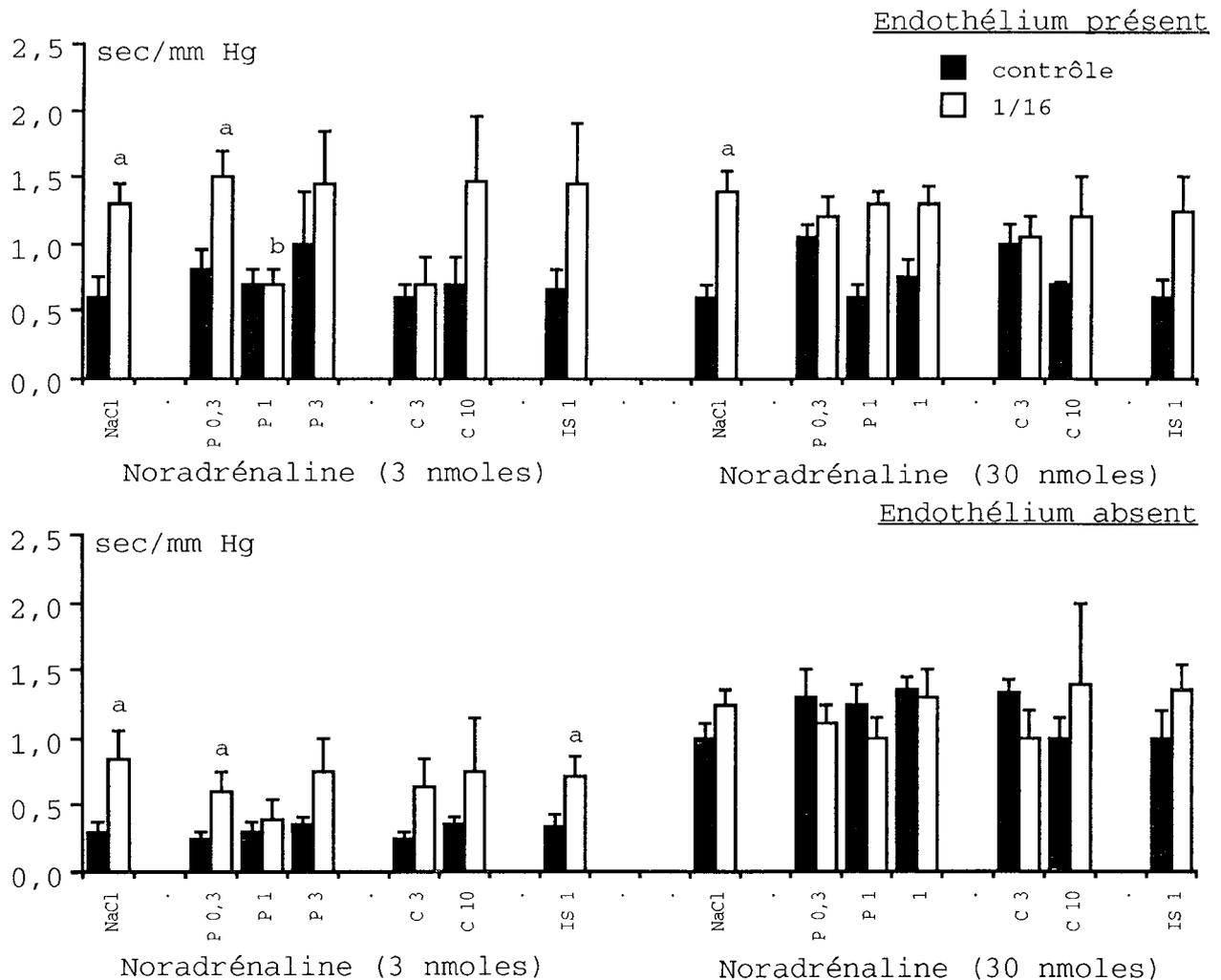


Figure 18 : Rapport asorelaxation / vasoconstriction (sec/mm Hg; $m \pm esm$), d'après les courbes "concentration"-réponse à la noradrénaline obtenues sur le lit mésentérique isolé de rats 1/16 et contrôles, traités par le NaCl 0,15 M (NaCl), le perindopril à la dose de 0,3 (P0,3), 1 (P1) ou 3 mg/kg (P3), le captopril à la dose de 3 (C3) ou 10 mg/kg (C10) ou l'isradipine à la dose de 1 mg/kg (IS1) ($n = 12$ par groupe).

a : $P < 0,05$ par rapport au groupe contrôle correspondant.

b : $P < 0,05$ par rapport au groupe NaCl correspondant.

Le traitement des rats 1/16 par le perindopril améliore la vasorelaxation du lit mésentérique contracté par la noradrénaline à la "concentration" de 3 nmoles (groupe P1 uniquement), en présence ou en absence d'endothélium, par rapport au groupe NaCl. Il n'y a pas d'effet significatif pour la "concentration" de 30 nmoles de noradrénaline.

Le perindopril ne modifie pas significativement la sensibilité moyenne (CI_{50%}) et le maximum de relaxation (%) au carbachol sur le lit mésentérique isolé, dans les groupes contrôles P0,3, P1 et P3, par rapport au groupe contrôle NaCl (figure 19; tableau 12, en annexe).

La sensibilité moyenne et la relaxation maximale sont abaissées par le traitement des rats par la vitamine D₃ et la nicotine : la CI_{50%} et le % maximal de relaxation sont augmentés (figure 19).

Après traitement des rats 1/16 par le perindopril, la sensibilité moyenne (groupes P0,3, P1 et P3) et le maximum de relaxation (groupes P1 et P3, mais non P0,3) sont identiques aux valeurs contrôles correspondantes, et sont améliorés par rapport au groupe 1/16 NaCl.

La fonction endothéliale est donc préservée par le perindopril dans le lit mésentérique des rats 1/16.

La sensibilité moyenne au nitroprussiate de sodium et le maximum de relaxation qu'il entraîne dans le lit mésentérique isolé, ne sont pas modifiés par le traitement des rats par la vitamine D₃ et la nicotine : la CI_{50%} et le % maximal de relaxation sont augmentés (figure 20; tableau 12, en annexe).

Après traitement des rats 1/16 et contrôles par le perindopril, aucun de ces deux paramètres n'est significativement modifiés.

6.2.4.3. Traitement par le captopril

Le traitement par le captopril ne modifie pas la pression de base du lit mésentérique isolé de rats 1/16 ou contrôles, que l'endothélium soit présent ou absent (figure 15).

Le seuil de sensibilité à la noradrénaline est amélioré par le traitement par le captopril : les groupes 1/16 C3 et C10 ne sont pas significativement différents des groupes contrôles C3 et C10 (CE_{10mmHg}, figure 16; tableau 11, en annexe).

En absence d'endothélium, le seuil de sensibilité à la noradrénaline n'est amélioré que dans le groupe 1/16 C3 : le seuil de sensibilité de ce groupe n'est pas significativement différent de celui du groupe contrôle C3, mais est abaissé par rapport à celui du groupe 1/16 NaCl.

La sensibilité moyenne (CE_{50%}) est également améliorée par le traitement par le captopril : les groupes 1/16 C3 et C10 ne sont pas significativement différents des groupes contrôles C3 et C10, en présence ou en absence d'endothélium (figure 16; tableau 11, en annexe).

La réponse maximale à la noradrénaline est améliorée dans les groupes 1/16 C3 et C10, avec ou sans endothélium : le maximum atteint dans les groupes 1/16 C3 et C10 n'est pas significativement différent de celui des groupes contrôles C3 et C10, mais il est significativement supérieur à celui du groupe 1/16 NaCl (figure 16; tableau 11, en annexe).

Le captopril (C3 et C10) abaisse significativement, et de façon dose-dépendante, le rapport VC + E/VC - E correspondant à la "concentration" 1 nmole de noradrénaline (figure 17), aussi bien dans le groupe 1/16 que dans le groupe contrôle, par rapport au traitement par le NaCl 0,15 M.

Contrairement au groupe 1/16 NaCl, chez lequel le rapport VC + E/VC - E est abaissé, il n'y a pas de différence significative entre les groupes 1/16 C3 et C10 et les groupes contrôles C3 et C10.

Le rapport VR/VC est amélioré par le traitement des rats 1/16 par le captopril; il n'y a pas de différence significative entre les groupes contrôles (C3 et C10) et 1/16 (C3 et C10), en présence ou en absence d'endothélium, dans les lits mésentériques contractés par la noradrénaline aux "concentrations" de 3 et 30 nmoles.

Le captopril ne modifie pas significativement la sensibilité moyenne (CI_{50%}) au carbachol et le maximum de relaxation (%) qu'il

entraîne sur le lit mésentérique isolé, dans les groupes contrôles C3 et C10, par rapport au groupe contrôle NaCl (figure 19; tableau 12, en annexe).

La sensibilité moyenne et la relaxation maximale sont abaissées par le traitement des rats par la vitamine D₃ et la nicotine (groupe NaCl). Le traitement des rats 1/16 par le captopril C3 et C10 est sans effet sur ces deux paramètres. La fonction endothéliale n'est pas préservée par le captopril dans le lit mésentérique de rat 1/16.

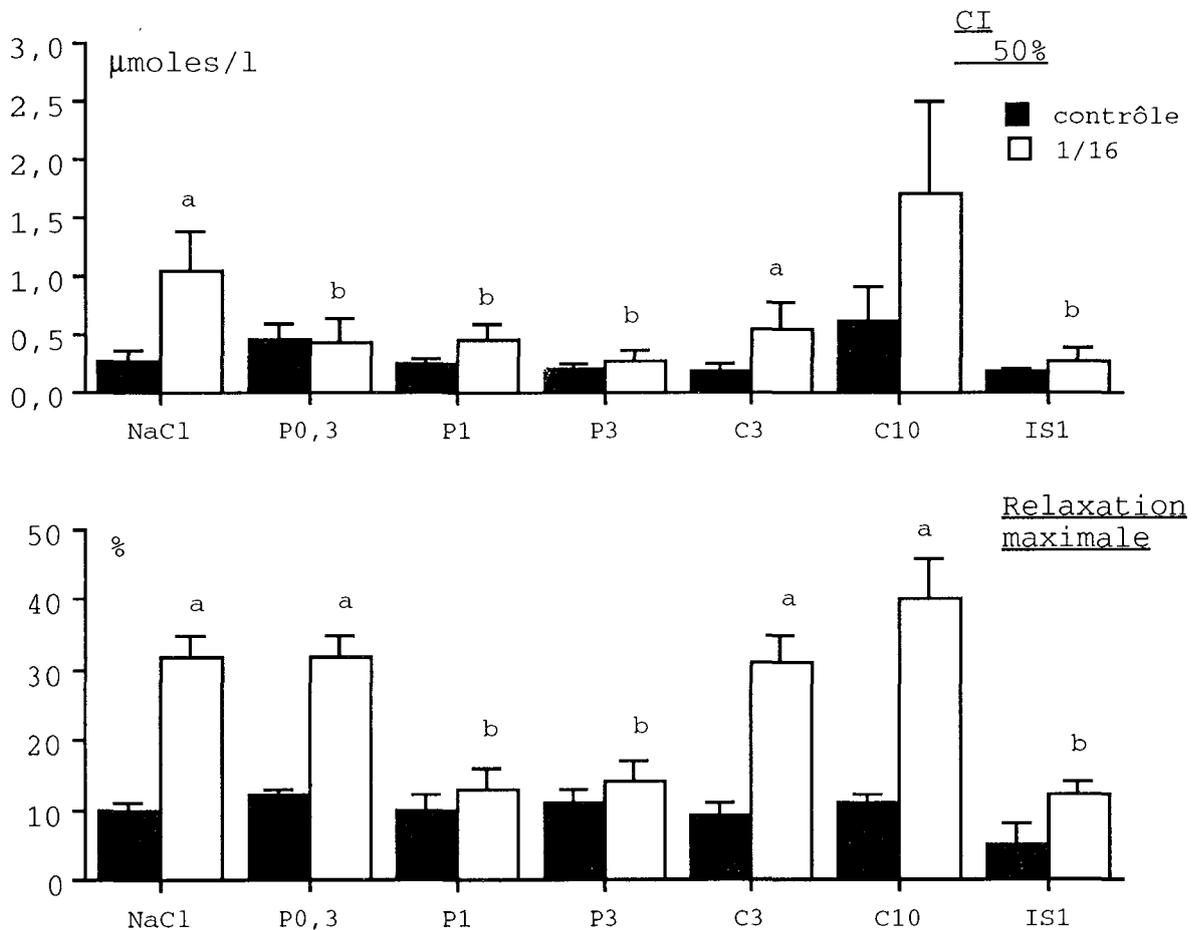


Figure 19 : Atténuation par le carbachol des contractions induites par la noradrénaline (sensibilité moyenne $CI_{50\%}$ et vasoconstriction, exprimée en % de la réponse provoquée par la $CE_{50\%}$ de la noradrénaline en absence de carbachol; $m \pm esm$) sur le lit mésentérique isolé de rats 1/16 et contrôles, traités par le NaCl 0,15 M (NaCl), le perindopril à la dose de 0,3, 1 ou 3 mg/kg (P0,3, P1 ou P3), le captopril à la dose de 3 ou 10 mg/kg (C3 ou C10) ou l'isradipine à la dose de 1 mg/kg (IS1) ($n = 12$ par groupe).

a : $P < 0,05$ par rapport au groupe contrôle correspondant.

b : $P < 0,05$ par rapport au groupe NaCl correspondant.

La sensibilité moyenne au nitroprussiate de sodium (C10) et le maximum de relaxation qu'il entraîne (C3 et C10) dans le lit mésentérique isolé, sont abaissés par le traitement des rats 1/16 et contrôles par le captopril, par rapport au groupe NaCl correspondant (figure 19; tableau 12, en annexe).

6.2.4.4. Traitement par l'isradipine

Le traitement par l'isradipine (1 mg/kg) ne modifie pas la pression de perfusion de base des lits mésentériques isolés de rats 1/16 ou contrôles, avec ou sans endothélium (figure 15).

Le seuil de sensibilité ($CE_{10\text{mmHg}}$) à la noradrénaline est amélioré par le traitement par l'isradipine (figure 16; tableau 11, en annexe) : le groupe 1/16 IS1 n'est pas significativement différent du groupe contrôle IS1, avec ou sans endothélium.

La sensibilité moyenne ($CE_{50\%}$) est également améliorée par le traitement par l'isradipine (figure 16; tableau 11, en annexe) : le groupe 1/16 IS1 n'est pas significativement différent du groupe contrôle IS1, avec ou sans endothélium.

En présence d'endothélium, la valeur de la $CE_{50\%}$ du groupe 1/16 IS1 n'est pas différente de celle du groupe 1/16 NaCl.

La réponse maximale à la noradrénaline (figure 16; tableau 11, en annexe) n'est pas améliorée par le traitement par l'isradipine, avec ou sans endothélium : le maximum, dans le groupe 1/16 IS1, est significativement abaissé par rapport à celui du groupe contrôle IS1 et n'est pas significativement différent de celui du groupe 1/16 NaCl.

L'isradipine abaisse significativement le rapport $VC + E/VC - E$ correspondant à la "concentration" de 1 nmole de noradrénaline (figure 17), dans le groupe contrôle, mais non dans le groupe 1/16, par rapport au traitement par le NaCl 0,15 M.

L'absence de différence significative entre le groupe 1/16

IS1 et le groupe contrôle IS1 montre une amélioration de la fonction endothéliale par l'isradipine.

L'isradipine n'a pas d'effet significatif sur le rapport VR/VC dans les groupes 1/16, en présence ou en absence d'endothélium, sur les lits mésentériques contractés par la noradrénaline aux "concentrations" de 3 et 30 nmoles.

L'isradipine ne modifie pas significativement la sensibilité moyenne (CI_{50%}) au carbachol et le maximum de relaxation (%) qu'il entraîne dans le lit mésentérique isolé, dans le groupe contrôle IS1, par rapport au groupe contrôle NaCl (figure 19; tableau 12, en annexe).

La sensibilité moyenne et la relaxation maximale sont abaissées par le traitement des rats par la vitamine D₃ et la nicotine : la CI_{50%} et le % maximal de relaxation sont augmentés (figure 19).

Après traitement des rats 1/16 par l'isradipine, la sensibilité moyenne et la relaxation maximale sont identiques aux valeurs contrôles et significativement différentes des valeurs correspondantes dans le groupe NaCl.

La fonction endothéliale est donc préservée par l'isradipine dans le lit mésentérique des rats 1/16.

La sensibilité moyenne (CI_{50%}) au nitroprussiate de sodium et la relaxation maximale (%) qu'il entraîne dans le lit mésentérique isolé, ne sont pas modifiées par le traitement des rats par la vitamine D₃ et la nicotine et ne le sont pas non plus par le traitement des rats 1/16 et contrôles par l'isradipine (figure 20; tableau 12, en annexe).

