HAL
open science

Implication du système rénine angiotensine aldostérone dans les altérations de la circulation cérébrale au cours de l'hypertension artérielle chronique

François Dupuis

To cite this version:

François Dupuis. Implication du système rénine angiotensine aldostérone dans les altérations de la circulation cérébrale au cours de l'hypertension artérielle chronique. Sciences pharmaceutiques. Université Henri Poincaré - Nancy 1, 2005. Français. NNT : 2005NAN12503 . tel-01777264

HAL Id: tel-01777264

https://hal.univ-lorraine.fr/tel-01777264

Submitted on 24 Apr 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.

UNIVERSITÉ DE LORRAINE

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

UNIVERSITE HENRI POINCARE – NANCY 1
2005

ECOLE DOCTORALE "BIOLOGIE SANTE ENVIRONNEMENT"

THESE

Présentée et soutenue publiquement

Le 8 juillet 2005

pour obtenir le titre de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE
HENRI POINCARE – NANCY 1
Mention Sciences du Médicament

Par François DUPUIS

Né le 12 mai 1977

Titulaire du Diplôme d'Etudes Approfondies
Pharmacologie Cardiovasculaire

Sujet :

Implication du système rénine angiotensine aldostérone dans les altérations de la circulation cérébrale au cours de l'hypertension artérielle chronique

Membres du Jury

Juges : Professeur Jeffrey ATKINSON, Nancy
Professeur Pierre LABRUDE, Nancy
Professeur Bernard LEVY, Paris
Docteur Jean-Marc CHILLON, Nancy

Rapporteurs : Professeur Gary BAUMBACH, Iowa City, USA
Professeur Michel PLOTKINE, Paris

A Gratiane,

Pour l’amour et le soutien dont elle a su faire preuve à mon égard, tout au long de l’élaboration de ce travail. Puisse son aboutissement lui témoigner de mon amour.

A mes parents,

A mes grands-parents,

A Luc et Catherine, ainsi qu’à mon futur neveu,

A toute ma famille,

En témoignage de mon amour

Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance à

Monsieur le Professeur J. ATKINSON,

Qui m’a accueilli dans son laboratoire et m’a permis de réaliser ce travail.

Je le remercie particulièrement pour sa disponibilité, sa grande rigueur et sa patience ainsi que pour la richesse de son enseignement.

Qu’il trouve ici les marques de ma reconnaissance et de mon profond respect.

Monsieur le Docteur Jean-Marc CHILLON

Qui a encadré mes recherches.

Je le remercie pour ses conseils et sa patience, pour la rigueur et l'enthousiasme scientifiques qu'il m'a transmis et pour l'honneur qu'il m'a fait en acceptant de diriger ce travail.

Sans son aide précieuse et son soutien dans les périodes difficiles, d'un point de vue professionnel, mais surtout d'un point de vue personnel, ce travail n'aurait sans doute jamais été mené à son terme.

Je tiens particulièrement à lui exprimer ici toute ma gratitude et mon amitié, mais également à lui souhaiter toute la réussite possible pour la nouvelle aventure dans laquelle il se lance.

Monsieur le Professeur Gary BAUMBACH,

Qui m’a fait le grand honneur d’accepter de juger ce travail

Je le remercie vivement pour l’intérêt qu’il a témoigné envers mes recherches et lui exprime ici les marques de mon estime et de mon profond respect.

Monsieur le Professeur Michel PLOTKINE,

Pour l’attention qu’il a porté à ce travail en acceptant de le juger.

Je lui exprime ici toute ma reconnaissance et mon profond respect.

Monsieur le Professeur Pierre LABRUDE,

Qui m’a fait le grand honneur d’accepter de juger ce travail

Je le remercie vivement pour son enseignement ainsi que pour l’intérêt qu’il a porté à mes travaux depuis plusieurs années. Je lui exprime ici les marques de mon estime et de mon profond respect.

Monsieur le Professeur Bernard LEVY,

Pour l’attention qu’il a porté à ce travail en acceptant de le juger.

Qu’il trouve ici toutes les marques de mon estime et de mon profond respect.

Je tiens également à exprimer ma reconnaissance et ma sympathie à

Madame C. Capdeville-Atkinson,

Madame I. Lartaud,

Madame C. Perrin-Sarrado,

Madame M. Grasset,

Monsieur P. Limiñana,

Monsieur P. Giummelly,

Aurore, Caroline, Virginie, Jean-Martin ainsi qu'à tous les étudiants ayant effectué un séjour plus ou moins long au sein du laboratoire,

Pour l'ambiance et les moments de détente au sein du laboratoire, mais aussi pour l'aide et le soutien qu'ils m'ont apportés tout au long de ce travail.

A tous mes amis, bons vivants, musiciens, sportifs ou cumulant plusieurs de ces qualités.

Merci d'avoir été présents à mes côtés durant ces quatre années. Je tiens à vous exprimer toute mon amitié.

SOMMAIRE

Liste des Figures 5

Liste des Tableaux 9

Liste des abréviations 11

PARTIE 1 : Introduction Bibliographique 13

I. Le système rénine angiotensine aldostérone 17

1. Physiologie du système rénine angiotensine aldostérone 17
1.1. Production systémique et régulation de la pression artérielle 18
1.2. Système rénine angiotensine aldostérone tissulaire 20
1.2.1. Production tissulaire d'angiotensine II 21
1.2.2. Production tissulaire d'aldostérone 22

2. Les principaux récepteurs du système rénine angiotensine aldostérone 23
2.1. Récepteurs de l'angiotensine II 23
2.1.1. Récepteurs AT_1 de l'angiotensine II 24
Généralités 24
Voies de transduction intracellulaire 25
2.1.2. Récepteurs AT_2 de l'angiotensine II 41
Généralités 41
Signalisation intracellulaire 42
Conclusion 44
2.2. Récepteur(s) de l'aldostérone 45
2.2.1. Controverse sur l'existence de plusieurs types de récepteurs à l'aldostérone 45
2.2.2. Effets tardifs génomiques de l'aldostérone 46
2.2.3. Effets non génomiques immédiats ou précoces 47
2.2.4. Conclusion 48

3. Système rénine angiotensine aldostérone et hypertension artérielle 49

II. Circulation cérébrale et hypertension artérielle 51

1. Anatomie 51
1.1. Système artériel 52
1.2. Système capillaire 56
1.3. Système veineux 58

2. Autorégulation du débit sanguin cérébral 60
2.1. Définition de l'autorégulation du débit sanguin cérébral 60
2.2. Théorie segmentaire de l'autorégulation 62
2.3. Mécanismes de l'autorégulation du débit sanguin cérébral 66
2.3.1. Hypothèse myogénique 66
2.3.2. Rôle des cellules endothéliales 69
2.3.3. Hypothèse métabolique 70
2.3.4. Hypothèse neurogénique 72
2.3.5. Importance des canaux potassiques 74
2.3.6. Conclusion 75

3. Débit sanguin cérébral, hypertension et système rénine angiotensine aldostérone 77

III. Altérations structurales et mécaniques des artérioles cérébrales au cours de l'hypertension 81

1. Définitions et importances relatives des remodelages hypertrophique et eutrophique 82
1.1. Définitions des termes 82
1.2. Contribution relative des deux types de remodelage à la diminution de de diamètre interne 84
1.2.1. Importance relative du remodelage hypertrophique 84
1.2.2. Importance relative du remodelage eutrophique centripète 85

2. Remodelage hypertrophique centripète 87
2.1. Hypothèses mécanistiques 87
2.2. Déterminants de l'hypertrophie pariétale des artérioles cérébrales 89
2.2.1. Pression pulsée artériolaire 90
2.2.2. Facteurs endothéliaux 94
2.2.3. Modulation des facteurs endothéliaux par la pression pulsée artériolaire 97
2.2.4. Système rénine angiotensine aldostérone 99
2.2.5. Autres facteurs potentiels 102
2.2.6. Conclusion 103

3. Remodelage eutrophique centripète 104
3.1. Hypothèses mécanistiques 104
3.1.1. Implication de l'apoptose dans le remodelage eutrophique centripète 105
3.1.2. Migration et réarrangement des cellules de la paroi vasculaire 107
3.1.3. Modification de la matrice extracellulaire 110
Rôle des intégrines 112
3.1.4. Inflammation vasculaire 115
3.1.5. Conclusion 118
3.2. Déterminants du remodelage eutrophique centripète 118
3.2.1. Système rénine angiotensine aldostérone 119
Implication du système rénine angiotensine aldostérone dans le remodelage eutrophique centripète 119
Mécanismes potentiels du SRAA sur le remodelage eutrophique centripète 125
Conclusion 132
3.2.2. Facteurs génétiques 132
3.2.3. Système adrénergique 134

4. Modification de la distensibilité pariétale 135
4.1. Définitions 135
4.2. Conséquences de l'hypertension sur la distensibilité des artères et artérioles cérébrales. 136
4.3. Déterminant et importance relative des modifications de distensibilité 138

5. Conclusion 140

PARTIE 2 : Travaux Personnels 141

I. Impact d'un traitement chronique par un iec et impact du vieillissement sur le remodelage des artérioles cérébrales du rat shr 143

1. Objectifs 143

2. Manuscrit 145

3. Résumé des résultats 171

II. Rôle des récepteurs AT_1 173

1. Objectif 173

2. Manuscrit 173

3. Résumé des résultats 195

III. Rôle de l'aldostérone 197
1. Objectif 197
2. Manuscrit 198
3. Résumé des résultats 219
PARTIE 3 : Limitations et Perspectives 221
I. Récapitulatif des résultats 223
II. Limitations Méthodologiques 227
1. Autorégulation du DSC 227
2. Paramètres structuraux 228
3. Interprétation des résultats 231
III. Perspectives 233
1. Mécanismes biochimiques 233
2. Conséquences physiologiques 235
IV. Conclusion 237
Bibliographie 239