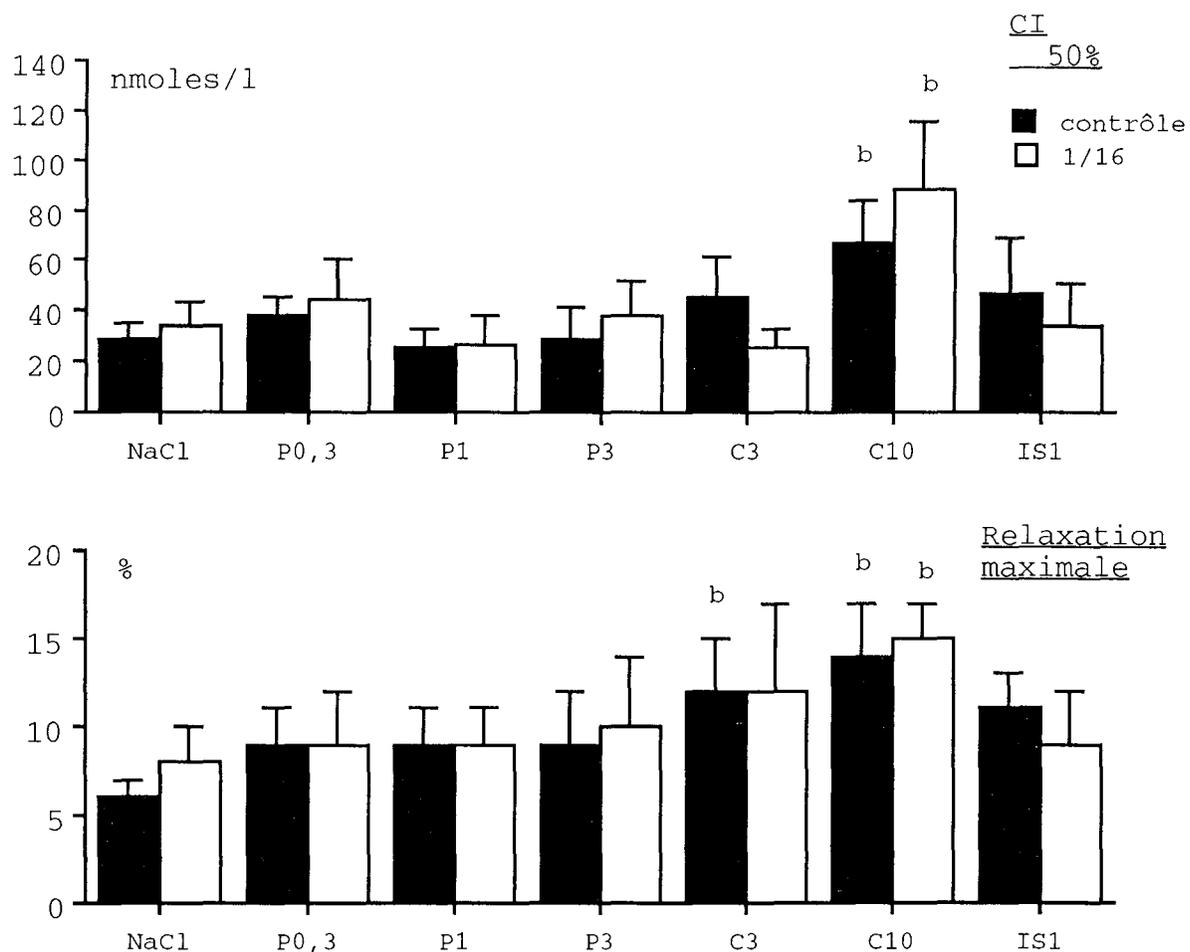


Figure 20 : Atténuation par le nitroprussiate de sodium des contractions induites par la noradrénaline (sensibilité moyenne CI_{50%} et vasoconstriction, exprimée en % de la réponse provoquée par la CE_{50%} de la noradrénaline en absence de nitroprussiate de sodium; $m \pm \text{esm}$) sur le lit mésentérique isolé de rats 1/16 et contrôles, traités par le NaCl 0,15 M (NaCl), le perindopril à la dose de 0,3, 1 ou 3 mg/kg (P0,3, P1 ou P3), le captopril à la dose de 3 ou 10 mg/kg (C3 ou C10) ou l'isradipine à la dose de 1 mg/kg (IS1) ($n = 12$ par groupe).

^a : $P < 0,05$ par rapport au groupe contrôle correspondant.

^b : $P < 0,05$ par rapport au groupe NaCl correspondant.

6.2.5 Aorte isolée

6.2.5.1. Traitement par le NaCl 0,15 M

Les groupes contrôles P0,3, P1, P3, C3, C10 et IS1 ne diffèrent pas du groupe contrôle NaCl quant aux paramètres mesurés sur les anneaux d'aorte isolée de rats pour l'étude de la réactivité à la noradrénaline : la contraction maximale, le seuil de sensibilité, la sensibilité moyenne et la vasorelaxation. Il en est de même pour la relaxation induite par le carbachol et le nitroprussiate de sodium : % maximum de relaxation et sensibilité.

Le traitement des rats 1/16 et contrôles par le NaCl 0,15 M ne modifie pas les paramètres mesurés sur les anneaux d'aorte isolée de rats, par rapport à ceux des groupes 1/16 et contrôles, non traités par le NaCl 0,15 M (chapitres précédents).

Les anneaux d'aorte isolée de rats 1/16 NaCl sont moins réactifs à la noradrénaline que ceux des rats contrôles NaCl : la contraction maximale, le seuil de sensibilité et la sensibilité moyenne sont abaissés et la vasorelaxation plus longue (figures 22 et 23 et tableau 13, en annexe).

De même, dans le groupe 1/16 NaCl, la réactivité endothéliale est abaissée : le % maximal de relaxation par le carbachol et la sensibilité sont diminués (figure 23 et tableau 14, en annexe).

Par contre, la réactivité au nitroprussiate de sodium n'est pas significativement modifiée dans le groupe 1/16 NaCl, par rapport au groupe contrôle NaCl (figure 24 et tableau 14, en annexe).

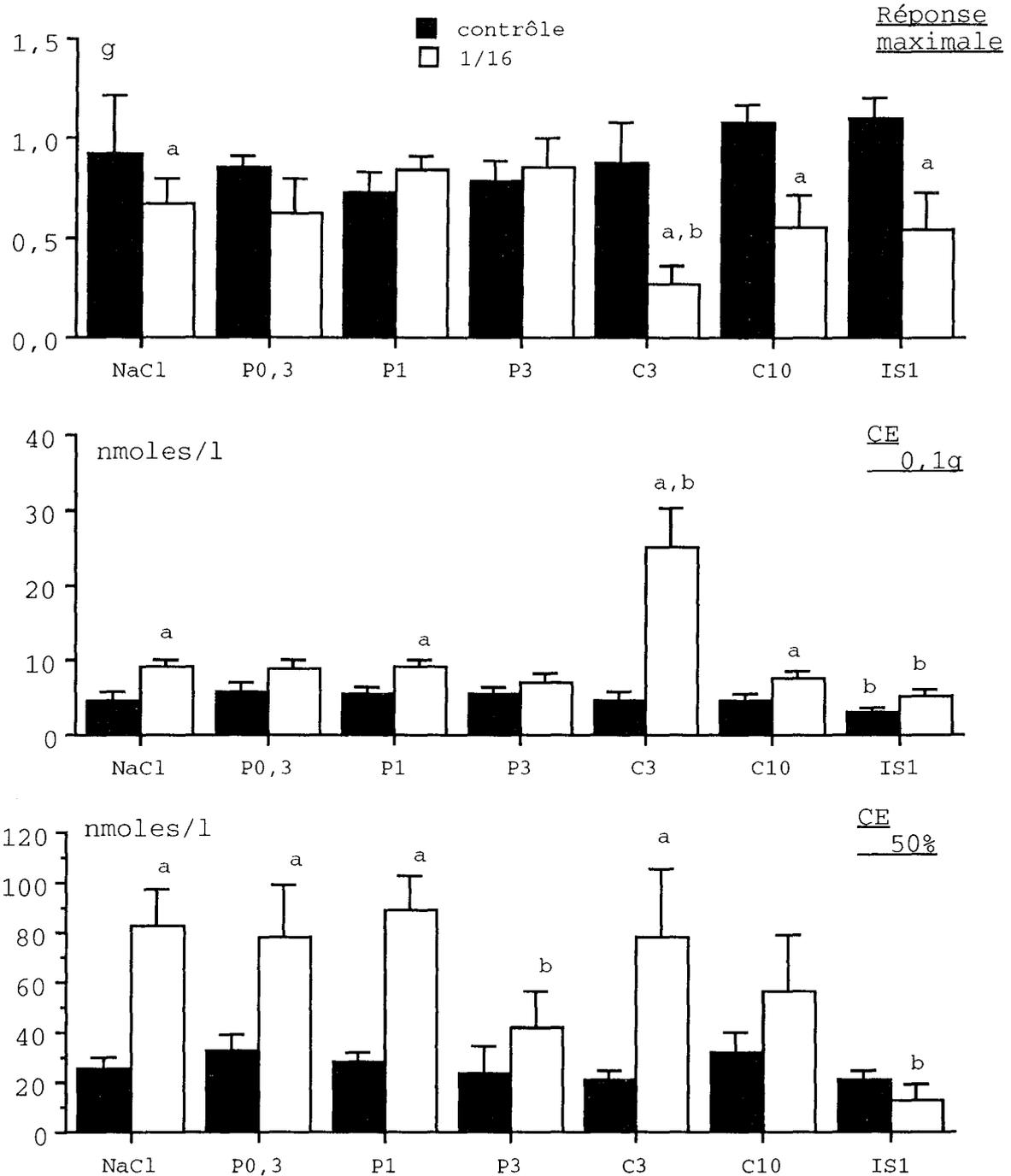


Figure 21 : Réponse maximale, seuil de sensibilité (CE_{0,1g}) et sensibilité moyenne (CE_{50%}) à la noradrénaline de l'aorte isolée de rats 1/16 et contrôles, traités par le NaCl 0,15 M (NaCl), le perindopril à la dose de 0,3, 1 ou 3 mg/kg (P0,3, P1 ou P3), le captopril à la dose de 3 ou 10 mg/kg (C3 ou C10) ou l'isradipine à la dose de 1 mg/kg (IS1) (n = 12 par groupe). Les résultats sont exprimés en $m \pm esm$.

a : P < 0,05 par rapport au groupe contrôle correspondant.

b : P < 0,05 par rapport au groupe NaCl correspondant.

6.2.5.2. Traitement par le perindopril

La réactivité à la noradrénaline est améliorée par le traitement des rats 1/16 par le perindopril (figure 21 et tableau 13, en annexe).

Il n'y a pas de différence significative entre les groupes 1/16 et les groupes contrôles correspondants, quant aux paramètres mesurés : CE_{50%} (groupe P3 uniquement), contraction maximale (groupes P0,3, P1 et P3), et CE_{0,1g} (groupes P0,3 et P3).

Toutefois, la vasorelaxation n'est pas modifiée par le traitement des rats 1/16 par le perindopril : les temps de relaxation sont supérieurs dans les groupes 1/16 P0,3, P1 et P3 à ceux des groupes contrôles P0,3, P1 et P3 (figure 22).

La relaxation par le carbachol des anneaux d'aorte précontractés par la noradrénaline est améliorée dans les groupes 1/16 P0,3, P1 et P3 : la CI_{50%} (groupes P0,3, P1 et P3) et le % maximal de relaxation (groupes P1 et P3, mais non P0,3) ne sont pas différents des valeurs correspondantes dans les groupes contrôles P0,3, P1 et P3, mais sont significativement abaissés par rapport au groupe 1/16 NaCl (figure 23 et tableau 14, en annexe).

La sensibilité au nitroprussiate de sodium et le % maximal de relaxation sont inchangés dans les groupes 1/16 P0,3, P1 et P3, par rapport aux groupes contrôles P0,3, P1 et P3, et par rapport aux groupes 1/16 et contrôle NaCl (figure 24 et tableau 14, en annexe).

6.2.5.3. Traitement par le captopril

Contrairement au perindopril, le captopril n'améliore pas la réactivité à la noradrénaline des anneaux d'aorte isolée de rat 1/16 C3 ou C10, par rapport aux groupes contrôles correspondants (figure 21 et tableau 13, en annexe). Les CE_{50%} sont augmentées (significativement dans le groupe C3 uniquement), la contraction maximale abaissée (groupes C3 et C10), et la CE_{0,1g} augmentée (significativement dans le groupe C3 uniquement).

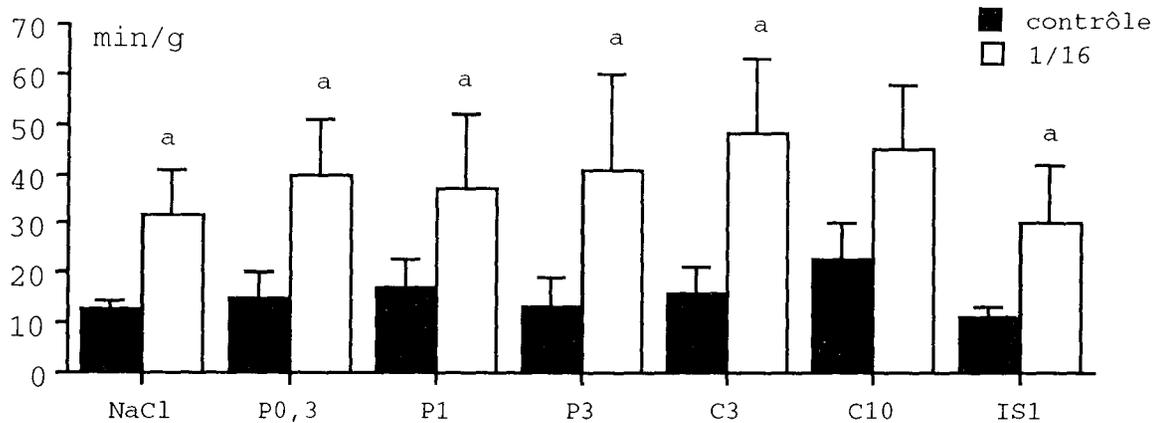


Figure 22 : Vasorelaxation (min/g; $m \pm \text{esm}$), consécutive au retrait de la noradrénaline, de l'aorte isolée de rats 1/16 et contrôles, traités par le NaCl 0,15 M (NaCl), le perindopril à la dose de 0,3, 1 ou 3 mg/kg (P0,3, P1 ou P3), le captopril à la dose de 3 ou 10 mg/kg (C3 ou C10) ou l'isradipine à la dose de 1 mg/kg (IS1) ($n = 12$ par groupe).

^a : $P < 0,05$ par rapport au groupe contrôle correspondant.

Groupe P0,3, P1, P3, C3, C10 ou IS1 par rapport au groupe NaCl correspondant : non significatif.

De même, le temps de relaxation est plus long dans les groupes 1/16 C3 et C10 que dans les groupes contrôles C3 et C10 (figure 22).

La relaxation par le carbachol des anneaux d'aortes précontractés par la noradrénaline n'est pas améliorée dans les groupes 1/16 C3 et C10 par rapport aux contrôles C3 et C10 : la $CI_{50\%}$ et le % maximal de relaxation sont augmentés dans les groupes 1/16 C3 et C10, par rapport aux groupes contrôles P1 et P3 (figure 23 et tableau 14, en annexe).

La sensibilité au nitroprussiate de sodium et le % maximal de relaxation sont abaissés dans les groupes 1/16 C10 et contrôle C10 : la $CI_{50\%}$ et le % maximal de relaxation sont augmentés par rapport aux valeurs des groupes contrôles et 1/16 NaCl (figure 24 et tableau 14, en annexe).

6.2.5.4. Traitement par l'isradipine

Le traitement des rats 1/16 par l'isradipine améliore le seuil de sensibilité et la sensibilité moyenne à la noradrénaline par rapport aux contrôles correspondants et par rapport au groupe 1/16 NaCl (figure 21 et tableau 13, en annexe).

Les $CE_{0,1g}$ et $CE_{50\%}$ ne sont pas différentes des valeurs contrôles IS1 correspondantes, mais elles sont abaissées par rapport à celles du groupe 1/16 NaCl.

Toutefois, la contraction maximale reste moindre dans le groupe 1/16 IS1 par rapport au contrôle IS1, malgré le traitement par l'isradipine. Le temps de relaxation est plus long dans les groupes 1/16 IS1 que chez les contrôles IS1 (figure 22 et tableau 13, en annexe).

La relaxation par le carbachol des anneaux d'aorte précontractés par la noradrénaline est améliorée dans le groupe 1/16 IS1 par rapport au contrôle IS1 et par rapport au groupe 1/16 NaCl. La $CI_{50\%}$ et le % maximal de relaxation sont inchangés dans les groupes 1/16 IS1, par rapport au groupe contrôle IS1, et sont abaissés par rapport au groupe 1/16 NaCl (figure 23 et tableau 14, en annexe).

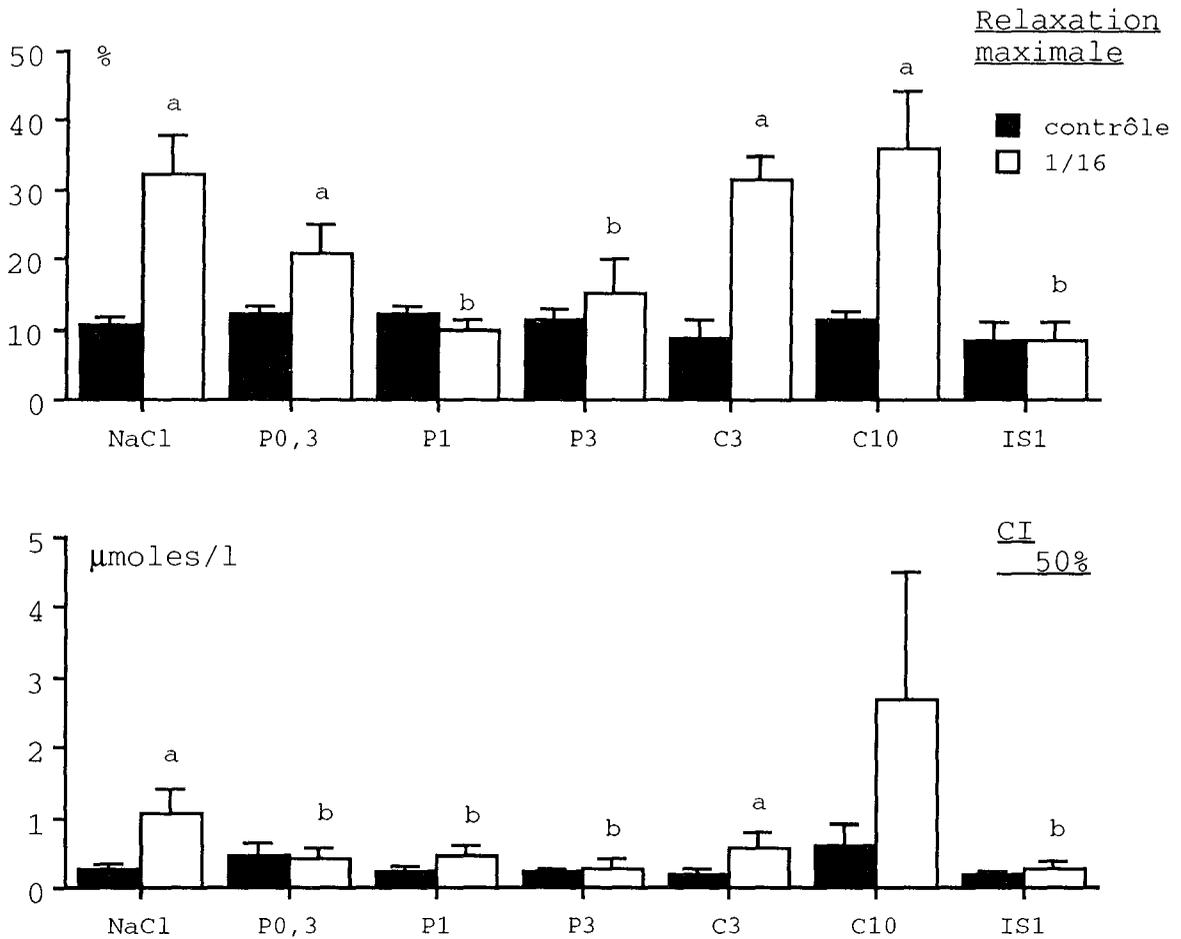


Figure 23 : Relaxation (vasoconstriction, exprimée en % de la réponse provoquée par la $CE_{50\%}$ de la noradrénaline en absence de carbachol et sensibilité moyenne $CI_{50\%}$; $m \pm esm$) induite par le carbachol sur l'aorte, précontractée par la noradrénaline, isolée de rats 1/16 et contrôles, traités par le NaCl 0,15 M (NaCl), le perindopril à la dose de 0,3, 1 ou 3 mg/kg (P0,3, P1 ou P3), le captopril à la dose de 3 ou 10 mg/kg (C3 ou C10) ou l'isradipine à la dose de 1 mg/kg (IS1) ($n = 12$ par groupe).

a : $P < 0,05$ par rapport au groupe contrôle correspondant.

b : $P < 0,05$ par rapport au groupe NaCl correspondant.

La sensibilité et le % maximal de relaxation au nitroprussiate de sodium ne sont pas modifiés dans les groupes 1/16 et contrôle IS1 par rapport aux groupes 1/16 et contrôle NaCl (figure 24 et tableau 14, en annexe).

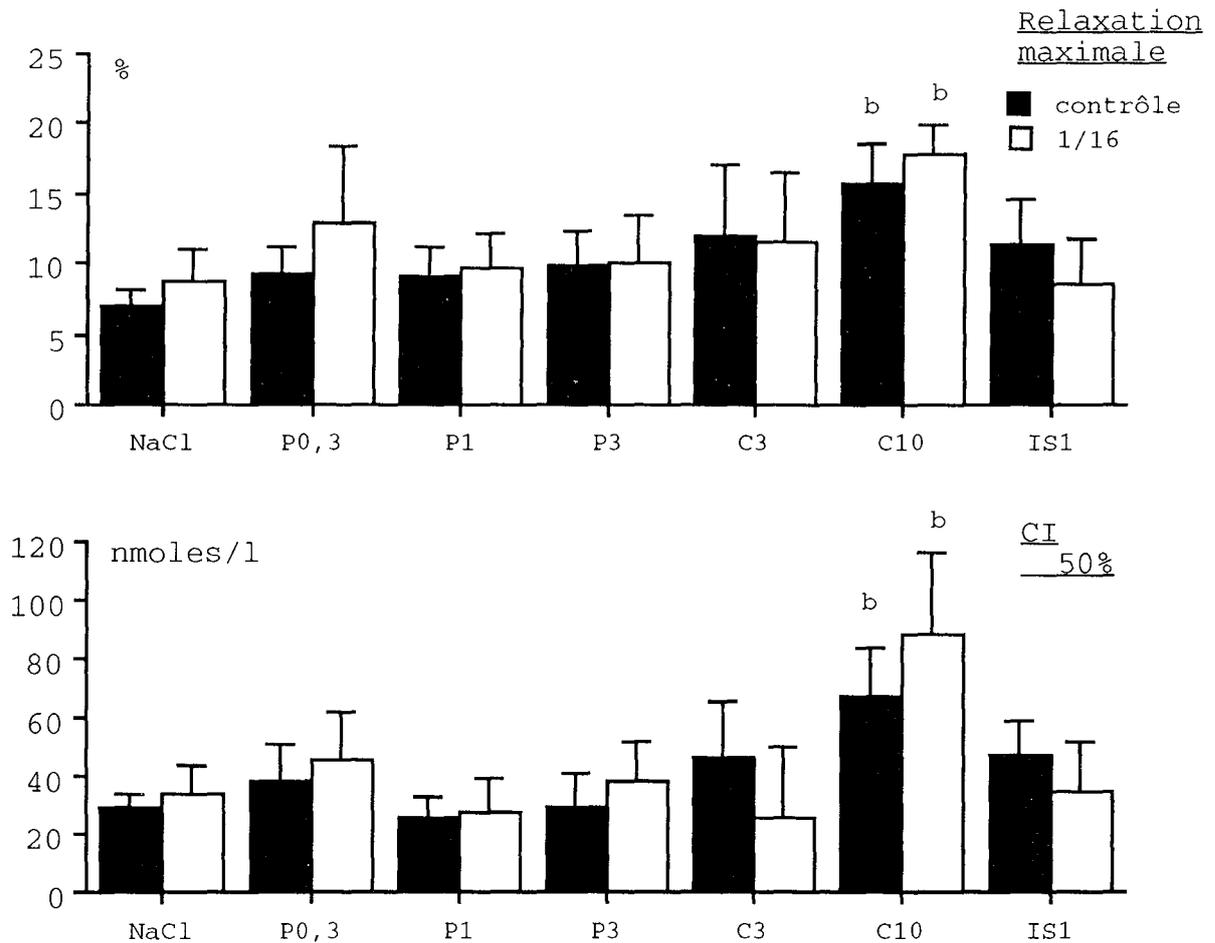


Figure 24 : Relaxation (vasoconstriction, exprimée en % de la réponse provoquée par la $CE_{50\%}$ de la noradrénaline en absence de nitroprussiate de sodium et sensibilité moyenne $CI_{50\%}$; $m \pm esm$) induite par le nitroprussiate de sodium sur l'aorte, précontractée par la noradrénaline, isolée de rats 1/16 et contrôles, traités par le NaCl 0,15 M (NaCl), le perindopril à la dose de 0,3, 1 ou 3 mg/kg (P0,3, P1 ou P3), le captopril à la dose de 3 ou 10 mg/kg (C3 ou C10) ou l'isradipine à la dose de 1 mg/kg (IS1) ($n = 12$ par groupe)

a : $P < 0,05$ par rapport au groupe contrôle correspondant.

b : $P < 0,05$ par rapport au groupe NaCl correspondant.

6.2.6. Résumé des résultats

Tableau 15 : Résumé des résultats de l'effet du traitement des rats 1/16 par le perindopril à la dose de 0,3, 1 ou 3 mg/kg (P0,3, P1 ou P3), le captopril à la dose de 3 ou 10 mg/kg (C3 ou C10) ou l'isradipine à la dose de 1 mg/kg (IS1) et le NaCl 0,15 M. Les groupes 1/16 sont comparés aux groupes contrôles correspondants :

- : paramètre détérioré; = : inchangé; + : amélioré par le traitement.

Groupe	NaCl	P0,3	P1	P3	C3	C10	IS1
poids corporel	=	=	=	-	=	=	=
analyse plasmatique	=	=	=	=	=	=	=
contenu tissulaire en calcium total :							
artères de compliançe	=	=	=	=	=	=	=
artères de résistance	=	=	=	=	=	=	+
LIT MESENTERIQUE ISOLE :							
ligne de base	=	=	=	=	=	=	=
réactivité à la noradrénaline :							
seuil de sensibilité	=	=	+	+	+	+	+
sensibilité moyenne	=	=	+	+	+	+	+
réponse maximale	=	=	+	+	+	+	=
rapport VC + E /VC - E	=	=	=	=	=	=	+
rapport VR/VC	=	=	+	+	+	=	+
réactivité au carbachol :							
sensibilité moyenne	=	+	+	+	+	=	+
% maximal de réponse	=	=	+	+	=	=	+
réactivité au nitroprussiate de sodium :							
sensibilité moyenne	=	=	=	=	=	-	=
% maximal de réponse	=	=	=	=	=	=	=
AORTE ISOLEE :							
réactivité à la noradrénaline :							
seuil de sensibilité	=	+	+	+	-	=	+
sensibilité moyenne	=	=	=	+	=	+	+
réponse maximale	=	+	+	+	-	=	=
vasorelaxation	=	=	=	=	=	=	=
réactivité au carbachol :							
sensibilité moyenne	=	+	+	+	=	=	+
% maximal de réponse	=	=	+	+	=	=	+
réactivité au nitroprussiate de sodium :							
sensibilité moyenne	=	=	=	=	=	-	=
% maximal de réponse	=	=	=	=	=	-	=

7. DISCUSSION

7.1. Généralités sur le traitement par la vitamine D₃ et la nicotine

Le traitement par la vitamine D₃ et la nicotine entraîne l'apparition de signes plasmatiques d'intoxication ; hypercalcémie, hyperurémie et hypercréatininémie. La cinétique de l'hypercalcémie est comparable à celle observée par Mutoh et coll. (1988), Cannon et Williams (1989) et Bukoski et coll. (1990) après une administration de vitamine D.

Parmi les différents modèles étudiés dans la première partie de ce travail (1/1, 2/1, 3/1, 4/1, 4/13, 1/16, 2/15 et 4/180), les modèles "sans période de repos" (1/1, 2/1, 3/1, 4/1) sont difficiles à utiliser, du fait des signes d'intoxication qu'ils présentent au moment où des expériences doivent être menées.

Si le traitement est suivi d'une période de repos (modèles 4/13, 2/15 et 1/16), ces signes d'intoxication disparaissent. Plusieurs paramètres (sodium, phosphates, acide urique, urée et créatine-kinase) ont des valeurs abaissées dans le modèle 1/16, mais restent physiologiques; ils sont en effet compris dans les intervalles de référence donnés pour ces paramètres (voir tableau 1).

Dans les modèles "avec période de repos" (4/13, 1/16, 2/15 et 4/180), les signes d'intoxication ont disparu à la fin de la période de repos et les rats retrouvent un taux de croissance similaire à celui des rats contrôles. De surcroît, dans ces modèles "avec période de repos", l'intensité de la surcharge calcique est supérieure à celle mesurée que dans les modèles "sans période de repos".

Parmi les modèles "avec période de repos", le modèle 1/16 présente une surcharge calcique maximale, après un traitement plus court que celui des modèles 4/13, 2/15 et 4/180. De plus, ce modèle 1/16 permet l'étude de la surcharge calcique après deux semaines seulement.

Dans ce modèle 1/16, l'urémie, la créatininémie et la calcémie augmentent immédiatement après le traitement par la vitamine D₃ et la nicotine et sont très rapidement maximales (entre les jours 3 et 5).

L'installation de la surcharge calcique aortique évolue nettement moins vite et atteint ses valeurs maximales à partir du jour 13 : c'est à dire après la phase "toxique" du modèle 1/16. En effet, l'urémie, la créatininémie et la calcémie sont de nouveau normales à partir du jour 9.

La perte pondérale initiale qu'occasionne le traitement des rats par la vitamine D₃ et la nicotine constitue un autre signe de toxicité précoce. A partir du cinquième jour, les rats du groupe 1/16 ont un taux de croissance similaire à celui du groupe contrôle et ce jusqu'au jour 17.

Enfin, à l'opposé des modèles incluant des administrations répétées de nicotine, tels que celui de Fleckenstein et coll. (1986) et le modèle 4/1 (Thorin et coll., 1990), nous n'observons aucune mortalité. En effet, dans le modèle 4/1, la mortalité apparaît au troisième jour de traitement par la nicotine.

Nous pouvons donc émettre l'hypothèse que les altérations de réactivité vasculaire, obtenues dans le modèle 1/16, sont attribuables principalement à la surcharge calcique et non pas à une pathologie associée telle qu'une insuffisance rénale, une hypercalcémie ou un désordre lipidique. Il est intéressant de noter que d'autres modèles d'étude du dysfonctionnement endothélial, lié à l'athérosclérose, ont comme point commun une hypercholestérolémie, ce qui n'est pas le cas dans le modèle 1/16.

Cependant, seule une analyse des constituants lipidiques pariétaux nous permettra d'écarter l'implication d'une perturbation du métabolisme du cholestérol dans ce modèle.

7.2. Sélectivité ionique et tissulaire de la surcharge calcique

Le traitement par la vitamine D₃ et la nicotine élève le contenu tissulaire en calcium total des artères, des reins, du myocarde et de l'intestin.

Cette surcharge semble spécifiquement calcique puisque les taux tissulaires de magnésium, cation divalent d'un métal alcalino-terreux comme le calcium, sont en effet inchangés. L'absence de variation de la concentration de magnésium, liée à une surcharge calcique vasculaire, est une situation rencontrée lors du vieillissement chez l'Homme, le chien et le rat (Fleckenstein et coll., 1983a,b).

Le modèle 1/16 ne montre pas non plus d'élévation des taux des ions monovalents, tels que le sodium et le potassium. Il faut noter cependant que la méthode employée pour la détermination de la concentration de sodium ne nous permet pas de conclure définitivement, quant à l'absence de variation de la concentration cellulaire de sodium.

La surcharge calcique, présente au niveau du myocarde, est d'intensité intermédiaire (x 8) entre celle des artères de résistance et de compliance. Ceci confirme les résultats obtenus par Fleckenstein et coll. (1983a,b) et par nous mêmes (Oster et coll., 1989a,b; Thorin et coll., 1990) dans des modèles différents 1/1, 2/1, 3/1, 4/1 et 4/13. Toutefois, durant le vieillissement, le myocarde n'est pas affecté par le phénomène de surcharge calcique (Fleckenstein et coll., 1983a,b).

Un niveau similaire à celui du myocarde est atteint dans les reins (x 15) et un niveau plus faible, mais significativement différent de celui des animaux témoins, dans l'intestin (x 3). Reins et intestin sont les organes "cibles" de la vitamine D. La surcharge calcique, dans ces organes, reflète l'intoxication qu'ont subie les rats, sans qu'il en découle de conséquences fonctionnelles, comme le montre l'analyse plasmatique (absence d'hyperurémie et d'hypercréatininémie).

Par ailleurs, les tissus tels le foie et le cerveau ne sont pas touchés par l'accumulation de calcium. Ces observations concordent avec des travaux antérieurs : Swierczynski et coll. (1987) ont montré qu'une injection de vitamine D₃ (100 000 UI par jour, pendant 3 jours) chez le rat jeune, suivi d'un temps de repos de 7 jours élève le taux de calcium tissulaire total de 20 fois dans le coeur, de 85 fois dans les reins et de 12 fois dans le duodénum, alors que dans le cerveau et le foie, aucune variation n'est détectée.

La surcharge calcique semble sélective des artères de compliance (aorte et artère carotide) dans lequel le contenu tissulaire en calcium total augmente de façon plus prononcée que dans les artères de résistance (artère caudale et lit mésentérique).

Cette sélectivité tissulaire de la surcharge calcique se retrouve dans le vieillissement vasculaire (Fleckenstein et coll., 1983a) et semble dépendre dans les deux cas de la localisation relative de l'élastine *vide infra*.

La surcharge calcique observée dans le modèle 1/16 diffère de celle rencontrée dans l'hypertension artérielle chez l'Homme ou chez le rat SHR. Chez ces derniers, l'accumulation de calcium touche préférentiellement les artères de faible diamètre et les artérioles (Grün et Fleckenstein, 1972; Fleckenstein et coll., 1985). Cette accumulation de calcium, dans les vaisseaux résistifs, est à relier éventuellement à l'augmentation tensionnelle observée chez les sujets hypertendus.

Dans notre modèle, ainsi que dans le vieillissement, l'accumulation de calcium au niveau des gros troncs artériels est à rapprocher de l'abaissement de compliance aboutissant à une hypertension systolique isolée observée dans le groupe 1/16 (Makki et coll., résultats personnels) et chez l'Homme âgé (Vokonas et coll., 1988).

Des études parallèles ont mis en évidence de nombreux signes

d'une rigidification aortique dans le modèle 1/16 tels qu'une augmentation importante de la pression artérielle différentielle, mesurée au niveau de l'artère fémorale, et une accélération de la vitesse de transmission de l'onde pulsative aortique (Chillon, 1991). Des altérations hémodynamiques similaires sont observées chez l'Homme âgé (Milnor, 1989).

7.3. Evolution et étiologie éventuelle de la surcharge calcique

Dans les modèles 1/1, 2/1, 3/1, puis 4/13, 2/15 et 1/16, le contenu en calcium de l'aorte est croissant. Paradoxalement, dans le modèle 4/1, une baisse du contenu en calcium de l'aorte apparaît. Cette observation reflète éventuellement la mortalité importante de rats "hypersensibles" au traitement, le troisième jour.

Les rats du groupe 1/16 développent une surcharge calcique significative à partir du jour 5, surcharge qui atteint un plateau à partir du jour 13. Cette évolution lente de l'accumulation tissulaire de calcium a également été observée par Mutoh et coll. (1988) et souligne l'importance de l'hypervitaminose D dans ce modèle.

Cependant, bien que la vitamine D seule (Mutoh et coll., 1988; Cannon et Williams, 1989) suscite une surcharge calcique, les résultats de Fleckenstein et coll. (1983a,b) montrent que l'addition de nicotine à ce type de traitement amplifie la surcharge.

L'origine de cet effet amplificateur de la nicotine à l'égard de la vitamine D reste encore à déterminer. La nicotine seule provoque une surcharge vasculaire de calcium (Hass et coll., 1966), éventuellement par mobilisation de calcium intracellulaire (Naylor, 1963) et par libération de catécholamines, consécutive à une stimulation ganglionnaire (Su et Bevan, 1970). Les catécholamines faciliteraient l'entrée de calcium dans les cellules musculaires lisses par stimulation de l'ouverture des canaux calciques couplés aux récepteurs (ROC, "receptor operated

channels").

L'amplification par la nicotine suggère l'existence d'une étape, ne serait ce que transitoire, d'accumulation intracellulaire de calcium. Le fait qu'un inhibiteur de flux calciques, l'isradipine, diminue l'accumulation calcique dans certains vaisseaux vient renforcer cette hypothèse.

Enfin, cette accumulation intracellulaire de calcium pourrait résulter d'une action propre de la vitamine D qui augmente le captage du calcium par les cellules musculaires lisses en culture (Inoue et Kawashima, 1988). Des récepteurs spécifiques à la vitamine D ont été mis en évidence dans les cellules musculaires lisses (Kawashima, 1987; Merke et coll., 1987), sans que ait été démontrée l'existence d'un système de couplage entre ces récepteurs et la production d'ARN messenger de "calciprotéines".

Nous pouvons proposer l'étiologie suivante. Dans une phase initiale, l'hypervitaminose D provoque une hypercalcémie. La nicotine favorise la pénétration de calcium à partir des taux sanguins élevés dans les cellules.

Le métabolite actif de la vitamine D, le 1,25-dihydroxycholécalférol, est responsable de l'hypercalcémie par une stimulation de l'activité calcium-ATPasique et de l'activité phosphatase alcaline liées à la réabsorption du calcium dans les organes cibles de la vitamine D, à savoir l'intestin et les reins.. De surcroît, l'hypervitaminose D entraîne la résorption du calcium osseux, par un mécanisme similaire qui implique une augmentation du transport trans-membranaire du calcium (Guyton, 1986). A cet égard, il est intéressant de noter que, dans le modèle 1/16, le contenu en calcium du fémur est abaissé.