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Les différentes voies de synthèse et de dégradation de l'angiotensine II..... 20

Figure 2 : Les différents récepteurs de l'angiotensine II..... 23

Figure 3 : Voies de transduction intracellulaire activées immédiatement lors de la stimulation des récepteurs AT_1 par l'angiotensine II. 26

Figure 4 : Voies de transduction intracellulaire activées précocement lors de la stimulation des récepteurs AT_1 par l'angiotensine II. 29

Figure 5 : Schéma de l'activation des protéines à activité tyrosine kinase suite à la stimulation des récepteurs AT_1 par l'angiotensine II. 31

Figure 6 : Schéma de la cascade d'activation des MAPK suite à la stimulation des récepteurs AT_1 par l'angiotensine II..... 33

Figure 7 : Schéma de l'activation de la phospholipase A_2, de la phospholipase D et des protéines de la famille Rho suite à la stimulation des récepteurs AT_1 par l'angiotensine II..... 35

Figure 8 : Schéma de la production des radicaux libres oxygénés et de leur implication dans les effets tardifs consécutifs à la stimulation des récepteurs AT1 par l'angiotensine II. 38

Figure 9 : Schéma récapitulatif des différentes voies de signalisation intracellulaire activées par la stimulation des récepteurs AT_1 et potentiellement impliquées dans le remodelage vasculaire..... 40

Figure 10 : Schéma des principales voies de signalisation intracellulaire consécutives à la stimulation des récepteurs AT_2 par l'angiotensine II..... 44

Figure 11 : Schéma de l'activation du récepteur des minéralocorticoïdes par l'aldostérone. 47

Figure 12 : Représentation schématique du polygone de Willis et des différentes artères afférentes et efférentes à ce polygone (vue basale du cerveau). 53

Figure 13 : Représentation des territoires du cerveau alimentés par l'artère cérébrale antérieure, l'artère cérébrale moyenne et l'artère cérébrale postérieure..... 55

Figure 14 : Représentation du mode de pénétration des artérioles dans le cortex cérébral. 56

Figure 15 : Représentation de la structure d'un capillaire cérébral (coupe transversale)..... 57

Figure 16 : Représentation des principales veines et des principaux sinus veineux de la circulation cérébrale..... 59

Figure 17 : Représentation de la courbe d'autorégulation du débit sanguin cérébral, et de l'évolution du diamètre des artères cérébrales chez un individu jeune normotendu. 61

Figure 18 : Réponse des artères et artérioles cérébrales à l'hypotension. Les valeurs de diamètre sont exprimées en pourcentage de la valeur de base..... 65

Figure 19 : Relation entre la pression intravasculaire et le potentiel membranaire dans des segments d'artères cérébrales isolés (Panneau A). Relation entre la pression intravasculaire et la concentration calcique de la paroi artérielle (Panneau B). Relation entre la pression intravasculaire et la diamètre des artères cérébrales (Panneau C). 67

Figure 20 : Schéma de l'hypothèse métabolique du mécanisme de l'autorégulation du débit sanguin cérébral en réponse à l'hypotension ou à l'hypertension impliquant l'ATP. 72

Figure 21 : Schéma des différents mécanismes potentiellement impliqués dans l'autorégulation du débit sanguin cérébral. 76

Figure 22 : Evolution de la courbe d'autorégulation du débit sanguin cérébral au cours de l'hypertension artérielle chronique..... 78

Figure 23 : Schéma de coupes transversales d'artères représentant le remodelage hypertrophique centripète et le remodelage eutrophique centripète au cours de l'hypertension artérielle. 83

Figure 24 : Images de la paroi des artérioles cérébrales de rats normotendus WKY et de rats hypertendus SHRSP obtenues par microscopie électronique. 89

Figure 25 : Principaux déterminants du remodelage hypertrophique centripète des artères de résistance (représentées en coupe transversale) au cours de l'hypertension artérielle chronique. 90

Figure 26 : Schéma représentant les effets de la pose unilatérale d'un clip carotidien sur la pression pulsée et sur la surface de coupe transversale des artérioles cérébrales chez les rats SHRSP. 92

Figure 27 : Schéma d'une fistule artério-veineuse réalisée entre l'aorte et la veine cave et ses effets sur la pression artériolaire cérébrale et la structure des artérioles cérébrales chez les rats WKY. 93

Figure 28 : Schéma de la modulation des facteurs endothéliaux par la pression pulsée artériolaire. 98

Figure 29 : Schéma des différentes hypothèses mécanistiques du remodelage eutrophique centripète. 104

Figure 30 : Schéma de coupes transversales d'artères de résistance montrant les rôles potentiels de l'apoptose et de la prolifération cellulaire dans le développement du remodelage eutrophique centripète au cours de l'hypertension artérielle chronique. 106

Figure 31 : Représentation sur une coupe transversale d'artère de l'augmentation de la distance sur laquelle les cellules musculaires lisses s'enroulent autour du vaisseau (« wrapping distance »). 107

Figure 32 : Représentation de l'organisation et de l'orientation des cellules musculaires lisses de l'artère basilaire chez des rats normotendus et hypertendus. 109

Figure 33 : Schéma du rôle potentiel de la matrice extracellulaire dans le développement du remodelage eutrophique centripète consécutif à une vasoconstriction chronique. 111

Figure 34 : Schéma du rôle potentiel des intégrines dans le développement du remodelage eutrophique centripète. 114

Figure 35 : Schéma du rôle potentiel du stress oxydant et de l'inflammation dans le développement du remodelage eutrophique centripète. 117

Figure 36 : Principaux déterminants du remodelage eutrophique centripète des artérioles cérébrales (représentées en coupe transversale) au cours de l'hypertension artérielle chronique. 119

Figure 37 : Schéma des mécanismes par lesquels l'angiotensine II et l'aldostérone peuvent modifier la composition de la matrice extracellulaire et leur implication dans le développement du remodelage eutrophique centripète. 129

Figure 38 : Représentation des courbes des relations contrainte-déformation obtenues au niveau des artérioles cérébrales désactivées de rats normotendus (WKY) et hypertendus (SHRSP). 137

Figure 39 : Schéma des conséquences du vieillissement sur les caractéristiques structurales et mécaniques des artérioles cérébrales de rats normotendus. ... 145

Figure 40 : Schéma récapitulatif des différents éléments du système rénine angiotensine aldostérone impliqués dans le développement du remodelage eutrophique centripète des artérioles cérébrales chez le rats SHR. 226

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Indices de remodelage eutrophique centripète d'artérioles issues de de différents modèles d'hypertension artérielle présentant ou non une activation du système rénine angiotensine aldostérone. 124

Tableau 2 : Récapitulatif des principaux effets des traitements chroniques utilisés sur le remodelage hypertrophique centripète et le remodelage eutrophique centripète des artérioles cérébrales et sur la limite basse de l'autorégulation du débit sanguin cérébral. 224

LISTE DES ABREVIATIONS

AMPc : adénosine 3',5'-monophosphate cyclique

ATP : adénosine 5'-triphosphate

$\boldsymbol{BK_{ATP}}$: canaux potassiques ATP-dépendant

$\boldsymbol{BK_{Ca}}$: canaux potassiques calcium-dépendant

$\mathbf{[Ca^{2+}]_i}$: concentration intracellulaire en calcium

CGRP : « calcitonin gene-related peptide »

DAG : diacylglycérol

DSC : débit sanguin cérébral

DOCA-salt (rats) : rats rendus hypertendus par un traitement à l'acétate de déoxycorticostérone et un régime hypersalé

ECA : enzyme de conversion de l'angiotensine

EDTA : acide éthylène diamine tétra-acétique

EGF : « Epidermal Growth Factor »

eNOS : isoforme endothéliale de la NO synthase

FAK : « focal adhesion kinase » : kinase des complexes d'adhésion focale

GMPc : guanosine 3',5'-monophosphate cyclique

GTP : guanosine 5'-triphosphate

ICAM-1 : « intercellular cell adhesion molecule-1 »

IEC : inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine

$\mathbf{IP_3}$: inositol-1,4,5-triphosphate

L-NAME : N^{ϖ}-nitro-L-arginine methyl ester

MAPK : « Mitogen Activated Protein Kinase »

MCP-1 : « monocyte chemoattractant protein-1 »

$\mathbf{[Mg^{2+}]_i}$: concentration intracellulaire en magnesium

MMP : « matrix metalloproteinase » : métalloprotéinase matricielle

MR : récepteur des minéralocorticoïdes

$[Na^+]_i$: concentration intracellulaire en sodium

NAD(P)H : nicotinamide adénine dinucléotide (phosphate) sous forme réduite

NF-κB : « nuclear transcription factor kappa B »

NHE : échangeur sodium/proton

NO : oxyde nitrique

NOS : NO synthase

PAI-1 : inhibiteur 1 de l'activateur du plasminogène

PDGF : « Platelet Derived Growth Factor » : facteur de croissance dérivé des plaquettes

PI3K : phosphatidylinositol 3 kinase

PKB : protéine kinase B

PKC : protéine kinase C

PLA_2 : phospholipase A_2

PLC : phospholipase C

PLD : phospholipase D

PTPase : protéine à activité tyrosine phosphatase

RLO : radicaux libres oxygénés

SCT : surface de coupe transversale de la paroi artériolaire

SHR : « spontaneously hypertensive rat » : rat spontanément hypertendu

SHRSP : « spontaneously hypertensive rat stroke prone »

SOD : superoxyde dismutase

STAT : « signal transducers and activators of transcription » : éléments de transduction du signal et d'activation de la transcription

TGF-β : « transforming growth factor-β »

TK : enzymes à activité tyrosine kinase

TNF-α : « tumor necrosis factor-α »

tPA : activateur tissulaire du plasminogène

VCAM-1 : « vascular cell adhesion molecule-1 »

PARTIE 1 : INTRODUCTION BIBLIOGRAPHIQUE

Le système rénine angiotensine aldostérone est un sujet de recherches intensives depuis plus de 100 ans. L'importance de ce système dans la régulation de la pression artérielle est telle que, depuis vingt ans, une grande partie de la thérapeutique de l'hypertension essentielle vise à moduler son activité.