Cette hypercalcémie serait suivie d'une étape d'accumulation intracellulaire de calcium sous le contrôle de la nicotine *vide supra*.

Grâce à l'utilisation de l'indicateur fluorescent de calcium intracellulaire, le fura-2 (Thorin-Trescases et coll. 1990), Oster (1991) a montré une augmentation de 85 % du taux de calcium

intracellulaire libre basal dans l'artère caudale de rats du groupe 1/16. Cette étude, effectuée sur des artères déendothélialisées, n'exclut pas que le traitement vitamine D₃ et nicotine ne provoque aucune surcharge calcique endothéliale.

L'accumulation intracellulaire de calcium dans les tissus cardio-vasculaires constitue cependant un processus toxique (Farber, 1981). Ce processus déborderait les mécanismes physiologiques de protection à l'égard des dépôts calciques dans les tissus non osseux (Orimo et coll., 1985; Guyton, 1986).

Les cellules musculaires lisses sont un élément de ce processus protecteur (Seydewitz et Staubesand, 1983, 1988). Après administration de vitamine D, les cellules passent d'une forme "k" à une forme "m", en produisant des vésicules lysosomiales qui précipitent le calcium (Seydewitz et Staubesand, 1983, 1988) sur les membranes élastiques (Hass et coll., 1958). La forme chimique de ces précipités n'a pas encore été déterminée, mais il pourrait s'agir de phosphates de calcium, aussi bien dans le vieillissement vasculaire que dans l'hypervitaminose D du modèle 1/16.

Dans le modèle 1/16, l'accumulation de calcium se fait, en partie au moins, sous forme de phosphates de calcium puisque les taux tissulaires de phosphates sont élevés dans les tissus où le calcium augmente.

Ainsi, l'accumulation extracellulaire de calcium constituerait une protection visant à réduire le taux de calcium intracellulaire. Par ce mécanisme, une calcification de la matrice intercellulaire, et de l'élastine en particulier, aboutirait à la rigidification des vaisseaux (Seydewitz et Staubesand, 1983, 1988).

Par la méthode de von Kossa (technique histologique spécifique du calcium), Fleckenstein et coll. (1986) et nos études (Henrion et coll., 1991) ont montré que dans l'aorte de rat, la surcharge calcique se localise sur la matrice élastique, entre les fibres musculaires lisses.

Les sections d'aorte montrent qu'il existe six ou sept anneaux concentriques d'élastine. Dans le groupe 1/16, des dépôts de calcium apparaissent sur les trois ou quatre premiers anneaux

adluminaires. L'épaisseur de la média augmente et les cellules musculaires lisses semblent normales. Aucun dépôt de calcium n'a été observé dans le groupe contrôle (Henrion et coll. 1991).

En conclusion, il faut noter que la transition de l'hypercalcémie à la calcification des fibres d'élastine n'exige pas l'existence d'une phase intracellulaire, car il a été rapporté que la vitamine D modifie la structure moléculaire des fibres élastiques (Rucker et coll., 1974) de façon à promouvoir leur affinité pour le calcium (Sandberg et coll., 1981).

7.4. Conséquences fonctionnelles

Bien que des phénomènes tels que l'hypercalcémie et l'insuffisance rénale puissent influencer le système cardiovasculaire des modèles "sans repos", de telles influences sont en toute probabilité d'importance minime dans le modèle 1/16.

Nous pouvons également écarter un effet vasculaire direct de l'hypervitaminose D, car, chez le rat, la vitamine D augmente les réponses à la sérotonine et à la noradrénaline (Bukoski et coll., 1990). Or, dans le modèle 1/16, la réactivité vasculaire à la sérotonine et à la noradrénaline est abaissée par la surcharge calcique.

Une élévation de la concentration de calcium cytosolique, (comme celle observée dans le modèle 1/16, voir ci-dessus), est souvent citée comme l'un des facteurs de développement de l'hypertension artérielle. Elle stimulerait au moins deux processus conduisant à l'hypertension : une augmentation de la contractilité des cellules musculaires lisses et une action trophique sur la paroi vasculaire (Baudoin-Legros et Meyer, 1990).

Bien que cet effet trophique semble présent dans le groupe 1/16 (voir ci-dessus), les réponses vasoconstrictrices induites par la noradrénaline et la sérotonine diminuent. Cette baisse de la vasocontractilité pourrait trouver son origine dans un dysfonctionnement des mécanismes de mobilisation et de métabolisme

calcique pariétal. Il est intéressant de noter que la concentration de calcium intracellulaire libre représente 1/100000 de celle du calcium cellulaire total (Atkinson, 1991).

Dans l'aorte des rats du groupe 1/16, la réactivité et la sensibilité à la noradrénaline sont diminuées et la fonction de l'endothélium vasculaire atténuée par la surcharge calcique.

Dans le lit mésentérique isolé et perfusé, la réactivité à la noradrénaline et à la sérotonine est diminuée, la résistance initiale à la perfusion et le temps de relaxation sont augmentés.

De plus, dans le groupe 1/16, la réponse maximale à la noradrénaline, le seuil de sensibilité et la sensibilité moyenne sont abaissés. Par comparaison, la réponse maximale à la sérotonine est faiblement diminuée, quoique significativement, sans changement du seuil de sensibilité, ni de la sensibilité moyenne.

Cela suggère que la surcharge calcique modifierait la capacité de mobilisation du calcium. En effet, la contraction des vaisseaux de résistance de rat, par les agonistes alpha-adrénergiques, dépend plus d'un influx de calcium extracellulaire que la contraction suscitée par la sérotonine, qui fait plus appel au stock intracellulaire de calcium (Atkinson et coll., 1987).

Ainsi, le traitement par la vitamine D₃ et la nicotine modifierait la mobilisation du calcium et/ou le couplage du calcium aux protéines contractiles.

Les effets observés ne semblent pas provenir d'une action ganglioplégique de la nicotine dont la demi-vie chez le rat est de quelques heures (Bowman et Rand, 1980).

Enfin, dans nos expériences, nous n'avons utilisé ni bloqueurs de recaptage neuronal et extraneuronal, ni inhibiteurs métaboliques. Nous ne pouvons donc pas exclure l'implication de modification de recaptage et/ou de métabolisme des autacoïdes dans les différences observées entre les réponses des groupes témoins et 1/16.

Le modèle 1/16 n'est pas un modèle d'hypertension artérielle (voir tableau 16). Sous anesthésie barbiturique, la pression artérielle systolique et la pression artérielle moyenne ne varient pas, alors que la pression artérielle diastolique et le rythme cardiaque diminuent chez les rats traités par la vitamine D₃ et la nicotine.

La pression différentielle, quant à elle, augmente (tableau 16 et Henrion et coll., 1990a,b, 1991). L'amplification de la pression différentielle dans le modèle 1/16, est en accord avec les précédents travaux menés sur ce modèle (Oster et coll., 1989a,b; Thorin et coll., 1990), suggérant une rigidification vasculaire. Dans le modèle 1/16, la vitesse de relaxation vasculaire in vitro est diminuée (résultats de nos travaux dans l'aorte et le lit mésentérique et Thorin-Trescases et coll., 1989a,b,c). Il faut noter cependant que la viscoélasticité n'est que l'un des facteurs déterminants de la vasorelaxation.

Chez l'Homme, le vieillissement entraîne l'apparition d'une hypertension artérielle systolique isolée. Après l'âge de 60 ans, s'y rajoute une baisse de la pression diastolique (Kannel, 1987). Cette augmentation de pression différentielle peut se rattacher à la perte d'élasticité des vaisseaux âgés.

En effet, il a été établi que le vieillissement provoque une augmentation du diamètre et de la rigidité des vaisseaux telles l'aorte et les artères fémorale et brachiale chez l'Homme (Kawazaki et coll., 1987) et telle l'aorte chez le rat (Tuttle, 1966; Wolinski et coll., 1979).

Cette rigidification des vaisseaux de compliance est directement liée à l'apparition de l'hypertension artérielle systolique avec l'âge (Lakatta, 1987).

Dans l'artère caudale de rats traités par la vitamine D₃ et la nicotine (Thorin-Trescases et coll., 1989a,b,c), nous avons montré une diminution des résistances passives in vitro. Il en est de même dans le lit mésentérique in vitro, où la résistance passive est augmentée. Ces modifications suggèrent la perte d'élasticité des vaisseaux, tout comme l'augmentation des temps de

relaxation après induction de vasocontractions dans le lit mésentérique, l'aorte et l'artère caudale (ce travail et Thorin-Trescases et coll., 1989a,b,c).

Tableau 16 : Valeurs ($m \pm \text{esm}$) de pression artérielle (mm Hg) et de rythme cardiaque (batttements par minute) de rats 1/16 et contrôles, sous anesthésie au pentobarbital (d'après Chillon, 1991).

	contrôle	1/16	rapport 1/16 / contrôle
n	27	32	
Pression artérielle			
diastolique	97 \pm 3	82 \pm 4*	0,84*
systolique	134 \pm 3	142 \pm 6	1,06
moyenne	110 \pm 3	102 \pm 4	0,93
différentielle	37 \pm 3	60 \pm 4*	1,62*
Rythme cardiaque			
	407 \pm 7	375 \pm 9*	0,92*

n : nombre d'animaux.

* : P < 0,05 par rapport au groupe contrôle.

La fonction vasorelaxante de l'endothélium, dans le lit mésentérique et l'aorte de rat, est stimulée par le carbachol et par l'histamine. L'utilisation de ces deux substances permet d'exclure une action spécifique, non EDRF-dépendante de l'une ou de l'autre. Par contre, l'action du nitroprussiate de sodium et de la papavérine est indépendante de l'état de l'endothélium, même si ce dernier peut en moduler l'activité (Shirazaki et coll., 1986; McDonald et coll., 1989).

La fonction endothéliale est sélectivement diminuée par la surcharge calcique dans le groupe 1/16. L'effet vasodilatateur provoqué par le carbachol et l'histamine à l'égard des vasoconstrictions induites par la noradrénaline est en effet abaissé. Dans les mêmes conditions, l'activité du nitroprussiate de sodium et de la papavérine est inchangée.

La diminution de l'effet du carbachol et de l'histamine semble trouver son origine au niveau de la cellule endothéliale elle-même.

Plusieurs possibilités peuvent être envisagées :

- 1) baisse de la sensibilité et/ou du nombre des récepteurs muscariniques et/ou histaminergiques endothéliaux,
- 2) diminution des capacités de synthèse et/ou de libération d'EDRF,
- 3) atténuation de la sensibilité des cellules musculaires lisses à l'EDRF,
- 4) proportionnalité d'un effet vasodilatateur à l'amplitude initiale de la vasoconstriction.

Le point 1 est exclu, car le rapport vasoconstriction sans endothélium / vasoconstriction avec endothélium, dans le lit mésentérique isolé, est abaissé dans le groupe 1/16. De plus, la vitesse de vasorelaxation spontanée après les vasoconstrictions induites par la sérotonine ou la noradrénaline sur l'aorte et le lit mésentérique est diminuée. Ces résultats indiquent une baisse d'activité endothéliale indépendante de l'agent stimulant.

Le point 3 est exclu, car l'activité du nitroprussiate de sodium, donneur de NO, n'est pas modifiée par le traitement vitamine D₃ et nicotine. Cependant, l'activité des vasodilatateurs nitrés n'est pas totalement indépendante de l'endothélium. En effet, le retrait de l'endothélium augmente leur activité de relaxation à l'égard des vasoconstrictions induites par la noradrénaline (Shirazaki et coll., 1986).

Nous avons fait une observation identique, dans le lit mésentérique de rat, où la CI_{50%} du nitroprussiate de sodium s'abaisse après destruction de l'endothélium dans les groupes 1/16 aussi bien que dans les groupes témoins.

Ceci démontre que l'endothélium atténue les vasorelaxations (dont les vasorelaxations non-endothélium-dépendantes) par libération d'EDCF, l'endothéline apparaissant comme un candidat sérieux au titre d'EDCF dans cet exemple (McDonald et coll.,

1989).

Le point 4 est, lui également, exclu. En effet, la proportionnalité d'un effet vasodilatateur à l'amplitude initiale de la réponse provoquée par la noradrénaline, prédirait une augmentation des réponses vasodilatatrices dans le groupe 1/16.

Seul le point 2 peut expliquer les résultats obtenus : la fonction endothéliale (synthèse et/ou libération d'EDRF) est abaissée par la surcharge calcique. Bien qu'à l'heure actuelle, le mécanisme à l'origine de cette diminution soit obscur, on peut noter que la libération d'EDRF est précédée d'une mobilisation de calcium (de Feudis, 1990). Un dysfonctionnement endothélial est un phénomène commun à de nombreux aspects physiologiques et pathologiques vasculaires.

Des travaux antérieurs ont montré que la fonction endothéliale baisse lors du vieillissement chez le rat, dans l'artère carotide (Lee et coll., 1987; Hongo et coll., 1988) et dans l'aorte et l'artère fémorale (Soltis, 1988); chez le chien, dans l'artère mésentérique (Shimizu et coll., 1986). Des altérations histologiques de l'endothélium apparaissent également avec l'âge (Hynes et Duckles, 1987).

La fonction endothéliale diminue également avec l'hypertension artérielle (Hongo et coll. 1988) et l'athérosclérose (Jayakody et coll., 1987).

Bien que de nombreux facteurs soient impliqués dans toute cette phénoménologie vasculaire, le dysfonctionnement endothélial semble se situer à un stade précoce. Le traitement par la vitamine D₃ et la nicotine pourrait représenter un modèle de ce stade précoce. Le modèle 1/16 est le seul modèle de diminution de la fonction endothéliale provoquée par une surcharge calcique.

Des travaux ultérieurs devraient nous permettre d'approfondir de nombreux aspects intéressants tels que la relation éventuelle entre l'atténuation de la fonction endothéliale et la baisse de

compliance observée (Henrion et coll., 1990a).

7.5. Traitement préventif par les inhibiteurs de flux calciques et par les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine I.

Le traitement préventif par les IEC ou les IFC s'est avéré efficace, à des doses dépourvues d'effet sur la pression artérielle moyenne, sur les conséquences de la surcharge calcique dans le lit mésentérique isolé et dans l'aorte de rats (restauration de la réactivité vasculaire à la noradrénaline et à la sérotonine, et restauration de la fonction endothéliale).

La surcharge calcique est prévenue par l'isradipine dans le lit mésentérique et l'artère caudale, vaisseaux de résistance.

Ceci nous permet de déduire que la surcharge calcique a probablement pour première étape une augmentation de calcium intracellulaire.

A des doses plus fortes, les IEC et les IFC préviennent la surcharge calcique dans les vaisseaux de compliance et de résistance chez le rat SHR (Fleckenstein et coll., 1985, 1989) et chez le rat traité par la vitamine D (Mutoh et coll., 1988) ou par l'association vitamine D et nicotine (Fleckenstein et coll., 1985, 1989).

Les troubles fonctionnels provoqués par la surcharge calcique sont de magnitude comparable dans l'aorte et dans le lit mésentérique, mais sont liés à une surcharge calcique d'amplitude bien plus grande dans l'aorte que dans le lit mésentérique.

Ces troubles sont corrigés par les IEC et par les IFC. Il est ainsi probable que l'action des IFC et des IEC sur les conséquences fonctionnelles de la surcharge calcique est indépendante de leur action primitive (action sur les canaux calciques pour les IFC et sur l'enzyme de conversion de l'angiotensine I pour les IEC). Il a été constaté, de plus, que les IEC et les IFC améliorent la compliance artérielle de patients hypertendus (De Luca et coll., 1988; London et coll., 1989),

montrant une fois encore une communauté d'action de ces deux classes différentes de médicaments. Cependant, à l'intérieur de la classe des IEC, les effets du perindopril et du captopril diffèrent dans le sens d'une moindre protection par le captopril de la vasodilatation cholinergique. Cet effet pourrait provenir d'une action du captopril sur les cellules musculaires lisses puisque la relaxation induite par le nitroprussiate de sodium est également diminuée.

Une différence entre les effets tensionnels de ces deux IEC semble peu probable. En effet, les doses de captopril, de perindopril et d'isradipine employées ne modifient pas la pression artérielle moyenne (tableau 17).

Tableau 17 : Valeurs ($m \pm \text{esm}$) de pression artérielle moyenne (PAM, mm Hg) et de rythme cardiaque (RC, battements par minute) de rats 1/16 et contrôles, traités par le perindopril à la dose de 0,3 (P0,3), 1 (P1) ou 3 mg/kg (P3), le captopril à la dose de 3 (C3) ou 10 mg/kg (C10) ou l'isradipine à la dose de 1 mg/kg (IS1) sous anesthésie au pentobarbital (d'après Chillon, 1991).

	PAM (mm Hg)		RC (bpm)	
	contrôle	1/16	contrôle	1/16
NaCl				
	115 \pm 4 (16)	113 \pm 6 (14)	363 \pm 8 (14)	365 \pm 10 (14)
P0,3				
	106 \pm 4 (7)	100 \pm 7 (5)	364 \pm 11 (7)	337 \pm 17 (5)
P1				
	113 \pm 3 (10)	116 \pm 6 (7)	385 \pm 7 (10)	356 \pm 13 (7)
P3				
	105 \pm 3 (7)	103 \pm 4 (5)	360 \pm 14 (7)	342 \pm 10 (5)
C3				
	116 \pm 2 (7)	109 \pm 4 (6)	356 \pm 12 (7)	340 \pm 21 (6)
C10				
	116 \pm 3 (6)	113 \pm 11 (5)	373 \pm 12 (7)	338 \pm 23 (5)
IS1				
	110 \pm 3 (6)	100 \pm 7 (6)	368 \pm 6 (6)	315 \pm 9 (6)*

() : nombre d'animaux. * : $P < 0,05$ par rapport au groupe NaCl.

Il en est de même pour le rythme cardiaque, à l'exception de l'isradipine qui l'abaisse (tableau.17). Cependant, le fait que ces mesures soient effectuées 24 heures après la dernière administration des substances ne permet pas d'exclure que, dans les heures suivant l'injection quotidienne de captopril, de perindopril ou d'isradipine, la pression artérielle moyenne soit modifiée de façon différentielle.

La différence entre les degrés de protection endothéliale que procurent ces deux IEC pourrait provenir de leur différence structurale. Le captopril, contrairement au perindopril, possède un groupement SH. Ainsi, dans nos conditions expérimentales, le captopril aurait pu exercer un effet inhibiteur sur la relaxation induite par le nitroprussiate de sodium et par l'EDRF libéré après la stimulation cholinergique par une séquestration de NO, radical libre.

D'autres possibilités, telles qu'une altération différentielle du métabolisme des prostanoides, semblent exclues à la lumière des observations de Clozel et coll. (1990) d'une action endothéliale protectrice du captopril, indépendante de la présence ou de l'absence d'indométacine.

8. CONCLUSION

Le modèle de surcharge calcique développé chez le rat par un traitement par la vitamine D₃ (1 x 300 000 UI/kg, par voie intramusculaire) et la nicotine (2 x 25 mg/kg, per os) pendant 1 jour, suivi de 16 jours de repos (modèle 1/16) se caractérise par une surcharge calcique, associée à un dysfonctionnement endothélial chez le rat jeune (2 mois).

La surcharge, spécifiquement calcique, est localisée aux artères et au coeur (aorte et carotide > coeur > vaisseaux de résistance) ainsi qu'aux organes "cibles" de la vitamine D (reins et intestin).

In vitro, la surcharge calcique provoque une baisse de la

contractilité vasculaire et un dysfonctionnement endothélial.

A notre connaissance, ce modèle est le seul modèle dans lequel la fonction endothéliale atténuée, en l'absence de modification du profil lipidique.

Il semble donc adapté à la recherche de nouvelles thérapeutiques du vieillissement vasculaire et des pathologies qui lui sont associées.

Nos résultats montrent que les IEC et les IFC préviennent la perte de réactivité vasculaire à la noradrénaline et à la sérotonine in vitro et qu'ils rétablissent la fonction endothéliale diminuée par la surcharge calcique.

Le développement de nouvelles molécules agissant sur la surcharge calciques était rendu difficile par l'absence de modèle fiable. Les rats SHR et les rats vieux développent une surcharge calcique faible et d'apparition lente, comparés à l'Homme. Le modèle 1/16 nous a permis de différencier les effets des IFC et des IEC et de deux IEC entre eux.

Ce modèle pourrait également s'avérer utile pour l'étude de substances nouvelles tels les inhibiteurs non peptidiques de l'angiotensine II et des antagonistes intracellulaires du calcium.

Au delà de son exploitation pharmacologique, ce modèle 1/16 pourrait être utilisé dans l'investigation de nombreux aspects de la physiologie du vieillissement vasculaire tels que les interrelations existant dans la triade dysfonctionnement endothélial, rigidification vasculaire et hypertrophie cardiaque.

Enfin, bien que son étiologie paraisse différente de celle des pathologies vasculaires humaines, le modèle 1/16 pourrait trouver sa place dans l'étude de l'interaction entre les systèmes hormonaux responsables du métabolisme calcique et le système cardio-vasculaire.

A cet égard, il est intéressant de noter que chez les patients hypertendus à activité réninique plasmatique basse (donc sujets âgés), le taux de vitamine D circulante est élevé (Resnik 1990).

9. REFERENCES

Adelstein R.S., Eisenberg E. : Regulation and kinetics of the actin-myosin ATP interaction. *Ann. Rev. Biochem.*, 1980, **49** : 921-956.

Adelstein R.S., Sellers J.R. : Effects of calcium on vascular smooth muscle contraction. *Am. J. Cardiol.*, 1987, **59** : 4B-10B.

Armstrong M.L., Heistad D.D. : Animal models of atherosclerosis. *Atherosclerosis*, 1990, **85** : 15-23.

Atkinson J., Fouda A.K., Sautel M., Sonnay M.: Effects of nifedipine, removal of calcium on vascular responses to phenylephrine and serotonin. *Br. J. Pharmacol.*, 1987, **90** : 194P.

Atkinson J.: Vascular calcium overload, physiological and pharmacological consequences. *Drugs*, 1991, sous presse.

Baker S.L. : Study of the use of captopril in elderly hypertensive patients. *Age Ageing*, 1988, **17** : 17-20

Baudoin-Legros M., Meyer P. : Hypertension and atherosclerosis. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 1990, **15** : S1-S6.

Bean B.P., Stureck M., Pugg A., Hermsmeyer K. : Calcium channels in muscle cells isolated from rat mesenteric arteries : modulation by dihydropyridine drugs. *Circ. Res.*, 1986, **59** : 229-235.

Benham C.D., Tsien R.W. : A novel receptor operated Ca^{2+} -permeable channel activated by ATP in smooth muscle. *Nature*, 1987, **328** : 275-278.

Bevan J.A., Laher I. : Pressure and flow-dependent vascular tone. *FASEB J.*, 1991, **5** : 2267-2273.

Berridge M.J., Irvine R.F. : Inositol triphosphate, a novel second messenger in cellular signal transduction. *Nature*, 1984, **312** :

315-321.

Blaustein M.P., Hamlyn J.M. : Sodium transport inhibition, cell calcium and hypertension. *Am. J. Med.*, 1984, **5** : 45-59.

Blauw G.J., van Brummelen P., Ghang P.C. Vermeij P., van Zwieten P.A. : Arterial dilation and venous constriction induced by serotonin in elderly. *Drugs*, 1988, **36** : S74-S77.

Blumenthal H.T., Lansing A.I., Wheeler P.A. : Calcification of the human aorta and its relation to intimal atherosclerosis, aging and disease. *Am. J. Pathol.*, 1944, **20** : 665-687.

Bolton T.B., Lang R.J., Takewaki T. : Mechanims of action of noradrenaline and carbachol on smooth muscle of guinea-pig anterior mesenteric artery. *J. Physiol. (London)*, 1984, **351** : 549-572.

Borlé A.B. : Control, modulation and regulation of cell calcium. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.*, 1981, **90** : 13-153.

Bowman W.C., Rand M.J.: *Textbook of pharmacology*, Blackwell Sci. Publi., Oxford, seconde édition., 1980.

Bühler F.R., Kiowski W., van Brummelen P., Aman F.W., Bertal O., Landemann R., Lutold B.E., Bolli P. : Plasma catecholamines and cardiac, renal and peripheral vascular adrenoreceptor mediated responses in different age groups in normal and hypertensive subjects. *Clin. Exp. Hypertens.*, 1980, **2** : 409-426.

Bukoski R.D., Wang D., Wagaran D.W. : Injection of 1,25-(OH)₂-vitamin D₃ enhances resistance artery contractile properties. *Hypertension*, 1990, **16** : 523-531.

Bünning P., Budeck W., Escher R., Schönherr E. : Characteristic of angiotensin converting enzyme and its role in the metabolism of angiotensin I by endothelium. *J. Cardiovac. Pharmacol.*, 1986, **8** : S52-S57.

Bursztyn M., Garras I., Garras H. : Hypertension in the aging patients. Implications for the selection of drug therapy. J. Am. Geriatr. Soc., 1989, 37 : 814-818.

Cannon E.P., Williams B.J. : Raised vascular calcium in an animal model : Effects on aortic function. Cardiovasc. Res., 1989, **254** : 47-52.

Casteels R., van Breemen C. : Active and passive Ca²⁺ fluxes across cells membranes of the guinea-pig Taenia coli. Pflügers Arch., 1975, **359** : 197-207.

Cauvin C., Loutzenhiser R., van Breemen C. : Mechanisms of calcium antagonist-induced vasodilation. Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol., 1983, 23 : 373-396.

Chillon J.M.: Impact hémodynamique du vieillissement et de la surcharge calcique vasculaire chez le rat; effet des inhibiteurs de flux calcique et des inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensin I. Thèse de l'Université de Nancy I, 1991.

Clozel M., Kuhn H., Hefti F. : Effects of angiotensin converting enzyme inhibitors and of hydralazine on endothelial function in hypertensive rats. Hypertension, 1990, **16** : 532-540.

Cohen M.L., Berkowitz B.A. : Vascular contraction : Effect of age and extracellular calcium. Blood Vessels, 1976, **13** : 139-154.

Cox H.R. : Effects of age on the mechanical properties of rat carotid artery. Am. J. Physiol., 1977, **233** : H256-H263.

Cox H.R., Bagshaw R.J., Detweiler D.K. : Arterial baroreceptor reflexes in young and old racing greyhounds. Am J. Physiol., 1981, **240** : H383-H390.

Criscione L. Nellis P. Riniker B., Thomann H., Burdet R. : Reactivity and sensitivity of vascular mesenteric beds and aortic rings of spontaneously hypertensive rats to endothelin : effects of calcium entry blockers. Br. J. Pharmacol., 1990, **100** : 31-36.

De Feudis F.V. : Endothelium-dependent relaxing factor and calcium. Trends Pharmacol. Sci., 1990, **16** : 523-531.

De Luca N., Riccialdelli B., Rosiello G., Lembo G., Volpe M., Cuocolo A., Timarco B. : Stable improvement in large artery compliance after long-term antihypertensive treatment with enalapril. Am. J. Hypertens., 1988, **1** : 181-183.

Docherty J.R. : Cardiovascular responses in ageing : a review. Pharmacol. Rev., 1990, **42** : 103-125.

Docherty J.R., Hyland L. : 5-hydroxytryptamine receptors in the human saphenous vein. Br. J. Pharmacol., 1986, **86** : 735P.

Doyle A.E. : Why are the antihypertensive effects of ketanserin age-related. J. Cardiovasc. Pharmacol., 1988, **712** : S124-S131.

Duckles S.P., Carter B.J., Williams C.L. : Vascular adrenergic neuroeffector function does not decline in aged rats. Circ. Res., 1985, **56** : 109-116.

Duckles S.P. : Effects of norepinephrine uptake blockade on contractile responses to adrenergic nerve stimulation of isolated rat blood vessels : influence of age. J. Pharmacol. Exp. Ther., 1987, **243** : 521-526.

Emmick J.T., Cohen M.L. : Ageing and vasodilation to atrial peptides. Clin. Exp. Hypertens., 1986, **A8** : 75-90.

Farber J.L. : The role of calcium in cell death. Life Sci., 1981, **29** : 1289-1295.

Félétou M., Vanhoutte P.M. : Endothelium-dependent hyperpolarization of canine coronary smooth muscle. Br. J. Pharmacol., 1988, **93** : 515-524.

Fleckenstein A., Frey M., Zorn J., Fleckenstein-Grün G. : The role of calcium in the pathogenesis of experimental arteriosclerosis,

Trends Pharmacol. Sci., 1983 a, **28** : 143-151.

Fleckenstein A., Frey M., Fleckenstein-Grün G. : Protection by calcium antagonists against experimental arterial calcinosis. In "Secondary prevention of coronary heart disease", Pyörälä K., Rapaport E., König K., Schettler G., Diehm G. eds, Verlag, Stuttgart, 1983 b, pp 109-122.

Fleckenstein A., Frey M., Zorn J., Fleckenstein-Grün G. : Experimental basis of the long-term therapy of arteriam hypertension with calcium antagonists. Am. J. Cardiol. ,1985, **56** : 3H-14H.

Fleckenstein A., Frey M., Fleckenstein-Grün G. : Antihypertensive and arterial anticalcinotic effects of calcium antagonists. Am. J. Cardiol., 1986 , **57** : 1D-10D.

Fleckenstein A., Fleckenstein-Grün G., Frey M., Zorn J. : Calcium antagonism and ACE inhibition : two outstanding effective means of interferences with cardiovascular calcium overload, high blood pressure and arteriosclerosis in spontaneously hypertensive rats. Am. J. Hypertens., 1989, **2** : 194-204.

Fleckenstein A., Fleckenstein-Grün G., Frey M., Thimm F. : Experimental antiatherosclerotic effects of calcium antagonists. J. Clin. Pharmacol., 1990, **30** : 151-154.

Fleg J.L., Tzankoff S.P., Lakatta E.G. : Age related augmentation of plasma catecholamine during dynamic exercise in healthy males. J. Appl. Physiol., 1985, **59** : 1033-1039.

Fouda A.K., Atkinson J. : Sensitivity to norepinephrine and electrical stimulation decreases with age in the rat tail artery. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol., 1986, **334** : 37-39.

Frangos J.A., Eskin G., McIntire M.V., Ives C.L. : Flow effects of prostacyclin production by cultured endothelial human cells. Science, 1985, **227** : 1477-1479.

Frolkis V.V., Bezrukov V.V., Shevchuk V.G. : Hemodynamics and its regulation in old age. *Exp. Gerontol.* 1975, **10** : 251-271.

Furchgott, R.F.: The requirement for endothelial cells in the relaxation of arteries by acetylcholine and some other vasodilators. *Trends Pharmacol. Sci.*, 1985, **2** : 173-176.

Furchgott R.F., Zawadski J.V. : The obligatory role of the endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*, 1981, **288** : 373-376.

Furchgott R.F., Cherry P.D., Zawadski J.V., Jonarhianandan D. : Endothelial cells as mediators of vasodilation in arteries. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 1984, **6** (suppl. 2) : S 336-S 343.

Grün G., Fleckenstein A. : Die elektro-mechanische entkoppelung der glatten gefässmuskulatur als grundprinzip der coronardilatation durch 4-(2'-nitrophenyl)-2,6-dimethyl-1,4-dihydropyridin-3,5-dicarbonsäure-dimethyl-ester (Bay A 1040, Nifedipin). *Arzneim. Forsch/Drug Res.*, 1972, **22** : 334-344.

Gryglewski R.J., Botting M.R., Vane J.R. : Mediators produced by endothelial cells. *Hypertension*, 1988, **12** : 530-548.

Guyton A.C. : Textbook of medical physiology. Philadelphia, Saunders, septième édition, 1986, pp. 937-953.

Handa R.K., Duckles S.P. : Influence of age on norepinephrine content in arteries and veins of Fischer 344 rats. *Neurobiol. Aging*, 1987, **8** : 611-516.

Hass G.M., Trueheart R.E., Taylor B., Stumpe M. : An experimental histologic study of hypervitaminosis D. *Am. J. Pathol.*, 1958, **34** : 395-431.

Hass G.M., Landerholm W., Hemmens A. : Production of calcific arteriosclerosis and thromboarteritis with nicotine, vitamin D and

dietary cholesterol. *Am. J. Pathol.*, 1966, **49** : 739-771.

Henrion D., Chillon J.M., Capdeville C., Atkinson J. : Decrease in vascular compliance in and endothelial function after calcium overload in the rat. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 1990 a, **22** : S30.

Henrion D., Chillon J.M., Capdeville C., Hicks P.E., Atkinson J. : Changes in vascular endothelium induced by calcium overload in the rat. *Eur. J. Pharmacol.*, 1990 b, **183** : 1245.

Henrion D., Chillon J.M., Muller F., Capdeville C., Hoffman M., Atkinson J. : The consequences of aortic calcium overload following vitamine D₃ plus nicotine treatment in young rats. *J. Hypertens.*, 1991, **9** : 919-926 .

Henry P.D. : Atherosclerosis, calcium and calcium antagonists. *Circulation*, 1985, **72** : 456-459.

Henry P.D. : Calcium antagonists as antiatherosclerotic agents. *Arteriosclerosis*, 1990, **10** : 963-965.

Hickey K.A., Rubanyi G., Paul R.J., Highsmith R.F. : Characterization of a coronary vasoconstrictor produced by cultured endothelial cells. *Am. J. Physiol.*, 1985, **248** : C550-C556.

Hiremath A.N., Pershe R.A., Hoffman B.B., Blaschke T. : Comparison of age related change in prostaglandin E₁ and beta adrenergic responsiveness in vascular smooth muscle in adult males. *J. Gerontol.*, 1989, **44** : M13-M17.

Holzmann, S. : Endothelium-induced relaxation by acetylcholine associated with large rise in cyclic GMP in coronary artery strips. *J. Cycl. Nucl. Res.*, 1982, **8** : 409-413.

Hongo K., Nakagomi T., Kassel N.F., Sasaki T., Lehman M., Vollmer D.G., Tsukahara T., Ogawa H., Torner J. : Effects of aging and hypertension on endothelium-dependent vascular relaxation in rat

carotid artery. *Stroke*, 1988, **19** : 892-897.

Hyland L., Docherty R. : An investigation of age-related changes in pre- and postjunctional alpha-2 adrenoreceptors in human saphenous vein. *Eur. J. Pharmacol.*, 1985, **114** : 241-246.

Hynes M.R., Duckles S.P. : Effect of increasing age on the endothelium mediated relaxation of the rat blood vessels in vitro. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1987, **241** : 387-392.

Ignarro L.J., Burke T.M., Wood K.S., Wallin M.S., Kadowitz P.J. : Association between cyclic GMP accumulation and acetylcholine-elicited relaxation of bovine intrapulmonary artery. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1984, **228** : 682-690.

Ikezono K., Zerkowski H.R., Beckeringh J.J., Michel M.C., Brodde O.E. : Beta₂-adrenoreceptor mediated relaxation of the isolated human saphenous vein. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1987, **241** : 294-299.

Inoue T., Kawashima H. : 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ stimulates ⁴⁵Ca²⁺-uptake by cultured smooth muscle cells derived from rat aorta. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 1988, **152** : 1388-1394.

James G., Sealey J., Mueller B., Alderman M., Madhavan S., Laragh J. : Renin relationship to sex, race and age in a normotensive population. *J. Hypertens.*, 1986, **4** : S387-S389.

Jayakody L., Senaratne M., Thomson A., Kappagoda T. : Endothelium-dependent relaxation in experimental atherosclerosis in the rabbit. *Circ. Res.*, 1987, **60** : 251-264.

Kannel W.B. : Hypertension and other risk factors in coronary heart disease. *Am. Heart J.*, 1987, **114** : 918-925.

Karaki H., Nakagawa H., Ukagawa N. : Age related changes in the sensitivity to verapamil and sodium nitroprusside of vascular smooth muscle of rabbit aorta. *Br. J. Pharmacol.*, 1985, **85** : 223-

228.

Kawasaki T., Sasayama S., Yagi S-I., Asakawa T., Hirai T. : Non-invasive assessment of the age related changes in stiffness of the major branches of the human arteries. *Cardiovasc. Res.*, 1987, **21** : 678-687.

Kawashima H. : Receptor for 1,25 dihydroxyvitamin D in a vascular cell line derived from rat aorta. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 1987, **146** : 1-6.

Kelly J., O'Malley K. : Adreno-receptor function and aging. *Clin. Sci.*, 1984, **66** : 509-515.

Kelm M., Feelisch M., Spahr R., Piper H.-M., Noack E., Schrader J. : Quantitative and kinetic characterisation of nitric oxide and EDRF released from cultured endothelial cells. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 1988, **154** : 236-244.

Khalil R.A., Lodge N.J., Saida K., Gelband C.H., van Breemen C. : Calcium mobilization in vascular smooth muscle and its relevance to the etiology of hypertension. in "Hypertension : Pathophysiology, Diagnosis and Management", Laragh J.H., Brenner B.M. eds, Raven Press, New York, 1990, pp 547-563.