L'apparition des inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (les IEC) dans le début des années 80, puis des antagonistes des récepteurs AT_1 de l'angiotensine II (les sartans) dans les années 90, ont permis d'améliorer très fortement la morbidité et la mortalité liées à diverses pathologies cardiovasculaires comme l'hypertension ou l'insuffisance cardiaque. De même, suite à des études cliniques récentes, les antagonistes de l'aldostérone connaissent un renouveau important dans le traitement de ces mêmes pathologies. Non seulement les IEC et les antagonistes des récepteurs AT_1 sont susceptibles de diminuer efficacement la pression artérielle, mais tous ces médicaments agissant sur le système rénine angiotensine aldostérone sont également capables d'exercer des effets bénéfiques sur les altérations structurales et/ou fonctionnelles de différents organes, comme le cœur ou la paroi des vaisseaux sanguins.

Des études cliniques récentes ont permis de prouver l'efficacité des IEC pour prévenir les accidents vasculaires cérébraux, bien qu'il soit possible que leurs effets bénéfiques puissent n'être dus qu'à leur seule action sur la pression artérielle. Ces études permettent néanmoins de supposer que le système rénine angiotensine aldostérone joue un rôle important au niveau de la circulation cérébrale au cours de l'hypertension artérielle. Dans ce travail de thèse, nous nous intéresserons donc à l'influence du système rénine angiotensine aldostérone sur la circulation cérébrale, et plus particulièrement sur les altérations structurales des artérioles cérébrales et sur les perturbations de l'autorégulation du débit sanguin cérébral (DSC) observées au cours de l'hypertension artérielle chronique.

Dans un premier chapitre, nous ferons de brefs rappels sur la physiologie du système rénine angiotensine aldostérone et ses principaux effecteurs. Ensuite, nous aborderons les caractéristiques anatomiques et fonctionnelles de la circulation cérébrale, en étudiant notamment l'autorégulation du DSC et ses perturbations liées à l'hypertension artérielle. Ensuite, nous nous consacrerons à l'étude des altérations structurales des artérioles cérébrales consécutives à l'hypertension et susceptibles de modifier les capacités d'autorégulation, en mettant l'accent sur le rôle potentiel du système rénine angiotensine aldostérone dans la survenue de ces altérations.

I. LE SYSTEME RENINE ANGIOTENSINE ALDOSTERONE

A côté de ses effets bien connus sur la régulation de la pression artérielle, le système rénine angiotensine aldostérone est également impliqué dans de nombreux processus physiologiques concernant divers organes, tels que le cerveau, le foie, le pancréas, la moëlle osseuse ou les tissus adipeux (Lucius, *et al.*, 1999 ; Leung, 2004). Si la régulation de la pression artérielle est liée au système rénine angiotensine aldostérone plasmatique et plus particulièrement à ses effets sur la physiologie du rein (Guyton, 1991), les nombreuses autres fonctions exercées par ce système seraient essentiellement dues à une production locale ou tissulaire d'angiotensine II et d'aldostérone. Cette production autocrine ou paracrine pourrait par ailleurs être impliquée dans divers processus physiopathologiques, tels que l'hypertension ou le remodelage cardiaque ou vasculaire (Weir et Dzau, 1999).

Dans ce chapitre, nous aborderons succinctement la physiologie du système rénine angiotensine aldostérone, en rappelant son rôle dans la régulation de la pression artérielle puis en étudiant les différentes voies de production des principaux effecteurs de ce système. Nous décrirons ensuite les principaux récepteurs de ces effecteurs, puis nous focaliserons notre attention sur le rôle du système tissulaire vasculaire dans l'hypertension artérielle chronique.

1. Physiologie du système rénine angiotensine aldostérone

Les deux principaux effecteurs du système rénine angiotensine aldostérone sont l'angiotensine II et l'aldostérone. Ces deux hormones peuvent être produites soit de façon systémique (sécrétion de ces hormones dans le plasma sanguin pour une action de type endocrine), soit de façon locale (production et libération de ces hormones au niveau tissulaire pour une action de type paracrine ou autocrine).

1.1. Production systémique et régulation de la pression artérielle

Le système rénine angiotensine aldostérone, *via* l'angiotensine II et l'aldostérone, constitue l'un des principaux mécanismes de régulation de la pression artérielle aussi bien à court qu'à moyen et long terme. Physiologiquement, la stimulation de ce système rénine angiotensine aldostérone est déclenché par une baisse de la pression artérielle systémique et son activation entraîne une élévation de la pression artérielle.

Une diminution effective de la pression artérielle au niveau rénal va entraîner une sécrétion accrue de rénine par la macula densa de l'appareil juxta-glomérulaire suite à une stimulation du système sympathique. Cette hormone, une aspartyl-protéase, libérée dans la circulation va catalyser la dégradation de l'angiotensinogène, une α2-globuline sécrétée par le foie. Cette hydrolyse va donner naissance à l'angiotensine I, peptide de 10 acides aminés (Figure 1) (Weir et Dzau, 1999). Lors de son passage dans la circulation pulmonaire, cette angiotensine I plasmatique subit l'action de l'ECA (enzyme de conversion de l'angiotensine), une carboxypeptidase localisée à la surface de l'endothélium vasculaire, et particulièrement abondante au niveau des poumons (Skeggs, *et al.*, 1967 ; Touyz et Schiffrin, 2000). Cette enzyme de conversion va alors prendre en charge l'angiotensine I pour la transformer en angiotensine II en lui ôtant deux acides aminés (Figure 1) (Weir et Dzau, 1999).

L'angiotensine II ainsi produite exerce plusieurs actions qui participent à la régulation de la pression artérielle à court comme à long terme. Tout d'abord, l'angiotensine II exerce une action directe et immédiate sur les cellules musculaires lisses de la paroi artérielle. Cette hormone induit en effet une vasoconstriction directe des vaisseaux (l'angiotensine II est un des plus puissants vasoconstricteurs connus). Cette vasoconstriction entraîne une augmentation des résistances périphériques et donc une augmentation de la pression artérielle (Guyton, 1991). Cet effet de l'angiotensine II sur la vasoconstriction contribue à la régulation à court terme de la pression artérielle.

La deuxième voie par laquelle l'angiotensine II augmente la pression artérielle est son action sur la physiologie rénale. L'angiotensine II entraîne une diminution de l'excrétion d'eau et de sodium. Ce contrôle de la volémie par l'angiotensine II intervient dans la régulation à long terme de la pression artérielle et s'avère plus puissante que l'action vasoconstrictrice pour ramener la pression artérielle à des valeurs normales (Guyton, 1991).

L'angiotensine II induit la rétention d'eau et de sodium au niveau rénal par deux mécanismes : une action directe sur le rein et une augmentation de la sécrétion d'aldostérone. Tout d'abord, l'angiotensine II induit des modifications hémodynamiques au niveau des glomérules, notamment par la vasoconstriction qu'elle provoque au niveau des artérioles efférentes post-glomérulaires. Cette vasoconstriction diminue le débit sanguin et donc la filtration glomérulaire (Guyton, 1991). Par ailleurs, ce faible débit sanguin au niveau des capillaires péritubulaires favorise la réabsorption osmotique de fluide depuis les tubules (Guyton, 1991). De plus, l'angiotensine II induit directement au niveau des cellules tubulaires une réabsorption de sodium et d'eau (Guyton, 1991). Toutes ces actions combinées diminuent fortement la production d'urine et ont pour conséquence une augmentation de la volémie et donc de la pression artérielle. Enfin, l'angiotensine II peut également augmenter la production d'aldostérone, hormone minéralocorticoïde, par la zone glomérulée de la glande corticosurrénale (Weir et Dzau, 1999 ; Touyz et Schiffrin, 2000). Cette libération d'aldostérone participe à la régulation à long terme de la pression artérielle puisqu'elle induit la réabsorption rénale du sodium et de l'eau au niveau du tubule distal (d'où, là encore, une diminution de la diurèse et une augmentation de la pression artérielle).

A côté de ses effets directs ou indirects sur la physiologie rénale, l'angiotensine II peut contribuer à l'augmentation de la pression artérielle en modifiant le profil de sécrétion d'autres hormones. L'angiotensine II va par exemple stimuler la libération des catécholamines par le système sympathique et par la glande médullosurrénale, ce qui aura pour conséquence d'accroître la contractilité du myocarde et participera à l'augmentation de la pression artérielle (Weir et Dzau, 1999).

L'angiotensine II est dégradée par diverses protéases en fragments actifs ou non (Figure 1), tels que l'angiotensine III (angio-[2-8]) ou l'angiotensine IV (angio-[3-8]) produites par des aminopeptidases, ou encore l'angiotensine [1-7] (Weir et Dzau, 1999).