Khalil R.A., van Breemen C. : Sustained contraction of vascular smooth muscle : calcium influx or C kinase activation ? *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1988, **244** : 537-542.

Kojimahara M. : Age-induced changes in the aortas of rats. *Exp. Path.*, 1985, **28** : 191-195.

Laher I., Hwa J.J., Bevan J.A. : Calcium and vascular myogenic tone. in "Calcium Antagonists, Pharmacology and Clinical Research", Proceedings of the Annals of the New York Academy of Sciences, Paoletti R., Bevan J.A. eds, 1988, pp 216-225.

Laher I., Loren P., Gagne L. : Protein kinase C as a modulator of

responses amplification in vascular smooth muscle. *Blood Vessels*, 1990, **27** : 333-339

Lakatta E.G. : Catecholamines and cardiovascular function in aging. *Endocrinol. Aging*, 1987, **16** : 877-891.

Labat-Robert J., Robert L. : Aging of the extracellular matrix and its pathology. *Exp. Gerontol.*, 1988, **23** : 5-18.

Lartaud I., Henrion D., Barres C., Atkinson J. : Cardiac baroreflex sensitivity in conscious rat with cardiovascular calcium overload., *Fund. Clin. Pharmacol.*, 1991, sous presse.

Lee T.J.F., Shirazaki Y, Nickols G.A. : Altered endothelial modulation of vascular tone in aging and hypertension. *Blood Vessels*, 1987, **24** : 132-136.

Levy B.I., Benasiano J., Poitevin P., Safar M. : Angiotensin converting enzyme inhibition and compliance of the carotid artery in normotensive and hypertensive rats. *J. Human Hypertens.*, 1989, **3** : 57-62.

London G.M. Marchais S.J. Safar M.E.: Arterial compliance in hypertension. *J. Human Hypertens.*, 1989, **3** : S53-S56.

Lüscher T.F. : Endothelial vasoactive substances and cardiovascular diseases. Karger, 1988, Basel.

McCarty R. : Sympathetic-adrenal medullary and cardiovascular responses to acute cold stress in adult and aged rats. *J. Auton. Nerv. Syst.*, 1985, **12** : 15-22.

McDonald P.S., Kudo K., Dubbin P.M., Dusting G.J. : Rat aortic endothelium antagonizes nitroprusside-induced relaxation by release of the peptide endothelin. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, 1989, **16** : 223-227.

McGregor D.D. : The effects of sympathetic nerve stimulation on

the vasoconstriction responses in perfused mesenteric blood vessels of the rats. *J. Physiol. (London)*, 1965, **177** : 21-30.

Merke J., Hofmann D., Goldschmidt H. : 1,25 (OH)₂ vitamin D₃ receptor and action in vascular smooth muscle in vitro. *Calcif. Tiss. Int.*, 1987, **41** : 112-114.

Milnor W.R. : "Hemodynamics", 2^o édition, William et Wilkins, Baltimore, 1989.

Moritoki H., Iwamoto T., Kanaya J., Ishida Y., Fukuda H. : Age-related change in serotonin-mediated prejunctional inhibition of vas deferens. *Eur. J. Pharmacol.*, 1986, **132** : 39-46.

Moritoki H., Tanioka A., Maeshiba Y., Iwamoto T., Ishida Y., Araki H. : Age-associated decrease in histamine induced vasodilation may be due to reduction of cyclic GMP formation. *Br. J. Pharmacol.*, 1988, **95** : 1015-1020.

Mutoh S., Nomoto A., Sekigushi C., Yamaguchi I. : Protective effects of calcium antagonists, nilvadipine, against aortic calcium deposition - a pathogenic factor in atherosclerosis. *Atherosclerosis*, 1988, **73** : 181-189

Nayler W.G. : Effect of nicotine on cardiac muscle contraction and radiocalcium movement. *Am. J. Physiol.*, 1963, **205** : 890-896.

Newman R.A., Langner R.O. : Age-related changes in the vascular collagen metabolism of the spontaneously hypertensive rat. *Exp. Gerontol.*, 1978, **13** : 83-89.

Nyborg N.C.B. : Ageing is associated with increased 5-HT₂ receptor affinity and decreased receptor reserve in rat isolated coronary arteries. *Br. J. Pharmacol.*, 1991, **102** : 282-286.

O'Donnell S.R., Wanstall J.C. : Thyroxine treatment of aged and young rats demonstrated that vascular responses mediated by beta-adrenoreceptors subtypes can be differentially regulated. *Br. J.*

Pharmacol., 1986, **88** : 41-49.

Orimo H., Terashita K., Nakamura T., Oshima J. : Calcium and atherosclerosis. J. Nutr. Sci. Vitaminol., 1985, **31** : S33-S36.

Oster L., Henrion D., Martin J.A., Thorin E., Hicks P.E., Atkinson J. : Calcium overload following administration of vitamin D₃ and nicotine in the rat. Br. J. Pharmacol., 1989 a, **96** : 151 P.

Oster L., Henrion D., Martin J.A., Thorin E., Hicks P.E., Atkinson J. : Traitement vitamin D₃-nicotine : sélectivité cardio-vasculaire de la surcharge calcique induite chez le rat. Arch. Mal. Coeur Vaisseaux, 1989 b, **83** : 33.

Oster L. : Etude de la relation calcium cytosolique-force de contraction chez le rat : influence du vieillissement et de la surcharge calcique. Thèse de l'Université de Nancy I, 1991.

Overtuft M. : Are calcium ion antagonists effective antiatherogenic agents ? Atherosclerosis, 1990, **10** : 961-962.

Owen T.L. : Effect of age on blood pressure and small vessel reactivity in male rabbits. Blood Vessels, 1986, **23** : 271-278.

Palmer R.M., Ferridge A.G., Moncada S. : Nitric oxide accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. Nature, 1987, **327** : 524-526.

Rappoport R.M., Murad F. : Agonist-induced endothelium-dependent relaxation in the rat thoracic aorta may be mediated through cGMP. Circ. Res., 1983, **52** : 352-357.

Resnik L.M. : The role of dietary calcium and magnesium in the therapy of hypertension : "Hypertension : Pathology, diagnosis and management", éditeurs : Laragh J.H., Brenner B.M., Raven Press, New York, 1990, pp 2037-2059.

Reuter H., Blaustein M.P., Haeusler G. : Na-Ca exchange and

tension development in arterial smooth muscle. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. (Biol.)*, 1973, **265** : 87-94.

Roberts J., Turner N. : Age-related changes in autonomic function of catecholamines. *Rev. Biol. Res. Aging*, 1987, **3** : 257-298.

Rubanyi G.M., Freay A.D., Kauser K., Johns A., Harder D.R. : Mechanoreception by the endothelium : mediators and mechanisms of pressure- and flow-induced vascular responses. *Blood Vessels*, 1990, **27** : 246-257.

Rucker R.B., Ford D., Rieman W.G., Tom K. : Additional evidence for the binding of calcium ions to elastin at neutral sites. *Calcif. Tissue Res.*, 1974, **14** : 317-325.

Saar N., Gordon R.D. : Variability of plasma catecholamines levels : Age duration of posture and times of day. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 1979, **8** : 353-358.

Saida K. : Ca^{2+} - and "depolarization"-induced Ca^{2+} release in skinned smooth muscle fibers. *Biomed. Res.*, 1981, **12** : 453-455.

Sandberg L.B., Soskel N.T., Leslie J.G. : Elastin structure, biosynthesis and relation to disease states. *New England J. Med.*, 1981, **304** : 566-579.

Scott P.J.W., Reid J.L. : The effect of age on the responses of human isolated arteries to noradrenaline. *Br. J. Pharmacol.*, 1982, **13**, 237-239.

Servin A.L., Christinaki H., Viel C. : Molecular properties of papaverine binding sites identified in human colonic membranes with 6,7-dimethoxy-4-(4'-amino,3'-(^{125}I) iodobenzyl) isoquinoline as probe. *Eur. J. Pharmacol.*, 1988, **149** : 371-376.

Seydewitz V., Staubesand J. : Kalzifizierung der Arterienwand als altern Prozess. Elektronenmikroskopische und Biochemische Untersuchungen am Modell der Vitamin D₃ Überdosierung. *Akt.*

Gerontol., 1983, **13** : 115-118.

Seydewitz V., Staubesand J. : Immunocytochemical demonstration of lysosomal matrix vesicles in the arterial wall of the rat. Histochemistry, 1988, **88** : 463-467.

Shimizu I., Toda N. : Alterations with age of the response to vasodilator agents in isolated mesenteric arteries of the Beagle. Br. J. Pharmacol., 1986, **89** : 769-778.

Shirazaki Y., Lee T.J.F., Kolm P., Cline W.H., Nickols G.A.: Endothelium modulation of vascular relaxation in aging and hypertension. J. Pharmacol. Exp. Ther., 1986, **239** : 861-866.

Simpkins J.W., Field F.P., Ress R.J. : Age-related decline in adrenergic responsiveness of the kidney, heart and aorta of male rats. Neurobiol. Aging, 1983, **4** : 233-238.

Simpson D.M., Wicks R. : Spectral analysis of heart rate indicates reduced baroreceptor-related heart rate variability in elderly persons. J. Gerontol., 1988, **43** : M21-M24.

Soltis, E.E. : Effects of age and blood pressure and membrane-dependent responses in the rat. Circ. Res., 1988, **62** : 889-897.

Sowers J.R., Rubenstein L.Z., Stern N. : Plasma norepinephrine response to posture and isometric exercise increase with age in the absence of obesity. J. Gerontol., 1983, **38** : 315-317.

Spence J.D. : Pathogenesis of atherosclerosis and its complications : effects of antihypertensive drugs. J. Human hypertension, 1989, **3** (suppl. 2) : 63-68.

Stalicky M., Hofecker G., Niedermuller H. : Untersuchungen zur Phospholipase-A2-Aktivität in verschiedenen Blutgefäßen der Ratte. Z. Gerontol., 1990, **23** : 136-139.

Story D.F., Ziogas J.: Role of the endothelium on the facilitatory

effects of angiotensin I and II on noradrenergic transmission in the caudal artery of the rat. *Br. J. Pharmacol.*, 1986, **87** : 249-255.

Su S., Bevan J.A.: Blockade of norepinephrine-induced release by cocaine, phenoxybenzamine and desipramine. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1970, **175** : 533-540.

Swierczynski J., Nagel G., Zydowo M.M. : Calcium content in some organs of rats treated with a toxic calciol dosis. *Pharmacology*, 1987, **34** : 57-60.

Thorin E., Oster L., Henrion D., Thorin-Trescases N., Capdeville C., Martin J.M., Chillon J.M., Hicks P.E., 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** : 257-266.

Thorin-Trescases, N., Henrion, D., Oster, L., Thorin, E., Hicks, P.E., Atkinson, J. : Changes in vascular reactivity in a rat model of calcium overload. *Br. J. Pharmacol.*, 1989 a, **96** (Proc. suppl.) : 209 P.

Thorin-Trescases N., Henrion D., Oster L., Thorin E., Hicks P.E., Atkinson J. : Vascular reactivity in a rat model of calcium overload. *Fund. Clin. Pharmacol.*, 1989 b, **3** : 436.

Thorin-Trescases N., Henrion D., Oster L., Thorin E., Hicks P.E., Atkinson J. : Nouveau modèle de surcharge en calcium chez le rat : modifications vasculaires. *Arch. Mal. Coeur Vaisseaux*, 1989 c, **83** : 33.

Thorin-Trescases N., Oster L., Atkinson J., Capdeville C. : Norepinephrine and serotonin increase the vasoconstrictor response of the perfused rat tail artery to changes in cytosolic calcium. *Eur. J. Pharmacol.*, 1990, **179** : 469-471.

Toda N., Okamura T., Miyazaki M. : Age-dependent changes in the response of isolated beagle coronary arteries to transmural electrical stimulation and catecholamines. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1986, **238** : 319-326.

Toda N., Bian K., Inoue S. : Age-related changes in the response to vasoconstrictor and dilator agents in isolated Beagle coronary arteries. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 1987, **336** : 359-364.

Toro L., Stefani E. : Ca^{2+} and K^+ in cultured vascular smooth muscle cells from rat aorta. *Pflügers Arch.*, 1987, **408** : 417-419.

Tsujimoto G., Lee C.H., Hoffman B.B. : Age-related decrease in beta adrenergic receptor-mediated vascular smooth muscle relaxation. *Am. J. Physiol.*, 1986, **252** : H513-H520.

Tuttle R.S. : Age-related changes in the sensitivity of rat aortic strips to norepinephrine and associated chemical and structural alterations. *J. Gerontol.*, 1966, **21** : 510-516.

van Breemen C., Hwang K., Loutzenhiser R., Lukman S., Yamamoto H. : Ca entry into vascular smooth muscle. in *Cardiovascular Effects of Dihydropyridine-type Calcium Antagonists and Agonists*, in Flekenstein A., van Breemen C., Gross R. and Hoffmeister F. eds, Springer-Verlag, New York, 1985, pp 58-71.

Vargas E., Lye M., Faragher E.B., Goddard C., Moser B., Davies I. : Cardiovascular haemodynamics and the response of vasopressin, aldosterone, plasma renin activity and plasma catecholamines to head-up tilt in young and old healthy subjects. *Age Ageing*, 1987, **15** : 17-28.

Vokonas P.S., Kannel W.B., Cupples L.A. : Epidemiology and risk of hypertension in the elderly , The Framingham study. *J. Hypertens.*, 1988, **6** : S3-S9.

Wagner-Mann C., Stureck M. : Endothelin mediates calcium influx

- and release in porcine coronary smooth muscle cells. *Am. J. Physiol.*, 1991, **260** : C771-C777.
- Wanstall J.C., O'Donnell S.R. : Influence of age on calcium entry blocking drugs in rat aorta. *Eur. J. Pharmacol.*, 1989, 159 : 241-246.
- Waynforth H.B. : Experimental and surgical technics in the rat. Academic Press, London, 1980, pp 240-241.
- Wei J.Y., Li Y.X., Ragland J. : Effect of exercise training on resting blood pressure and heart rate in adult, aged rats. *J. Gerontol.*, 1987, **42** : 11-16.
- Weiss G.B., Winqvist R.J., Silver P.J. : Vascular smooth muscle and vasodilators. in "Cardiovascular Pharmacology", Antonnacio M. ed., troisième édition, Raven Press, New York, 1990, pp 75-105.
- Wekler B.B., Marcus A.J., Jaffe E.A. : Synthesis of prostaglandin I₂ (prostacycline) by cultured endothelial cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1977, **74** : 3922-3926.
- Wolinsky H. : Long-term effects of hypertension of the rat aortic wall and their relation to concurrent aging changes. *Circ. Res.*, 1979, **30** : 301-309.
- Yanagisawa M., Kurihara H., Kimura S., Tomobe Y., Kobayashi M., Mitsui Y., Yasaki Y., Goto K., Masaki T. : A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature*, 1988, **332** : 411-415.
- Young J.B., Rowe J.W., Pallotta J.A., Sparrow D., Landsberg L. : Enhanced plasma norepinephrine response to upright posture and oral glucose administration in elderly human subjects. *Metabolism*, 1980, **29** : 532-539.

10. ANNEXE

Tableau 3 : Poids corporel, taux de croissance du jour 5 au jour 17 et consommation en nourriture et eau de rats traités par la vitamine D₃ et la nicotine (1/16) et de rats contrôles (n = 6 par groupe).

	Jour 1	Jour 5	Jour 17	Taux de croissance (g/jour)
Poids (g)				
contrôle	204 ± 2	220 ± 2	300 ± 2	6,2 ± 2,0
1/16	209 ± 3	170 ± 2*	216 ± 8*	3,5 ± 2,1
Nourriture (g/kg/jour)				
contrôle	117 ± 16	99 ± 24	101 ± 14	
1/16	72 ± 13*	17 ± 18*	127 ± 24	
Eau (g/kg/jour)				
contrôle	147 ± 11	126 ± 14	113 ± 6	
1/16	161 ± 17	111 ± 14	155 ± 16	

Les résultats sont exprimés en $m \pm \text{esm}$.

* : $P < 0,05$ par rapport au groupe contrôle.

Tableau 5 (a) : Rapport du poids sec au poids frais (PS/PF, exprimé en % du poids frais), taux de calcium total, de phosphates et de sodium ($\mu\text{moles/g}$ de poids sec) de tissus de rats traités par la vitamine D₃ et la nicotine (1/16) et de rats contrôles.

Groupe	PS/PF (%)		Calcium ($\mu\text{moles/g}$)	
	contrôle	1/16	contrôle	1/16
n	60	60	60	60
Aorte thoracique	28,4 ± 0,4	34,0 ± 0,9*	10,4 ± 0,4	368,3 ± 41,5*
Aorte abdominale	32,1 ± 0,8	37,0 ± 0,9*	16,4 ± 0,7	340,1 ± 44,1*
Artère carotide	37,1 ± 1,8	46,0 ± 2,9*	28,6 ± 2,3	377,0 ± 50,3*
Artère caudale	26,6 ± 1,3	34,8 ± 1,9*	23,8 ± 1,5	73,9 ± 5,9*
Lit mésentérique	59,9 ± 2,0	53,6 ± 1,8	1,3 ± 0,2	5,1 ± 1,0*
Myocarde	21,3 ± 1,3	20,2 ± 1,0	4,9 ± 0,1	41,2 ± 4,0*
Rein droit	21,3 ± 1,1	20,9 ± 1,1	6,2 ± 0,3	88,2 ± 9,5*
Rein gauche	21,7 ± 1,1	20,8 ± 0,9	6,0 ± 0,2	94,4 ± 8,6*
Intestin	18,6 ± 0,8	19,9 ± 0,6	5,5 ± 0,1	14,9 ± 0,1*
Yeux	19,5 ± 0,8	19,8 ± 0,9	10,3 ± 0,3	10,9 ± 0,5
Foie	25,8 ± 1,6	25,5 ± 0,9	2,8 ± 0,2	2,7 ± 0,2
Cerveau	18,1 ± 1,1	18,8 ± 1,5	8,1 ± 1,8	9,7 ± 1,1
			mmoles/g	
Fémur (diaphyse)	61,1 ± 1,8	59,0 ± 1,9	7,4 ± 0,4	6,6 ± 0,7*
Fémur (épiphyse)	54,1 ± 2,8	48,0 ± 1,9	6,1 ± 0,2	5,5 ± 0,3*

Les résultats sont exprimés en $m \pm \text{esm}$; n : nombre d'animaux.

* : $P < 0,05$ par rapport au groupe contrôle.

Tableau 5 (b) : Taux de phosphates, de sodium, de magnésium et de potassium ($\mu\text{moles/g}$ de poids sec) de tissus de rats traités par la vitamine D₃ et la nicotine (1/16) et de rats contrôles.

Groupe	Phosphates		Sodium	
	contrôle	1/16	contrôle	1/16
n	12	12	12	12
Aorte thoracique	94 \pm 12	316 \pm 43*	222 \pm 81	225 \pm 24
Myocarde	180 \pm 8	215 \pm 12*	130 \pm 81	125 \pm 9
Rein droit	176 \pm 9	278 \pm 22*	186 \pm 16	183 \pm 12
Rein gauche	152 \pm 4	211 \pm 11*	186 \pm 19	183 \pm 18
Intestin	261 \pm 63	250 \pm 30	238 \pm 60	167 \pm 24
Foie	177 \pm 24	166 \pm 13	70 \pm 16	74 \pm 5
Cerveau	200 \pm 22	167 \pm 17	235 \pm 44	196 \pm 15

Groupe	Magnésium		Potassium	
	contrôle	1/16	contrôle	1/16
n	60	60	12	12
Aorte thoracique	14,9 \pm 0,9	16,3 \pm 1,5	194 \pm 12	225 \pm 23
Aorte abdominale	12,8 \pm 0,7	16,9 \pm 3,0	ND	ND
Artère carotide	37,1 \pm 2,7	40,8 \pm 5,0	ND	ND
Artère caudale	26,5 \pm 2,5	21,2 \pm 2,7	ND	ND
Lit mésentérique	3,6 \pm 0,5	4,6 \pm 0,5	ND	ND
Myocarde	43,4 \pm 0,7	47,0 \pm 1,8	291 \pm 13	267 \pm 10
Rein droit	39,1 \pm 1,5	37,1 \pm 1,5	271 \pm 32	239 \pm 16
Rein gauche	39,1 \pm 1,5	36,3 \pm 1,2	251 \pm 20	190 \pm 19
Fémur (diaphyse)	181,0 \pm 3,1	179,3 \pm 6,4	ND	ND
Fémur (épiphyse)	157,1 \pm 2,7	129,5 \pm 3,9	ND	ND
Intestin	35,8 \pm 1,5	36,5 \pm 1,3	420 \pm 108	556 \pm 126
Yeux	17,2 \pm 0,2	15,6 \pm 0,6	ND	ND
Foie	34,1 \pm 1,0	33,5 \pm 1,2	271 \pm 37	259 \pm 14
Cerveau	36,0 \pm 1,1	38,0 \pm 1,7	509 \pm 80	409 \pm 46

Les résultats sont exprimés en $m \pm \text{esm}$; n : nombre d'animaux.

* : $P < 0,05$ par rapport au groupe contrôle.

ND : non déterminé

Tableau 6 : Seuil de sensibilité (CE_{10mmHg}, nmoles), sensibilité moyenne (CE_{50%}, nmoles) et réponse maximale (RM, mm Hg) à la noradrénaline et à la sérotonine du lit mésentérique isolé et perfusé, de rats traités par la vitamine D₃ et la nicotine (1/16) ou contrôles, en présence (+ E) ou en absence (- E) d'endothélium (n = 12 par groupe).

Groupe	NORADRENALINE		SEROTONINE	
	contrôle	1/16	contrôle	1/16
CE _{10mmHg} + E	2,0 ± 0,4	4,9 ± 1,0 ^a	1,3 ± 1,0	1,2 ± 0,7
CE _{10mmHg} - E	0,7 ± 0,2 ^b	2,1 ± 0,4 ^b	0,8 ± 0,3	1,6 ± 0,5
CE _{50%} + E	6,5 ± 1,0	13,7 ± 2,6 ^a	6,3 ± 0,7	3,3 ± 1,8
CE _{50%} - E	3,8 ± 0,8 ^b	8,1 ± 1,3 ^{a,b}	2,1 ± 0,7	1,7 ± 0,4
RM + E	143,0 ± 5,1	69,8 ± 5,0 ^a	58,0 ± 6,6	40,0 ± 5,7 ^a
RM - E	158,0 ± 8,3	81,2 ± 8,9 ^a	90,0 ± 11,1 ^b	70,0 ± 10,7 ^{a,b}

Les résultats sont exprimés en m ± esm.

^a : P < 0,05 par rapport au groupe contrôle.

^b : P < 0,05 par rapport au groupe correspondant avec endothélium.

Tableau 7 : Atténuation par le carbachol, l'histamine, la papavérine et le nitroprussiate de sodium (NPS) des vasoconstrictions induites par la noradrénaline sur le lit mésentérique isolé de rats traités par la vitamine D₃ et la nicotine (1/16) ou contrôles, exprimée par la sensibilité (CI_{50%}) et la vasodilatation maximale (= réponse vasoconstrictrice observée avec la plus forte dose de vasodilatateur, exprimée en % de la réponse provoquée par la CE_{50%} de la noradrénaline en absence de vasodilatateur, avec (+ E) ou sans (- E) endothélium (n = 12 par groupe).

Groupe	contrôle		1/16	
	+ E	- E	+ E	- E
CI_{50%}				
Carbachol (μ moles/l)	0,20 \pm 0,10	-	2,00 \pm 0,60 ^a	-
Histamine (μ moles/l)	4,2 \pm 1,7	-	7,5 \pm 1,1	-
Papavérine (μ moles/l)	0,16 \pm 0,02	0,15 \pm 0,02	0,17 \pm 0,09	0,21 \pm 0,08
NPS (nmoles/l)	56,8 \pm 7,6	22,0 \pm 4,0 ^b	51,4 \pm 6,9	28,1 \pm 5,6 ^b
Vasodilatation maximale				
	+ E	- E	+ E	- E
Carbachol	10,5 \pm 0,3	-	32,2 \pm 2,7 ^a	-
Histamine	17,6 \pm 2,1	-	33,0 \pm 5,2 ^a	-
Papavérine	5,6 \pm 3,1	5,0 \pm 3,2	10,1 \pm 3,5	10,4 \pm 3,2
NPS	6,5 \pm 0,5	4,5 \pm 0,4	8,3 \pm 2,8	6,5 \pm 1,3

Les résultats sont exprimés en m \pm esm.

^a : P < 0,05 par rapport au groupe contrôle.

^b : P < 0,05 par rapport au groupe correspondant avec endothélium.

Tableau 8 : Evolution pondérale (g) et taux de croissance (g/jour) du jour 5 au jour 17, de rats traités par la vitamine D₃ et la nicotine (1/16) ou contrôles, de rats traités par la vitamine D₃ et la nicotine (1/16) ou contrôles, traités par le NaCl 0,15 M (NaCl), le perindopril à la dose de 0,3, 1 ou 3 mg/kg (P0,3, P1 et P3), le captopril à la dose de 3 ou 10 mg/kg (C3 ou C10) et l'isradipine à la dose de 1 mg/kg (IS1) (n = 12 par groupe).

Groupe	Jour 1	Jour 5	Jour 17	Taux de croissance (Jours 5-17)
NaCl				
contrôle	239 ± 6	261 ± 6	320 ± 5	4,9 ± 1,2
1/16	229 ± 6	189 ± 4 ^a	267 ± 6 ^a	6,5 ± 2,0
P0,3				
contrôle	231 ± 12	250 ± 12	315 ± 11	5,4 ± 1,4
1/16	213 ± 12	177 ± 5 ^a	228 ± 16 ^a	4,3 ± 1,7
P1				
contrôle	242 ± 8	263 ± 8	319 ± 8	4,7 ± 1,4
1/16	230 ± 7	193 ± 5 ^a	270 ± 6 ^a	6,4 ± 1,8
P3				
contrôle	227 ± 9	245 ± 10	301 ± 7 ^b	4,7 ± 1,5
1/16	220 ± 6	173 ± 5 ^a	233 ± 8 ^{a.b}	5,0 ± 1,6
C3				
contrôle	219 ± 7	237 ± 7	296 ± 7	4,9 ± 1,9
1/16	230 ± 8	184 ± 10 ^a	248 ± 15 ^a	5,3 ± 2,0
C10				
contrôle	251 ± 8	273 ± 8	319 ± 9	3,8 ± 2,1
1/16	246 ± 14	196 ± 4 ^a	241 ± 11 ^a	3,8 ± 1,8
IS1				
contrôle	244 ± 6	267 ± 7	329 ± 10	5,2 ± 1,7
1/16	263 ± 29	219 ± 20 ^a	286 ± 23 ^a	5,6 ± 1,6

Les résultats sont exprimés en m ± esm.

^a : P < 0,05 par rapport au groupe contrôle.

^b : P < 0,05 par rapport au groupe NaCl correspondant.

Tableau 9 (a) : Contenu en calcium total (μ moles ou mmoles/g de poids sec) de tissus isolés de rats contrôles, traités par le NaCl 0,15 M (NaCl) ou le perindopril à la dose de 0,3, 1 ou 3 mg/kg (P0,3, P1 ou P3).

contrôle	NaCl	P0,3	P1	P3
n	17	8	10	9
<hr/>				
(μmoles/g)				
Aorte thoracique	9,9 ± 0,9	13,7 ± 1,5	13,5 ± 1,0	14,1 ± 1,2
Aorte abdominale	14,8 ± 0,8	13,2 ± 3,7	15,4 ± 1,6	12,3 ± 1,0
Artère carotide	41,3 ± 7,2	30,6 ± 4,3	38,0 ± 6,3	28,7 ± 3,5
Artère caudale	26,9 ± 3,0	20,0 ± 3,8	25,6 ± 4,2	20,5 ± 3,9
Lit mésentérique	1,3 ± 0,2	1,8 ± 1,0	1,1 ± 0,1	2,3 ± 0,9
Myocarde	4,0 ± 0,1	3,6 ± 0,4	4,5 ± 0,1	3,9 ± 0,3
Rein droit	6,2 ± 0,9	5,6 ± 0,4	5,2 ± 0,5	5,2 ± 1,4
Rein gauche	6,0 ± 0,4	5,8 ± 0,3	5,4 ± 0,5	11,5 ± 0,8
Intestin	6,6 ± 0,4	5,8 ± 0,4	6,3 ± 0,5	5,8 ± 0,4
Cerveau	5,5 ± 0,9	6,2 ± 1,6	5,0 ± 0,6	5,3 ± 1,0
Foie	2,9 ± 0,2	2,4 ± 0,3	2,3 ± 0,2	3,1 ± 0,5
Yeux	9,3 ± 0,4	8,0 ± 0,5	8,5 ± 0,5	8,0 ± 0,2
<hr/>				
(mmoles/g)				
Fémur diaphyse	5,5 ± 0,2	4,9 ± 0,4	5,4 ± 0,2	5,7 ± 0,2
Fémur épiphyse	5,1 ± 0,1	5,2 ± 0,3	5,4 ± 0,2	5,8 ± 0,2

Les résultats sont exprimés en m ± esm.

Tableau 9 (b) : Contenu en calcium total (μ moles ou nmoles/g de poids sec) de tissus isolés de rats traités par la vitamine D₃ et la nicotine (1/16), traités par le NaCl 0,15 M (NaCl) ou le perindopril à la dose de 0,3, 1 ou 3 mg/kg (P0,3, P1 ou P3).

1/16	NaCl	P0,3	P1	P3
n	14	4	7	5
<hr/>				
(μmoles/g)				
Aorte thoracique	307 ± 77*	383 ± 139*	416 ± 143*	192 ± 104*
Aorte abdominale	333 ± 43*	443 ± 186*	232 ± 54*	399 ± 135*
Artère carotide	543 ± 95*	1162 ± 467*	422 ± 98*	409 ± 141*
Artère caudale	67 ± 9*	138 ± 73*	87 ± 27*	163 ± 42*
Lit mésentérique	5,1 ± 1,0*	22,2 ± 9,3*	3,8 ± 0,7*	17,2 ± 3,0*
Myocarde	38,2 ± 6,3*	47,5 ± 29,7*	47,2 ± 5,3*	38,4 ± 6,3*
Rein droit	105 ± 33*	140 ± 89*	104 ± 12*	113 ± 21*
Rein gauche	100 ± 18*	128 ± 83*	52 ± 18*	101 ± 18*
Intestin	9,0 ± 1,5*	10,3 ± 1,8*	10,9 ± 2,5*	7,6 ± 0,4*
Cerveau	5,1 ± 0,7	8,4 ± 2,8	4,7 ± 0,9	4,0 ± 0,5
Foie	2,6 ± 0,3	2,6 ± 0,1	2,3 ± 0,3	2,8 ± 0,3
Yeux	10,6 ± 0,3	8,5 ± 0,5	10,0 ± 0,3	8,5 ± 0,4
<hr/>				
(nmoles/g)				
Fémur diaphyse	4,7 ± 0,2*	4,5 ± 0,2	5,1 ± 0,3	5,0 ± 0,4
Fémur épiphyse	4,6 ± 0,2*	4,8 ± 0,4	5,1 ± 0,3	5,1 ± 0,4

Les résultats sont exprimés en m ± esm.

* : P < 0,05 groupe 1/16 par rapport au groupe contrôle correspondant.

Tableau 9 (c) : Contenu en calcium total (μ moles ou mmoles/g de poids sec) de tissus isolés de rats contrôles, traités par le NaCl 0,15 M (NaCl), le captopril à la dose de 3 ou 10 mg/kg (C3 ou C10) ou l'isradipine à la dose de 1 mg/kg (IS1).

contrôle	NaCl	C3	C10	IS1
n	17	8	6	6
<hr/>				
(μmoles/g)				
Aorte thoracique	9,9 ± 0,9	14,2 ± 1,5	13,7 ± 1,7	13,5 ± 1,7
Aorte abdominale	14,8 ± 0,8	14,1 ± 1,8	11,2 ± 1,3	14,9 ± 1,7
Artère carotide	41,3 ± 7,2	44,6 ± 13,5	37,0 ± 10,8	26,6 ± 4,4
Artère caudale	26,9 ± 3,0	19,8 ± 3,6	23,6 ± 2,1	22,9 ± 2,3
Lit mésentérique	1,3 ± 0,2	2,9 ± 1,2	2,4 ± 1,2	1,1 ± 1,4
Myocarde	4,0 ± 0,1	3,8 ± 0,6	4,4 ± 0,1	3,8 ± 0,3
Rein droit	6,2 ± 0,9	9,4 ± 0,8	8,4 ± 0,8	4,7 ± 0,2
Rein gauche	6,0 ± 0,4	9,6 ± 0,6	9,9 ± 0,7	7,5 ± 0,5
Intestin	6,6 ± 0,4	6,3 ± 0,3	7,0 ± 0,4	6,3 ± 0,5
Cerveau	5,5 ± 0,9	5,1 ± 1,0	4,7 ± 0,7	6,6 ± 3,4
Foie	2,9 ± 0,2	2,9 ± 0,2	2,4 ± 0,2	1,8 ± 0,2
Yeux	9,3 ± 0,4	7,6 ± 0,5	7,9 ± 0,1	9,3 ± 0,5
<hr/>				
(mmoles/g)				
Fémur diaphyse	5,5 ± 0,2	5,4 ± 0,3	4,4 ± 0,4	5,6 ± 0,1
Fémur épiphyse	5,1 ± 0,1	5,3 ± 0,3	5,5 ± 0,9	5,2 ± 0,3

Les résultats sont exprimés en $m \pm esm$; n : nombre d'animaux.

* : $P < 0,05$ groupe 1/16 par rapport au groupe contrôle correspondant.

Tableau 9 (c) : Contenu en calcium total (μ moles ou mmoles/g de poids sec) de tissus isolés de rats traités par la vitamine D₃ et la nicotine (1/16), traités par le NaCl 0,15 M (NaCl), le captopril à la dose de 3 ou 10 mg/kg (C3 ou C10) ou l'isradipine à la dose de 1 mg/kg (IS1).

1/16	NaCl	C3	C10	IS1
n	13	7	4	6
<hr/>				
(μmoles/g)				
Aorte thoracique	307 ± 77*	411 ± 182*	373 ± 175*	491 ± 115*
Aorte abdominale	333 ± 43*	312 ± 106*	493 ± 81*	265 ± 69*
Artère carotide	543 ± 95*	679 ± 161*	415 ± 150*	394 ± 92*
Artère caudale	67 ± 9*	127 ± 28,2*	67 ± 49*	31 ± 13
Lit mésentérique	5,1 ± 1,0*	11,3 ± 2,8*	5,9 ± 2,2*	2,7 ± 0,9
Myocarde	38,2 ± 6,3*	51,3 ± 11,7*	95,1 ± 38,3*	51,0 ± 20,1*
Rein droit	105 ± 33*	90 ± 22*	178 ± 36*	148 ± 26*
Rein gauche	100 ± 18*	113 ± 39*	132 ± 27*	149 ± 36*
Intestin	9,0 ± 1,5*	7,9 ± 1,3*	17,2 ± 5,7*	11,0 ± 3,5*
Cerveau	5,1 ± 0,7	4,8 ± 0,8	4,9 ± 0,8	4,2 ± 0,9
Foie	2,6 ± 0,3	2,9 ± 0,3	2,9 ± 0,4	1,9 ± 0,4
Yeux	10,6 ± 0,3	7,7 ± 0,5	9,8 ± 0,7	9,0 ± 0,3
<hr/>				
(mmoles/g)				
Fémur diaphyse	4,7 ± 0,2*	4,7 ± 0,2*	4,4 ± 0,1	5,3 ± 0,1
Fémur épiphyse	4,6 ± 0,2*	4,6 ± 0,4	4,3 ± 0,4	4,6 ± 0,3

Les résultats sont exprimés en $m \pm esm$; n : nombre d'animaux.

* : $P < 0,05$ groupe 1/16 par rapport au groupe contrôle correspondant.