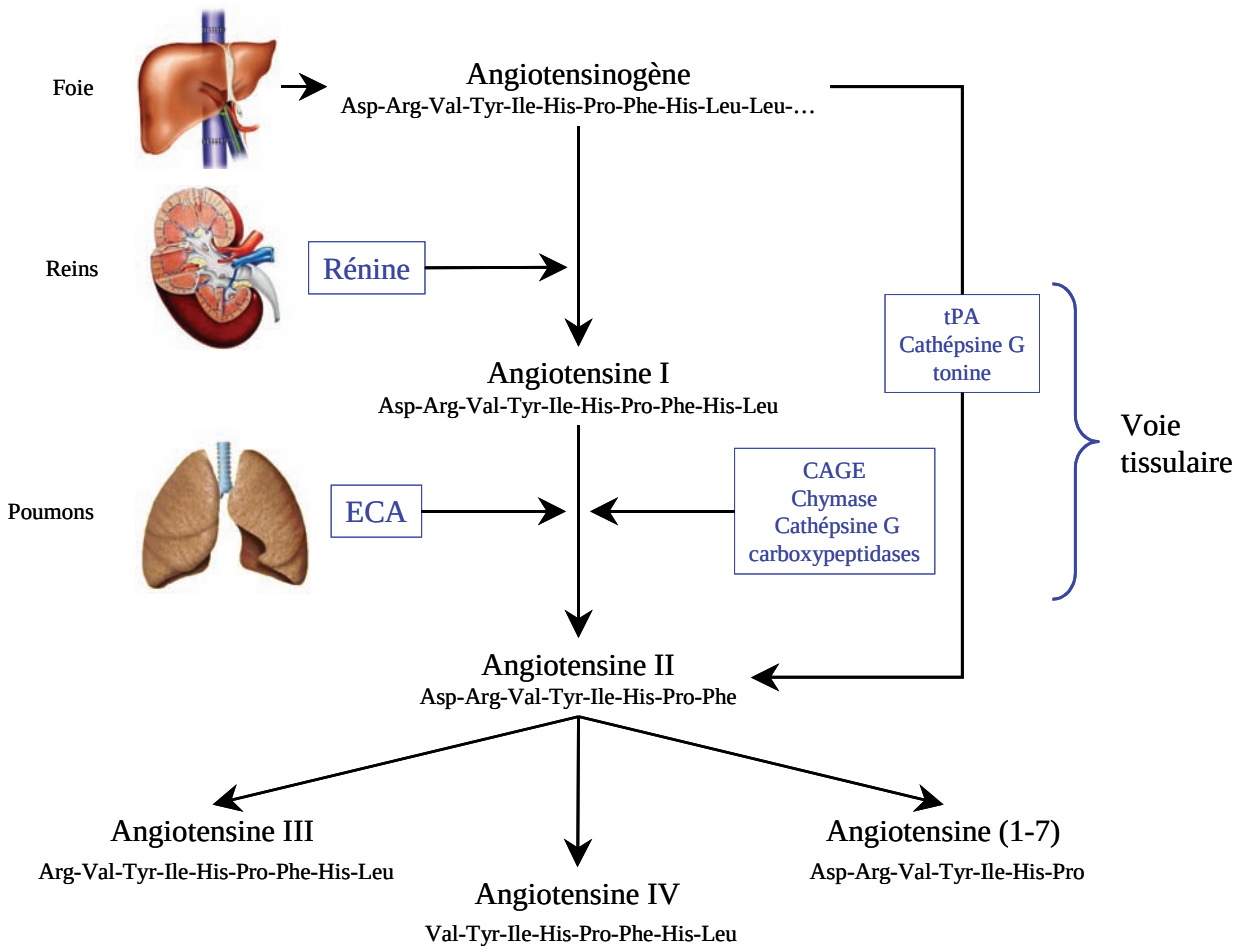


Figure 1 : Les différentes voies de synthèse et de dégradation de l'angiotensine II. ECA : enzyme de conversion de l'angiotensine ; tPA : activateur tissulaire du plasminogène ; CAGE : « Chymostatin-sensitive Angiotensin II Generating Enzyme » : enzyme de génération de l'angiotensine II sensible à la chymostatine. D'après Touyz et Schiffrin, 2000.

1.2. Système rénine angiotensine aldostérone tissulaire

De nombreux tissus tels que les vaisseaux, le cerveau, le foie ou le pancréas présentent un système rénine angiotensine aldostérone tissulaire (Leung, 2004). Ce système autocrine ou paracrine contribuerait aux nombreuses fonctions physiologiques de l'angiotensine II et de l'aldostérone, et serait impliqué dans diverses pathologies, notamment cardiovasculaires (Weir et Dzau, 1999). Dans ce chapitre, nous nous intéresserons plus particulièrement aux productions tissulaires d'angiotensine II et d'aldostérone au niveau de la paroi des vaisseaux.

1.2.1. Production tissulaire d'angiotensine II

De nombreux éléments du système rénine angiotensine aldostérone sont exprimés localement au niveau de la paroi artérielle. Ainsi, l'ECA est retrouvée en forte concentration au niveau de l'adventice ou dans des cellules musculaires lisses ou endothéliales en culture (Dzau, 1989 ; Ekker, *et al.*, 1989). De même, l'ARN codant pour l'angiotensinogène ainsi que la protéine elle-même ont pu être mis en évidence dans les cellules musculaires lisses et endothéliales (Naftilan, *et al.*, 1991 ; Morgan, *et al.*, 1996). La production de rénine par les tissus constitutifs de la paroi artérielle est plus controversée. Une activité enzymatique semblable à celle de la rénine a effectivement été démontrée au niveau de la paroi artérielle mais l'origine de cette activité n'est pas clairement identifiée. Ainsi, une captation de la rénine plasmatique par la paroi artérielle a pu être mise en évidence (Swales et Samani, 1989) et certains auteurs pensent que la conversion locale de l'angiotensinogène en angiotensine I au niveau de la paroi artérielle pourrait être dépendante de cette captation de la rénine plasmatique (Touyz et Schiffrin, 2000). Cependant, la synthèse locale de quantités biologiquement significatives de rénine ne peut pas être exclue (Swales et Samani, 1989). Il a par exemple été démontré que la rénine est produite dans d'autres tissus que le rein, notamment au niveau du cerveau, du foie, de la rate ou du thymus (Ekker, *et al.*, 1989), et la présence d'ARN codant pour la rénine a également pu être mise en évidence au niveau de la paroi artérielle (Swales et Samani, 1989).

A côté de cette voie de production de l'angiotensine II dépendante de l'ECA, des voies annexes dépendantes d'autres enzymes peuvent intervenir dans la synthèse de cette hormone (Figure 1). Un système comparable à celui dépendant de la rénine (système « renin-like ») permettrait la conversion directe de l'angiotensinogène en angiotensine II, par l'action catalytique de diverses enzymes, telles que l'activateur tissulaire du plasminogène (tPA), la cathépsine G ou la tonine (Weir et Dzau, 1999). D'autres enzymes peuvent assurer la conversion de l'angiotensine I en angiotensine II : il s'agit notamment de l'enzyme de génération de l'angiotensine II sensible à la chymostatine (CAGE, « Chymostatin-sensitive Angiotensin II Generating Enzyme »), de la chymase (« Chymotrypsin-like serine protease »), de la cathépsine G ou d'autres carboxypeptidases (Weir et Dzau, 1999 ; Touyz et Schiffrin, 2000).

1.2.2. Production tissulaire d'aldostérone

De même que pour l'angiotensine II, il existe, en dehors de sa synthèse par la glande surrénale, une voie de production tissulaire pour l'aldostérone.

Les cellules endothéliales et les cellules musculaires lisses semblent capables de produire de l'aldostérone. En effet, la présence de l'ARNm du gène CYP11B2 codant pour l'aldostérone synthase a pu être mise en évidence dans des cellules musculaires lisses et endothéliales issues d'artères pulmonaires humaines, suggérant que ces cellules sont capables de synthétiser l'aldostérone (Hatakeyama, *et al.*, 1994). De plus, l'expression de ce gène CYP11B2 est augmentée dans les cellules musculaires lisses en présence d'angiotensine II (Hatakeyama, *et al.*, 1994). Ainsi, l'angiotensine II, qu'elle soit plasmatique ou générée localement au niveau de la paroi artérielle, pourrait augmenter la production tissulaire d'aldostérone. Ces résultats ont été confirmés au niveau des artères mésentériques de rats (Takeda, *et al.*, 1995a).

Cette production locale d'aldostérone a également été rapportée au niveau des artères mésentériques (Takeda, *et al.*, 1995b). Dans cette étude, des artères mésentériques ont été perfusées *ex vivo*, et la présence d'aldostérone a pu être détectée dans le perfusat (Takeda, *et al.*, 1995a). Une ablation préalable des glandes surrénales ne modifie pas la quantité d'aldostérone récupérée dans le perfusat, tandis qu'un prétraitement des rats par un IEC la diminue (Takeda, *et al.*, 1995a). Ceci confirme que l'aldostérone est bien produite au niveau de la paroi artérielle et suggère que l'angiotensine II régule cette production. Par ailleurs, cette production d'aldostérone est également associée à l'expression du gène CYP11B2 dans les cellules musculaires lisses et endothéliales de ces artères (Takeda, *et al.*, 1995a).

Ces voies de synthèse alternatives et tissulaires d'angiotensine II et d'aldostérone pourraient revêtir une importance capitale dans les processus de remodelage vasculaire, comme nous le verrons dans le chapitre correspondant (cf. PARTIE 1 : III.).

2. Les principaux récepteurs du système rénine angiotensine aldostérone

2.1. Récepteurs de l'angiotensine II

Plusieurs types de récepteurs membranaires de l'angiotensine II ont été identifiés (Figure 2). Parmi ceux-ci, les deux principaux sont les récepteurs AT_1 et AT_2. Ces deux sous-types de récepteurs à haute affinité ont été clonés et caractérisés pharmacologiquement (Murphy, *et al.*, 1991 ; Mukoyama, *et al.*, 1993). Un autre récepteur, AT_3, n'a été mis en évidence qu'au niveau de certaines lignées cellulaires et a pour ligand principal l'angiotensine II (Chaki et Inagami, 1992). Enfin, le récepteur AT_4 a pour ligand l'angiotensine IV et a été mis en évidence au niveau de différents organes comme le cœur, le rein, les poumons ou encore le cerveau (Swanson, *et al.*, 1992). Les fonctions et la caractérisation pharmacologique de ces récepteurs AT_3 et AT_4 n'ont encore pas été totalement élucidées : en effet, les antagonistes des récepteurs AT_1 et/ou AT_2 ne se fixent pas sur ces récepteurs (Touyz et Schiffrin, 2000). Dans ce chapitre, nous nous intéresserons donc uniquement aux deux principaux récepteurs de l'angiotensine II, les récepteurs AT_1 et les récepteurs AT_2.

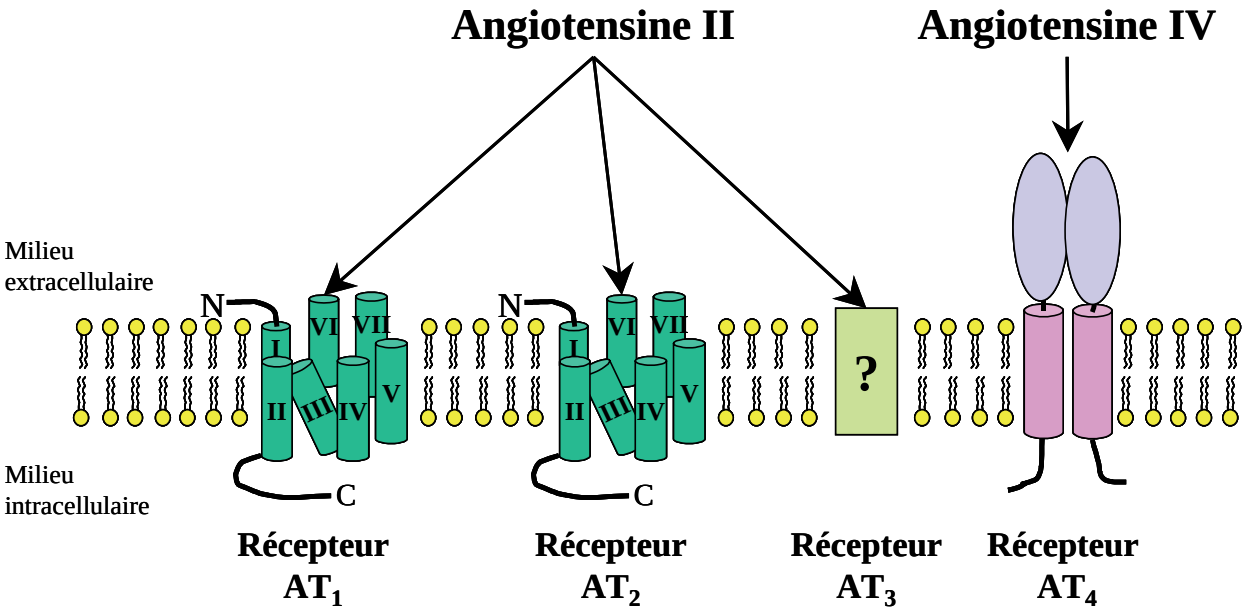


Figure 2 : Les différents récepteurs de l'angiotensine II. D'après Vauquelin, *et al.*, 2002. ? : structure non définie.

2.1.1. Récepteurs AT_1 de l'angiotensine II

Généralités

La plupart des activités physiologiques connues de l'angiotensine II sont attribuées à sa fixation sur les récepteurs AT_1 (vasoconstriction, réabsorption de sodium, libération d'aldostérone,…) (Touyz et Schiffrin, 2000). De nombreuses études ont ainsi démontré l'implication de ces récepteurs AT_1 dans les phénomènes de régulation de la pression artérielle. Chez l'homme, il existe un seul type de récepteur AT_1, tandis que deux sous-types ont été décrits chez les rongeurs : les AT_{1A} et les AT_{1B} (Iwai et Inagami, 1992). Ces deux sous-types sont issus de gènes distincts, mais présentent une homologie de séquence de plus de 90 %, les acides aminés différents se retrouvant essentiellement au niveau carboxy-terminal (Iwai et Inagami, 1992). Les AT_{1A} sont prédominants dans la plupart des tissus, exceptions faites des glandes surrénales et de l'hypophyse antérieure, où les AT_{1B} sont majoritaires (Iwai et Inagami, 1992).

Le gène codant pour le récepteur AT_{1A} a pu être inactivé chez la souris (Ito, *et al.*, 1995). On a pu alors observer chez ces animaux transgéniques l'absence de réponse hypertensive à une injection d'angiotensine II, normalement constatée chez les souches sauvages (Ito, *et al.*, 1995). De plus, la pression artérielle systémique est nettement diminuée chez les souris mutées homozygotes (Ito, *et al.*, 1995). Ces résultats montrent que les récepteurs AT_{1A} sont responsables de la réponse hémodynamique à l'angiotensine II et sont impliqués dans la régulation physiologique de la pression artérielle. D'autre part, de telles souris mutantes excrètent plus de sodium que les souches sauvages en cas de régime hyposodé, malgré une sécrétion accrue d'aldostérone (Oliverio, *et al.*, 2000). Cette étude démontre l'implication des récepteurs AT_{1A} au niveau de la réabsorption rénale du sodium (Oliverio, *et al.*, 2000).

Une autre étude portant sur ces mêmes souris déficientes en récepteur AT_{1A} a toutefois permis de montrer que les récepteurs AT_{1B} jouent également un rôle dans la régulation de la pression artérielle (Oliverio, *et al.*, 1997). Les souris invalidées pour le gène codant pour le récepteur AT_{1A} présentent une augmentation importante de l'expression de la rénine (Sugaya, *et al.*, 1995 ; Oliverio, *et al.*, 1997). Un prétraitement par un IEC est donc nécessaire pour pouvoir mettre en évidence les effets d'un apport exogène en angiotensine II chez ces souris mutantes. Un tel prétraitement a permis de montrer que l'angiotensine II induit une

augmentation de la pression artérielle chez ces souris mutantes (Oliverio, *et al.*, 1997). De même, les récepteurs AT_{1B} semblent exercer un rôle dans la régulation de la pression artérielle, puisqu'un traitement par un antagoniste des récepteurs AT_1 diminue la pression artérielle de ces souris mutantes prétraitées par IEC (Oliverio, *et al.*, 1997). Les récepteurs AT_{1B} sont également impliqués dans la vasoconstriction induite par l'angiotensine II, notamment au niveau de l'aorte abdominale et de l'artère fémorale (Zhou, *et al.*, 2003).

Globalement, il semble que d'un point de vue fonctionnel l'absence de l'un de ces sous-types de récepteurs AT_1 puisse être compensée par la présence de l'autre sous-type. En effet, les souris mutantes invalidées pour le gène codant pour le récepteur AT_{1A} ou pour le gène codant pour le récepteur AT_{1B} sont bien portantes et ne présentent pas d'anomalies particulières, contrairement à d'autres souris mutantes déficientes en angiotensinogène ou en enzyme de conversion (Oliverio, *et al.*, 1998). En revanche, les souris invalidées pour ces deux sous-types de récepteurs présentent une forte mortalité périnatale et des anomalies importantes notamment au niveau rénal, comparables aux souris déficientes en angiotensinogène ou en enzyme de conversion (Oliverio, *et al.*, 1998).

Ainsi, malgré certaines singularités, aucune différence majeure dans leurs propriétés n'a pu être mise en évidence à l'heure actuelle entre les récepteurs AT_{1A} et les récepteurs AT_{1B}. Ces deux sous-types de récepteurs AT_1 activent les mêmes voies de signalisation intracellulaire, par ailleurs nombreuses et complexes. Comme nous allons le voir, cette signalisation intracellulaire consécutive à la fixation de l'angiotensine II sur les récepteurs AT_{1A} ou AT_{1B} modifie les activités de la cellule et peut conduire à l'hypertrophie, à la prolifération, et à la migration cellulaire, phénomènes potentiellement impliqués dans les modifications struturales des vaisseaux observées au cours de l'hypertension.

Voies de transduction intracellulaire

Les récepteurs AT_1 (AT_{1A} et AT_{1B}) appartiennent à la super-famille des récepteurs cellulaires couplés aux protéines G hétérotrimériques et présentent donc sept domaines transmembranaires, la partie carboxy-terminale étant située dans le compartiment intra-cellulaire (Figure 2) (Murphy, *et al.*, 1991). Ces récepteurs AT_1 sont couplés à des processus de signalisation intracellulaire multiples et complexes pouvant conduire à des réponses biologiques variées. Les voies de signalisation que nous allons décrire dans ce chapitre sont communes aux deux sous-types de récepteurs AT_{1A} et AT_{1B}. La réponse cellulaire à une

stimulation des récepteurs AT_1 peut être divisée chronologiquement en 3 types d'évènements : les évènements immédiats (dans les secondes qui suivent la stimulation), les évènements précoces (dans les minutes qui suivent la stimulation) et les évènements tardifs (dans les heures qui suivent la stimulation) (Touyz et Schiffrin, 2000).

Evènements immédiats (de l'ordre de la seconde)

Lés évènements immédiats consécutifs à une stimulation des récepteurs AT_1 impliquent 1) l'activation de la phospholipase C (PLC) 2) une augmentation de la concentration intracellulaire en calcium ($[Ca^{2+}]_i$) 3) une activation de la protéine kinase C (PKC) 4) une modification du pH intracellulaire (pH_i) 5) une modification des concentrations intracellulaires en sodium ($[Na^+]_i$) et magnesium ($[Mg^{2+}]_i$) 6) une activation des kinases de la famille Src (Touyz et Schiffrin, 2000).

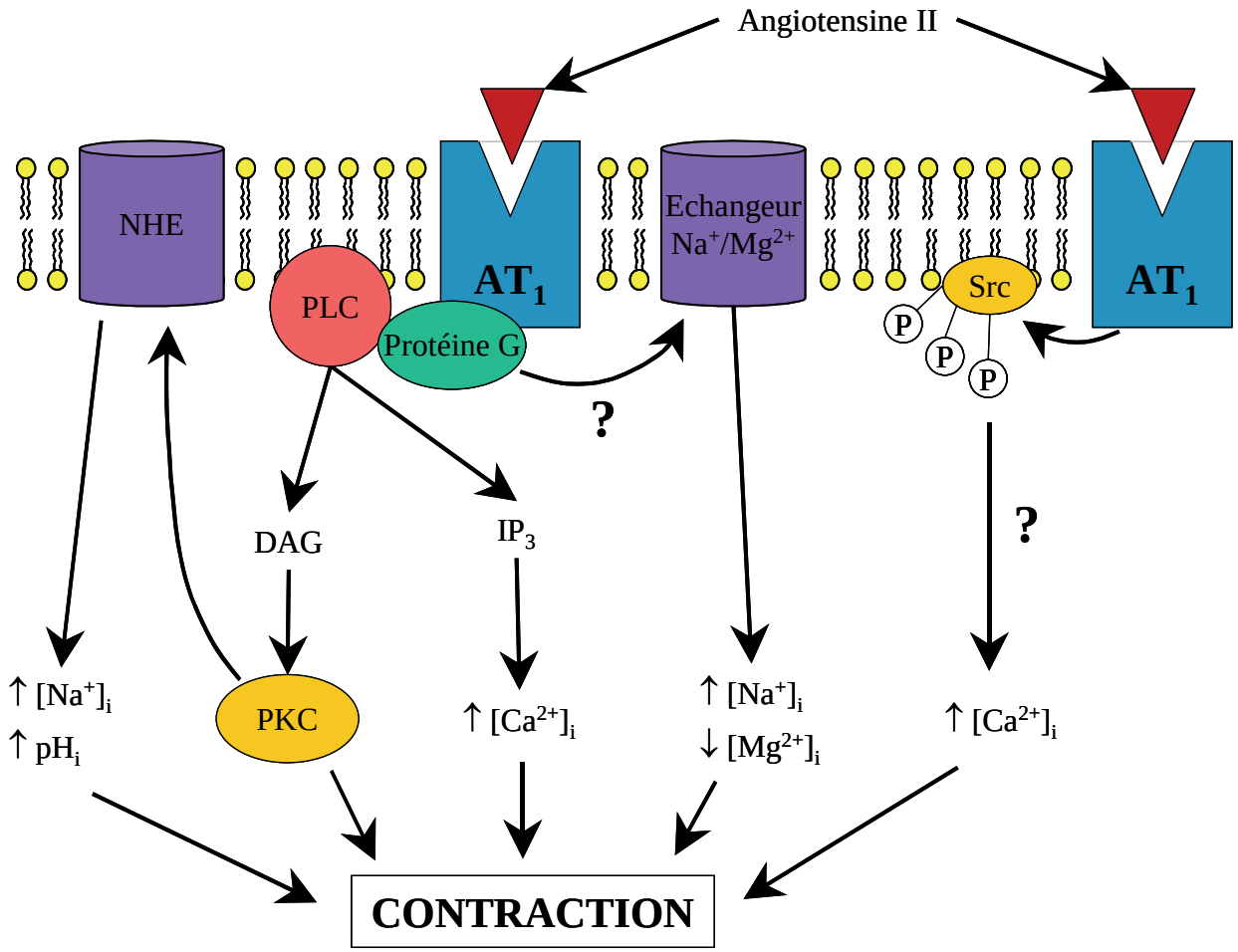


Figure 3 : Voies de transduction intracellulaire activées immédiatement lors de la stimulation des récepteurs AT_1 par l'angiotensine II. PLC : phospholipase C ; DAG : diacylglycérol ; IP_3 : inositol-1,4,5-triphosphate ; PKC: protéine kinase C ; NHE : échangeur sodium/proton. D'après Touyz et Schiffrin, 2000.

L'angiotensine II induit la formation rapide d'IP_3 (inositol-1,4,5-triphosphate) et de DAG (diacylglycérol) à partir du phosphatidyl-inositol-4,5-diphosphate membranaire par un mécanisme dépendant de la PLC (Alexander, *et al.*, 1985 ; Griendling, *et al.*, 1986) (Figure 3). Cette PLC est notamment activée par les sous-unités βγ des protéines G hétérotrimériques libérées après la fixation de l'angiotensine II sur le récepteur AT_1.

L'élévation transitoire de la concentration en IP_3 induite par l'angiotensine II précède une augmentation biphasique du calcium intracellulaire. Cette augmentation de $[Ca^{2+}]_i$ présente en effet une phase transitoire rapide suivie d'une phase prolongée (ou plateau). L'élévation transitoire rapide de $[Ca^{2+}]_i$ est générée par une mobilisation du calcium intracellulaire induite par l'IP_3 (Touyz et Schiffrin, 1997) et correspond, chronologiquement, à l'initiation de la contraction des cellules musculaires lisses (par phosphorylation de la chaîne légère de la myosine, activée par le complexe Ca^{2+}/calmoduline) (Figure 3). La deuxième phase de l'augmentation de $[Ca^{2+}]_i$ semble contribuer à la vasoconstriction prolongée induite par l'angiotensine II. Ce plateau semble dû, non plus à la mobilisation du calcium intracellulaire, mais à un flux transmembranaire de calcium, provoquant une entrée massive du calcium extracellulaire dans le cytoplasme (Ruan et Arendshorst, 1996). Les mécanismes de cette entrée de calcium extracellulaire ne sont pas encore élucidés, mais pourraient faire intervenir différents types de canaux calciques (voltage dépendants, échangeurs Na^+/Ca^{2+}, etc…) (Touyz et Schiffrin, 2000).

Le DAG produit par la PLC, de même que le calcium, permettent l'activation de la PKC (Figure 3). La PKC cytosolique, une fois activée, va assurer la phosphorylation de protéines spécifiques impliquées notamment dans la contraction ou la croissance des cellules musculaires lisses vasculaires (Rasmussen, *et al.*, 1987). Ces effets de la PKC passent notamment par une activation de la NHE (échangeur sodium/proton) (Figure 3) et par une phosphorylation de diverses tyrosine kinases, notamment celles de la famille Src.

L'angiotensine II induit une modification biphasique du pH intracellulaire avec une acidification rapide et transitoire, suivie d'une alcalinisation prolongée. L'alcalinisation de la cellule est due à l'activation de la NHE qui provoque une sortie de protons et une entrée de sodium (Berk, *et al.*, 1987). Cette NHE peut être activée par la PKC, comme nous venons de le voir (Figure 3), mais également par des voies indépendantes de la PKC (Berk, *et al.*, 1987). Parallèlement à ces augmentations de pH_i et de $[Na^+]_i$ résultant de l'activation de la NHE, la $[Mg^{2+}]_i$ diminue de façon dose-dépendante avec l'angiotensine II (Touyz et Schiffrin, 1999).

Les mécanismes de cette diminution de $[Mg^{2+}]_i$ ne sont pas encore élucidés mais pourraient faire intervenir un échangeur Na^+/Mg^{2+} (Touyz et Schiffrin, 2000) (Figure 3). Les variations des concentrations ioniques en H^+, Na^+ et Mg^{2+} sont un élément important de la réponse contractile des cellules musculaires lisses à l'angiotensine II puisqu'elles augmentent la sensibilité de l'appareil contractile au calcium (Carr, *et al.*, 1995) ou peuvent moduler la $[Ca^{2+}]_i$ (Touyz et Schiffrin, 2000).

Enfin, la stimulation des récepteurs AT_1 induit une phosphorylation de certaines protéines de la famille Src, notamment la c-Src dans les 60 secondes suivant la stimulation (Ishida, *et al.*, 1995) (Figure 3). Les protéines de la famille Src sont classiquement activées par les récepteurs membranaires à activité tyrosine kinase, mais peuvent également être activées par des récepteurs couplés aux protéines G, tels que le récepteur AT_1 (Touyz et Schiffrin, 2000). L'activation des protéines Src va induire la phosphorylation, et donc l'activation, de diverses protéines telles que la PLC-γ, ce qui va accroître la formation d'IP_3, et d'autres protéines impliquées dans les réponses précoces et/ou tardives (ERKs, Jak2, STAT-1,…) (Touyz et Schiffrin, 2000). Il a par ailleurs été démontré que les modifications de $[Ca^{2+}]_i$ induites par l'angiotensine II résultent en partie d'un mécanisme dépendant de la Src (Touyz et Schiffrin, 2000).

Evènements précoces (de l'ordre de la minute)

Les évènements précoces suivant la stimulation des récepteurs AT_1 par l'angiotensine II se manifestent dans les minutes qui suivent la fixation du ligand sur son récepteur. Ces évènements précoces sont à l'origine de différents processus de régulation à long terme de l'activité des cellules musculaires lisses vasculaires comme la croissance, la migration, la production de facteurs de croissance ou le dépôt de matrice extracellulaire (Touyz et Berry, 2002). Ces évènements précoces incluent 1) une phosphorylation d'enzymes à activité tyrosine kinase (TK), 2) une activation des MAPK (« Mitogen Activated Protein Kinase »), 3) une activation de la phospholipase A_2 (PLA_2) et du métabolisme de l'acide arachidonique, 4) une activation de la phospholipase D (PLD) et 5) une activation des protéines de la famille Rho (Figure 4) (Touyz et Schiffrin, 2000).

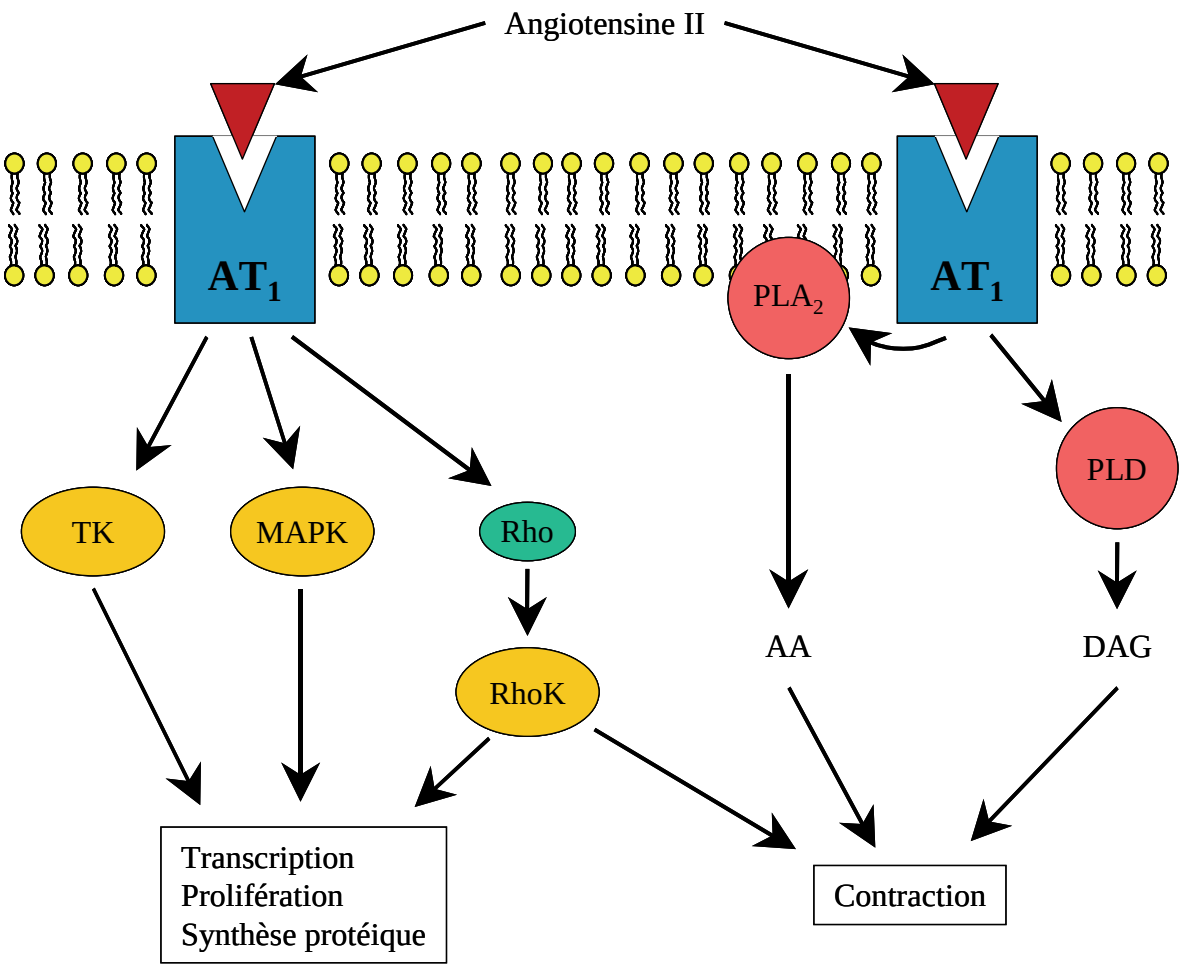


Figure 4 : Voies de transduction intracellulaire activées précocement lors de la stimulation des récepteurs AT_1 par l'angiotensine II. TK : enzymes à activité tyrosine kinase ; MAPK : « mitogen activated protein kinase » ; Rho : petites protéines G monomériques de la famille Rho ; RhoK : Rho kinase ; PLA_2 : phospholipase A_2 ; AA : acide arachidonique ; PLD : phospholipase D ; DAG : diacylglycérol. D'après Touyz et Berry, 2002.

Tout d'abord, la fixation de l'angiotensine II sur son récepteur AT_1 stimule la phosphorylation des résidus tyrosyls de nombreuses TK. Ainsi, le récepteur AT_1 induit une phosphorylation des kinases de la famille Janus, les JAK (notamment les protéines Jak2 et Tyk2) dans les 5 minutes suivant sa stimulation par l'angiotensine II (Marrero, *et al.*, 1995a ; Marrero, *et al.*, 1995b) (Figure 5). Ces protéines JAK vont elles-mêmes phosphoryler et activer les protéines de la famille STAT (« signal transducers and activators of transcription » : éléments de transduction du signal et d'activation de la transcription), qui passent alors dans le noyau où elles activent la transcription de leurs gènes cibles (Marrero, *et al.*, 1995a ; Marrero, *et al.*, 1995b) (Figure 5). Cette voie de signalisation JAK-STAT jouerait un rôle dans la prolifération cellulaire et dans l'hypertrophie et le remodelage cardiovasculaire

(Touyz et Schiffrin, 2000). Le récepteur AT_1 induit également la phosphorylation de protéines de la famille FAK (« focal adhesion kinase » : kinase des complexes d'adhésion focale) par un mécanisme encore non élucidé (Touyz et Berry, 2002) (Figure 5). Ces FAK font partie de structures moléculaires complexes, les sites d'adhésion focale, et assurent notamment un lien entre les intégrines et le cytosquelette. Cette activation des FAK par le récepteur AT_1 pourrait donc jouer un rôle dans la migration et dans les changements de forme et de volume des cellules musculaires lisses (Touyz et Schiffrin, 2000). Le récepteur AT_1 induit également la phosphorylation de la protéine $p130^{Cas}$, une autre protéine jouant un rôle important dans les complexes d'adhésion focale (Touyz et Schiffrin, 2000) (Figure 5). Bien que l'importance fonctionnelle de cette activation de la $p130^{Cas}$ par l'angiotensine II ne soit pas encore clarifiée, elle pourrait jouer un rôle dans l'expression de l'α-actine, et dans les processus de prolifération, d'adhésion et de migration (Touyz et Schiffrin, 2000). Enfin, le récepteur AT_1 active les protéines de la famille des PI3K (phosphatidylinositol 3 kinase) (Figure 5), enzymes qui assurent la phosphorylation des lipides contenant un cycle inositol. Là encore, le rôle exact de cette activation des PI3K par l'angiotensine II n'est pas encore élucidé, mais elle pourrait contrôler l'équilibre entre activité proliférative et activité apoptotique (Touyz et Berry, 2002).

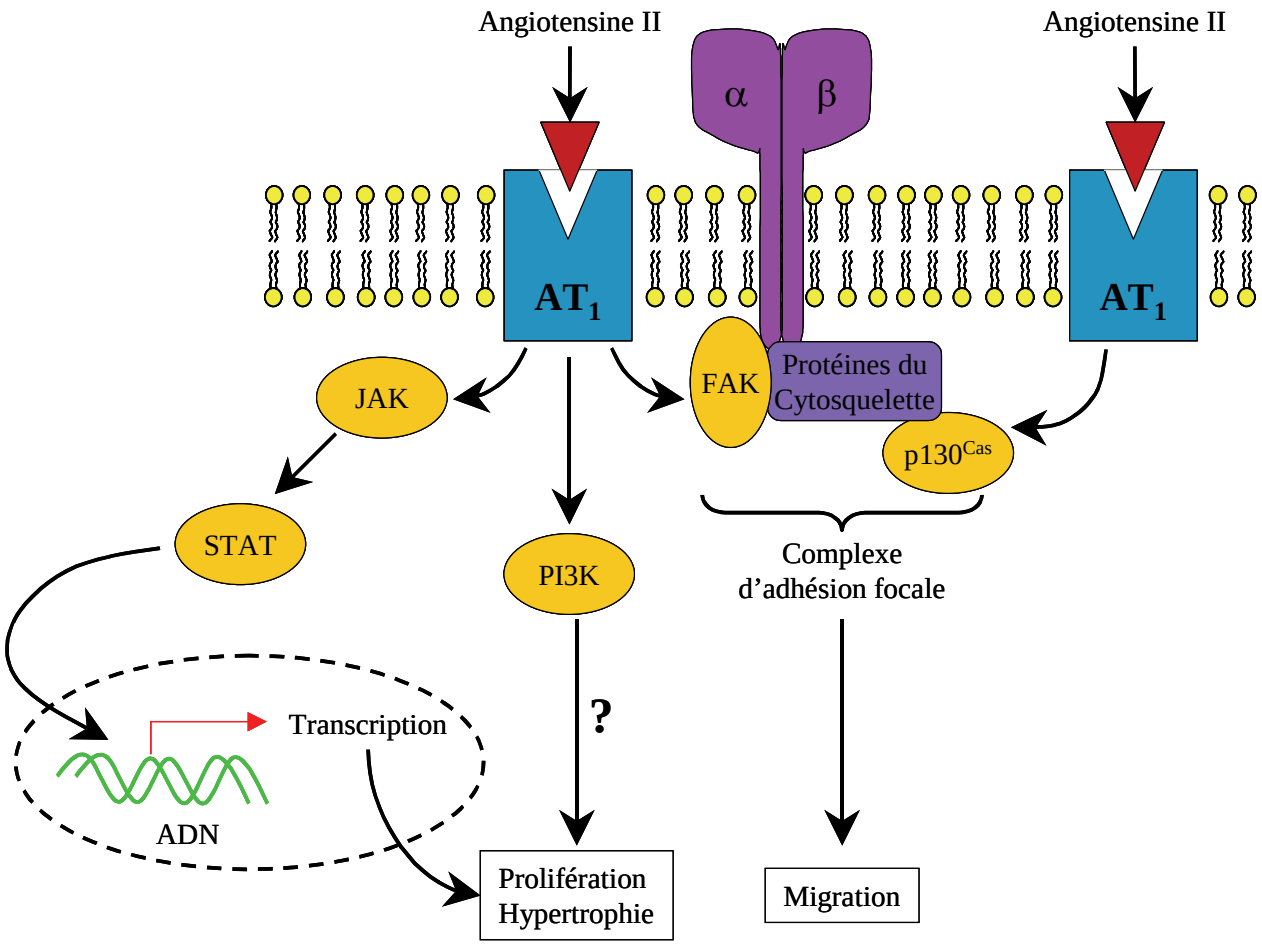


Figure 5 : Schéma de l'activation des protéines à activité tyrosine kinase suite à la stimulation des récepteurs AT_1 par l'angiotensine II. JAK : protéines kinases de la famille Janus ; STAT : éléments de transduction du signal et d'activation de la transcription (« signal transducers and activators of transcription ») ; PI3K : phosphatidylinositol 3 kinase ; αβ : intégrines ; FAK : kinases des complexes d'adhésion focale (« focal adhesion kinases »).

Les évènements précoces liés à l'activation du récepteur AT_1 impliquent également une activation des MAPK. L'angiotensine II active notamment 3 des principales protéines de cette famille des MAPK : les ERK1/2, les JNKs et la p38-MAPK (Touyz et Berry, 2002). L'activation de ces MAPK par l'angiotensine II fait suite à une cascade enzymatique assez complexe et détaillée dans de nombreuses publications (Figure 6) (Touyz et Schiffrin, 2000 ; Touyz et Berry, 2002). L'activation de la protéine Src serait à l'origine de cette cascade. La Src induirait la phosphorylation de la protéine Shc. Cette dernière reconnaît alors le domaine SH2 de la protéine adaptatrice Grb2. Grb2 peut alors se complexer avec la protéine Sos et le complexe Shc-Grb2-Sos est alors susceptible d'échanger la molécule de GDP liée à la petite protéine G monomérique $p21^{ras}$ (ou Ras) contre une molécule de GTP (guanosine 5'-

triphosphate) (Figure 6). Cette protéine Ras ainsi activée va elle-même se lier et activer une autre protéine, la protéine Raf. Cette protéine Raf est également appelée MAPKKK (MAPK kinase kinase). S'en suit alors une cascade de phosphorylation : Raf induit la phosphorylation des protéines MEK1 et MEK2 (également appelées MAPKK (MAPK kinase)) qui elles-mêmes vont assurer la phosphorylation des MAPK (ERK1, ERK2, JNKs et p38-MAPK) (Figure 6). L'activation des MAPK par l'angiotensine II présente un pic entre 3 et 5 minutes après la stimulation des récepteurs AT_1 et reste relativement élevée pendant plus de 60 minutes (Eguchi, *et al.*, 1996). Les MAPK, une fois activées, vont phosphoryler de nombreuses protéines impliquées dans la régulation du cycle cellulaire, comme des facteurs de transcription ou des protéines du cytosquelette, mais sont également impliquées dans les phénomènes de contraction musculaire (Touyz et Berry, 2002). L'activation des ERKs induit notamment une augmentation de l'expression des gènes c-*fos*, c-*jun* et c-*myc*, une augmentation de la synthèse d'ADN, une prolifération et une croissance cellulaire (Touyz et Berry, 2002). L'activation des JNKs semblent avoir des effets opposés puisqu'inhibant le cycle cellulaire (Touyz et Berry, 2002). L'activation de la p38-MAPK joue un rôle important dans les réponses inflammatoires, l'apoptose et l'inhibition de la croissance cellulaire (Ushio-Fukai, *et al.*, 1998).

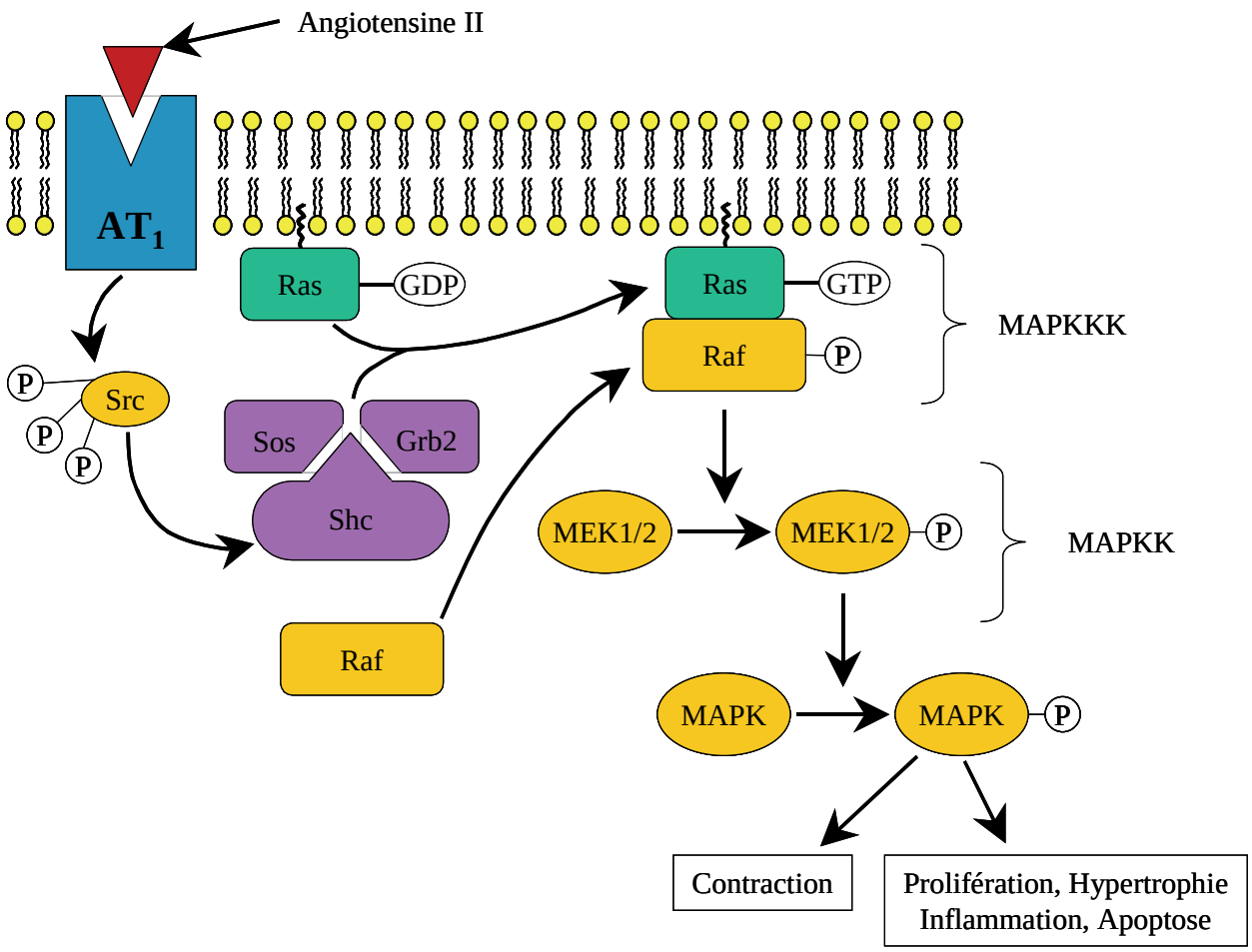


Figure 6 : Schéma de la cascade d'activation des MAPK suite à la stimulation des récepteurs AT_1 par l'angiotensine II. P : groupement phosphate ; GDP : guanosine diphosphate ; GTP : guanosine 5'-triphosphate ; MAPK : « Mitogen Activated Protein Kinase » ; MAPKK : MAPK kinase ; MAPKKK : MAPKK kinase. D'après Touyz et Schiffrin, 2000.

La stimulation des récepteurs AT_1 induit également une stimulation de la PLA_2. La PLA_2 est responsable de la libération de l'acide arachidonique à partir des phospholipides membranaires (Figure 7). L'acide arachidonique est alors pris en charge par les cyclooxygénases, les lipoxygénases ou les cytochrome-P450 oxygénases pour être transformé en différents eicosanoïdes (Touyz et Schiffrin, 2000). Les eicosanoïdes ainsi formés participent à la régulation de la contraction et de la croissance cellulaire, notamment en activant la voie des MAPK et en induisant un stress oxydant (Touyz et Schiffrin, 2000). Ainsi, les cyclooxygénases provoquent la formation de prostaglandines, telles que la prostacycline (PGI_2) ou la PGE_2 qui favorisent la vasodilatation, mais également de thromboxanes (TXA) qui induisent une vasoconstriction. Les eicosanoïdes dérivés des lipoxygénases modulent

également les effets de l'angiotensine II sur les cellules musculaires lisses, notamment en influant sur la réponse calcique (Touyz et Schiffrin, 2000).

Les évènements précoces induits par l'angiotensine II correspondent également à l'activation de la PLD. Cette activation de la PLD se fait notamment par mécanisme dépendant de la Src impliquant les sous unités $\beta\gamma$ et α_{12} des protéines G (Ushio-Fukai, *et al.*, 1999) (Figure 7). La PLD hydrolyse des phospholipides membranaires (essentiellement les phosphatidylcholines) libérant de l'acide phosphatidique qui est à son tour hydrolysé en DAG par une phosphohydrolase (Figure 7) (Touyz et Schiffrin, 2000). Contrairement à la PLC qui est activée dans les secondes suivant la stimulation par l'angiotensine II, l'activation de la PLD n'est détectable qu'après environ 2 minutes, et reste élevée pendant plus de 60 minutes (Lassegue, *et al.*, 1993). Le DAG ainsi produit permet donc l'activation prolongée de la PKC. L'activation de la PLD induit notamment une augmentation de $[Ca^{2+}]_i$, et joue un rôle dans la contraction et dans la prolifération (Touyz et Schiffrin, 2000).