Tableau 10 (a) : Paramètres plasmatiques ($m \pm \text{esm}$) de rats traités par la vitamine D₃ et la nicotine (1/16) ou contrôles, traités par le NaCl 0,15 M (NaCl) ou le perindopril à la dose de 0,3, 1 ou 3 mg/kg (P0,3, P1 ou P3).

contrôle	NaCl	P0,3	P1	P3
n	17	8	10	9
urée (mmoles/l)	6,2 ± 0,4	7,4 ± 0,6	6,9 ± 0,6	7,2 ± 0,5
créatinine (µmoles/l)	82,0 ± 14,6	88,5 ± 5,3	65,8 ± 6,3	86,7 ± 7,1
glucose (mmoles/l)	10,3 ± 0,7	7,5 ± 0,6	8,9 ± 0,9	7,6 ± 1,0
cholestérol (mmoles/l)	1,3 ± 0,1	1,3 ± 0,5	1,1 ± 0,1	1,3 ± 0,1
TG (mmoles/l)	0,4 ± 0,1	0,3 ± 0,04	0,4 ± 0,1	0,3 ± 0,1
protéines (g/l)	58,4 ± 2,8	55,0 ± 2,9	56,3 ± 1,7	52,9 ± 3,0
calcium (mmoles/l)	2,5 ± 0,05	2,5 ± 0,2	2,4 ± 0,1	2,6 ± 0,1
magnésium (mmoles/l)	1,0 ± 0,03	1,1 ± 0,04	1,1 ± 0,1	1,0 ± 0,1
phosphates (mmoles/l)	1,8 ± 0,1	1,4 ± 0,8	1,8 ± 0,1	1,5 ± 0,1
sodium (mmoles/l)	143,0±3,2	145,0±6,2	145,0±5,7	144,0±11,2
potassium (mmoles/l)	3,9 ± 0,1	3,8 ± 0,1	3,8 ± 0,1	3,9 ± 0,1
PAL (UI/l)	304 ± 18	326 ± 20	271 ± 26	307 ± 18
GOT (UI/l)	74 ± 5	88 ± 4	85 ± 9	85 ± 8

1/16	NaCl	P0,3	P1	P3
n	14	4	7	5
urée (mmoles/l)	6,4 ± 0,8	7,8 ± 0,9	6,7 ± 0,4	7,1 ± 0,7
créatinine (µmoles/l)	64,8 ± 6,2*	90,7 ± 11,6	60,7 ± 3,4	77,4 ± 9,8
glucose (mmoles/l)	8,7 ± 0,5	11,6 ± 1,7	8,7 ± 0,7	11,1 ± 4,0
cholestérol (mmoles/l)	1,4 ± 0,1	1,8 ± 0,1	1,3 ± 0,1	1,5 ± 0,2
TG (mmoles/l)	0,3 ± 0,04	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,03	0,2 ± 0,04
protéines (g/l)	53,4 ± 2,7	54,6 ± 4,1	53,6 ± 3,0	56,7 ± 3,4
calcium (mmoles/l)	2,5 ± 0,1	2,5 ± 0,1	2,4 ± 0,1	2,5 ± 0,1
magnésium (mmoles/l)	1,1 ± 0,03	1,0 ± 0,04	1,1 ± 0,04	1,1 ± 0,1
phosphates (mmoles/l)	1,4 ± 0,1*	1,5 ± 0,1	1,7 ± 0,1	1,3 ± 0,1
sodium (mmoles/l)	144,0±6,0	147,0 ± 6,5	138,0±5,0	139,0±10,8
potassium (mmoles/l)	3,8 ± 0,1	4,1 ± 0,1	3,7 ± 0,1	3,9 ± 0,1
PAL (UI/l)	279 ± 37	377 ± 128	354 ± 48	380 ± 19*
GOT (UI/l)	92 ± 10	152 ± 65	108 ± 7	89 ± 9

TG = triglycérides, PAL = activité phosphatase alcaline, GOT = activité glutamate oxaloacétate transaminase.

* : P < 0,05 groupe 1/16 par rapport au groupe contrôle correspondant.

Tableau 10 (b) : Paramètres plasmatiques ($m \pm \text{esm}$) de rats traités par la vitamine D₃ et la nicotine (1/16) ou contrôles, traités par le captopril à la dose de 3 ou 10 mg/kg (C3 ou C10) ou l'isradipine à la dose de 1 mg/kg (IS1).

contrôle	C3	C10	IS1
n	6	5	6
urée (mmoles/l)	6,4 ± 0,3	7,0 ± 0,5	9,1 ± 1,6
créatinine (µmoles/l)	78,2 ± 5,3	81,1 ± 6,3	82,0 ± 4,6
glucose (mmoles/l)	6,8 ± 0,7	8,0 ± 0,9	11,0 ± 1,5
cholestérol (mmoles/l)	1,2 ± 0,15	1,2 ± 0,2	1,2 ± 0,2
TG (mmoles/l)	0,2 ± 0,04	0,3 ± 0,04	0,3 ± 0,04
protéines (g/l)	61,8 ± 2,0	63,1 ± 1,4	56,3 ± 3,8
calcium (mmoles/l)	2,4 ± 0,1	2,3 ± 0,1	2,6 ± 0,05
magnésium (mmoles/l)	1,0 ± 0,1	1,1 ± 0,05	1,2 ± 0,04
phosphates (mmoles/l)	1,6 ± 0,1	1,5 ± 0,1	2,2 ± 0,1
sodium (mmoles/l)	142,0 ± 11,0	145,0 ± 7,6	144,0 ± 0,7
potassium (mmoles/l)	4,0 ± 0,1	3,7 ± 0,2	3,8 ± 0,1
PAL (UI/l)	293 ± 26	296 ± 34	292 ± 23
GOT (UI/l)	79 ± 3	77 ± 6	94 ± 5

1/16	C3	C10	IS1
n	5	3	6
urée (mmoles/l)	7,5 ± 0,9	6,5 ± 1,0	6,8 ± 0,5
créatinine (µmoles/l)	88,5 ± 5,6	62,0 ± 10,2	65,3 ± 5,5
glucose (mmoles/l)	8,7 ± 0,3	6,7 ± 0,4	9,3 ± 1,3
cholestérol (mmoles/l)	1,9 ± 0,5	1,6 ± 0,3	1,4 ± 0,1
TG (mmoles/l)	0,2 ± 0,03	0,2 ± 0,04	0,3 ± 0,02
protéines (g/l)	58,8 ± 2,8	59,7 ± 1,6	54,2 ± 2,7
calcium (mmoles/l)	2,3 ± 0,1	2,3 ± 0,4	2,5 ± 0,1
magnésium (mmoles/l)	1,1 ± 0,04	1,0 ± 0,04	1,1 ± 0,04
phosphates (mmoles/l)	1,5 ± 0,01	1,7 ± 0,2	2,0 ± 0,2
sodium (mmoles/l)	141,0 ± 4,6	138,0 ± 9,0	144,0 ± 1,8
potassium (mmoles/l)	4,0 ± 0,1	3,8 ± 0,2	3,7 ± 0,2
PAL (UI/l)	378 ± 36*	268 ± 39	328 ± 50
GOT (UI/l)	135 ± 19*	82 ± 10	113 ± 13

TG = triglycérides, PAL = activité phosphatase alcaline, GOT = activité glutamate oxaloacétate transaminase.

* : P < 0,05 groupe 1/16 par rapport au groupe contrôle correspondant.

Tableau 11 (a) : Seuil de sensibilité (CE₁₀mmHg), sensibilité moyenne (CE₅₀%) et réponse maximale à la noradrénaline, sur le lit mésentérique, isolé de rats traités par la vitamine D₃ et la nicotine (1/16) ou contrôles, traités par le NaCl 0,15 M (NaCl), le perindopril à la dose de 0,3, 1 ou 3 mg/kg (P0,3, P1 et P3) (n = 12 par groupe).

CE ₁₀ mmHg (nmoles)		CE ₅₀ % (nmoles)		Réponse maximale (mm Hg)	
+ E	- E	+ E	- E	+ E	- E
NaCl					
<u>contrôle</u>					
2,0 ± 0,4	0,4 ± 0,2	6,5 ± 1,4	3,8 ± 0,8	143,0 ± 5,0	158,0 ± 8,0
<u>1/16</u>					
4,0 ± 0,5 ^a	4,1 ± 1,2 ^a	13,7 ± 2,7 ^a	8,0 ± 1,3 ^a	69,8 ± 5,0 ^a	81,3 ± 8,9 ^a
P0,3					
<u>contrôle</u>					
2,1 ± 0,5	0,8 ± 0,1 ^{a,b}	9,1 ± 1,8	5,0 ± 1,0	123,1 ± 7,1	137,0 ± 7,5
<u>1/16</u>					
4,2 ± 0,8	2,0 ± 0,9	22,5 ± 6,2 ^a	11,3 ± 2,3	91,3 ± 11,2 ^a	110,0 ± 8,5 ^a
P1					
<u>contrôle</u>					
1,5 ± 0,4	0,7 ± 0,3	8,5 ± 1,6	6,2 ± 1,3	127,0 ± 6,8	130,8 ± 8,6
<u>1/16</u>					
2,5 ± 1,0	1,1 ± 0,3	11,0 ± 3,5	5,0 ± 1,2	115,8 ± 10,2 ^b	136,5 ± 9,5 ^b
P3					
<u>contrôle</u>					
1,6 ± 0,4	0,9 ± 0,2	10,0 ± 1,4	6,6 ± 1,4	135,3 ± 6,7	139,0 ± 5,6
<u>1/16</u>					
3,0 ± 0,7	1,4 ± 0,4 ^b	12,0 ± 2,3	8,0 ± 1,8	115,0 ± 10,5 ^b	125,0 ± 11,0 ^b

Les résultats sont exprimés en m ± esm.

a : P < 0,05 par rapport au groupe contrôle.

b : P < 0,05 par rapport au groupe NaCl correspondant.

Tableau 11 (b) : Seuil de sensibilité (CE_{10mmHg}), sensibilité moyenne (CE_{50%}) et réponse maximale à la noradrénaline, sur le lit mésentérique, isolé de rats traités par la vitamine D₃ et la nicotine (1/16) ou contrôles, traités par le NaCl 0,15 M (NaCl), le captopril à la dose de 3 ou 10 mg/kg (C3 ou C10) et l'isradipine à la dose de 1 mg/kg (IS1) (n = 12 par groupe).

CE _{10mmHg} (nmoles)		CE _{50%} (nmoles)		Réponse maximale (mm Hg)	
+ E	- E	+ E	- E	+ E	- E
NaCl					
<u>contrôle</u>					
2,0 ± 0,4	0,4 ± 0,2	6,5 ± 1,4	3,8 ± 0,8	143,0 ± 5,0	158,0 ± 8,0
<u>1/16</u>					
4,0 ± 0,5 ^a	4,1 ± 1,2 ^a	13,7 ± 2,7 ^a	8,0 ± 1,3 ^a	69,8 ± 5,0 ^a	81,3 ± 8,9 ^a
C3					
<u>contrôle</u>					
1,6 ± 0,2	1,4 ± 0,8	11,0 ± 3,1	4,2 ± 1,8	138,0 ± 6,2	139,0 ± 8,5
<u>1/16</u>					
3,0 ± 1,3	1,9 ± 0,6	11,6 ± 2,5	6,9 ± 1,3	107,0 ± 16,9 ^b	139,0 ± 10,6 ^b
C10					
<u>contrôle</u>					
1,8 ± 0,4	0,8 ± 0,3	9,1 ± 1,6	4,5 ± 0,6	131,2 ± 14,4	130,0 ± 3,2
<u>1/16</u>					
3,3 ± 1,6	3,5 ± 0,8	9,6 ± 2,2	7,2 ± 3,8	119,0 ± 16,9 ^b	128,3 ± 15,2 ^b
IS1					
<u>contrôle</u>					
1,9 ± 0,4	1,4 ± 0,7	9,0 ± 2,3	8,6 ± 3,1	129,8 ± 9,8	142,3 ± 8,1
<u>1/16</u>					
3,0 ± 0,6	2,0 ± 0,4	17,3 ± 4,2	8,0 ± 3,2	85,2 ± 16,3 ^a	99,7 ± 23,6 ^a

Les résultats sont exprimés en m ± esm.

^a : P < 0,05 par rapport au groupe contrôle.

^b : P < 0,05 par rapport au groupe NaCl correspondant.

Tableau 12 : Atténuation par le carbachol et le nitroprussiate de sodium des vasoconstrictions induites par la noradrénaline, exprimée par la sensibilité (CI₅₀%) et la relaxation maximale (%), sur le lit mésentérique isolé de rats traités par la vitamine D₃ et la nicotine (1/16) ou contrôles, traités par le NaCl 0,15 M (NaCl), le perindopril à la dose de 0,3, 1 ou 3 mg/kg (P0,3, P1 et P3), le captopril à la dose de 3 ou 10 mg/kg (C3 ou C10) et l'isradipine à la dose de 1 mg/kg (IS1) (n = 12 par groupe).

Groupe	Carbachol		Nitroprussiate de sodium	
	CI ₅₀ % (µmoles/l)	Relaxation maximale (%)	CI ₅₀ % (nmoles/l)	Relaxation maximale (%)
NaCl				
contrôle	0,27 ± 0,08	10,5 ± 1,2	29,1 ± 5,6	7,0 ± 1,1
1/16	1,05 ± 0,34 ^a	32,2 ± 5,6 ^a	33,7 ± 9,8	8,7 ± 2,3
P0,3				
contrôle	0,45 ± 0,18	12,0 ± 1,3	37,6 ± 13,8	9,2 ± 1,9
1/16	0,43 ± 0,12 ^b	20,7 ± 4,4 ^a	45,2 ± 17,4	12,9 ± 5,4
P1				
contrôle	0,24 ± 0,05	12,0 ± 1,3	24,8 ± 8,3	9,0 ± 2,2
1/16	0,46 ± 0,15 ^b	9,7 ± 1,7 ^b	27,2 ± 11,5	9,6 ± 2,6
P3				
contrôle	0,21 ± 0,05	11,3 ± 1,6	28,6 ± 12,2	9,9 ± 2,4
1/16	0,27 ± 0,14 ^b	15,1 ± 4,9 ^b	37,5 ± 14,0	10,1 ± 3,3
C3				
contrôle	0,18 ± 0,10	8,8 ± 2,6	46,0 ± 19,2	12,0 ± 5,1
1/16	0,56 ± 0,22 ^b	31,4 ± 3,6 ^a	25,2 ± 8,1	11,6 ± 4,8
C10				
contrôle	0,62 ± 0,30	11,2 ± 1,3	67,0 ± 17,0 ^b	15,7 ± 2,8 ^b
1/16	2,7 ± 1,8 ^{a, b}	36,1 ± 8,3 ^a	88,2 ± 28,4 ^b	17,8 ± 2,0 ^b
IS1				
contrôle	0,18 ± 0,03	8,3 ± 3,2	47,0 ± 12,1	11,3 ± 3,2
1/16	0,28 ± 0,11 ^a	12,1 ± 2,7 ^b	34,8 ± 17,4	8,6 ± 3,8

Les résultats sont exprimés en m ± esm.

^a : P < 0,05 par rapport au groupe contrôle.

^b : P < 0,05 par rapport au groupe NaCl correspondant.

Tableau 13 : Seuil de sensibilité ($CE_{0,1g}$), sensibilité moyenne ($CE_{50\%}$) et réponse maximale à la noradrénaline, sur l'aorte isolée de rats traités par la vitamine D3 et la nicotine (1/16) ou contrôles, traités par le NaCl 0,15 M (NaCl), le perindopril à la dose de 0,3, 1 ou 3 mg/kg (P0,3, P1 et P3), le captopril à la dose de 3 ou 10 mg/kg (C3 ou C10) et l'isradipine à la dose de 1 mg/kg (IS1) (n = 12 par groupe).

Noradrénaline						
	$CE_{0,1g}$ (nmoles/l)		$CE_{50\%}$ (nmoles/l)		Réponse maximale (g)	
	contrôle	1/16	contrôle	1/16	contrôle	1/16
NaCl	4,6 ± 1,1	9,0 ± 2,1 ^a	24,9 ± 5,5	83,1 ± 20,1 ^a	0,92 ± 0,03	0,67 ± 0,10 ^a
P0,3	5,8 ± 2,3	8,9 ± 3,2	33,3 ± 6,2	77,7 ± 21,1 ^a	0,85 ± 0,06	0,62 ± 0,18
P1	5,6 ± 1,0	9,0 ± 1,5	28,2 ± 3,7	89,0 ± 14,2 ^a	0,85 ± 0,07	1,05 ± 0,09
P3	5,4 ± 1,2	8,0 ± 2,1	24,3 ± 10,5	42,3 ± 0,7 ^b	0,77 ± 0,11	0,85 ± 0,10
C3	4,5 ± 1,3	25,2 ± 7,2 ^{a,b}	20,7 ± 3,5	68,2 ± 17,5 ^a	0,88 ± 0,18	0,27 ± 0,09 ^{a,b}
C10	4,6 ± 2,0	7,5 ± 1,8	31,7 ± 7,8	55,7 ± 23,3	1,07 ± 0,1	0,56 ± 0,16 ^a
IS1	3,0 ± 0,9	5,1 ± 1,0 ^b	20,7 ± 3,5	12,7 ± 6,9 ^b	1,11 ± 0,09	0,55 ± 0,17 ^a

Les résultats sont exprimés en $m \pm esm$.

a : $P < 0,05$ par rapport au groupe contrôle.

b : $P < 0,05$ par rapport au groupe NaCl correspondant.

RESUME

Parmi les modifications cardio-vasculaires engendrées par le vieillissement, la surcharge calcique vasculaire revêt une importance particulière. Le taux de calcium total aortique augmente en effet de 150 fois entre les âges de 10 et 90 ans chez l'Homme. Un modèle de surcharge calcique cardio-vasculaire a été développé chez le rat adulte jeune. Un jour de traitement par la vitamine D₃ (1 x 300 000 UI/kg, par voie intramusculaire) et la nicotine (2 x 25 mg/kg, per os), suivi de 16 jours de repos (modèle 1/16), induit une surcharge calcique localisée au coeur, aux artères, et aux organes "cibles" de la vitamine D (reins et intestin). *In vitro*, dans l'aorte et le lit mésentérique, la surcharge calcique provoque une baisse de la réactivité à la noradrénaline et à la sérotonine, ainsi qu'une diminution de la fonction endothéliale. Ces modifications sont provoquées par la surcharge calcique, en présence d'un profil lipidique plasmatique normal. L'isradipine (inhibiteur de flux calciques, IFC) prévient la surcharge calcique dans le lit mésentérique et l'artère caudale. Les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine I (IEC : captopril et perindopril) et l'isradipine préviennent la perte de réactivité à la noradrénaline dans le lit mésentérique et l'aorte. Les IEC et IFC rétablissent la fonction endothéliale dans le lit mésentérique alors que seuls les IEC la rétablissent dans l'aorte. La réversibilité de la surcharge calcique dans les artères de résistance ainsi que la réversibilité des modifications de réactivité vasculaire induites par cette même surcharge, permettent d'entrevoir une stratégie thérapeutique des troubles cardio-vasculaires qu'elle engendre lors du vieillissement et de l'hypertension artérielle. Le modèle que nous décrivons dans cette thèse constituera un outil important dans la recherche de nouvelles substances médicamenteuses.

Mots clés : Aorte - Artères - Calcium - Vieillissement - Artériosclérose - Endothélium - inhibiteur de flux calciques - inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine I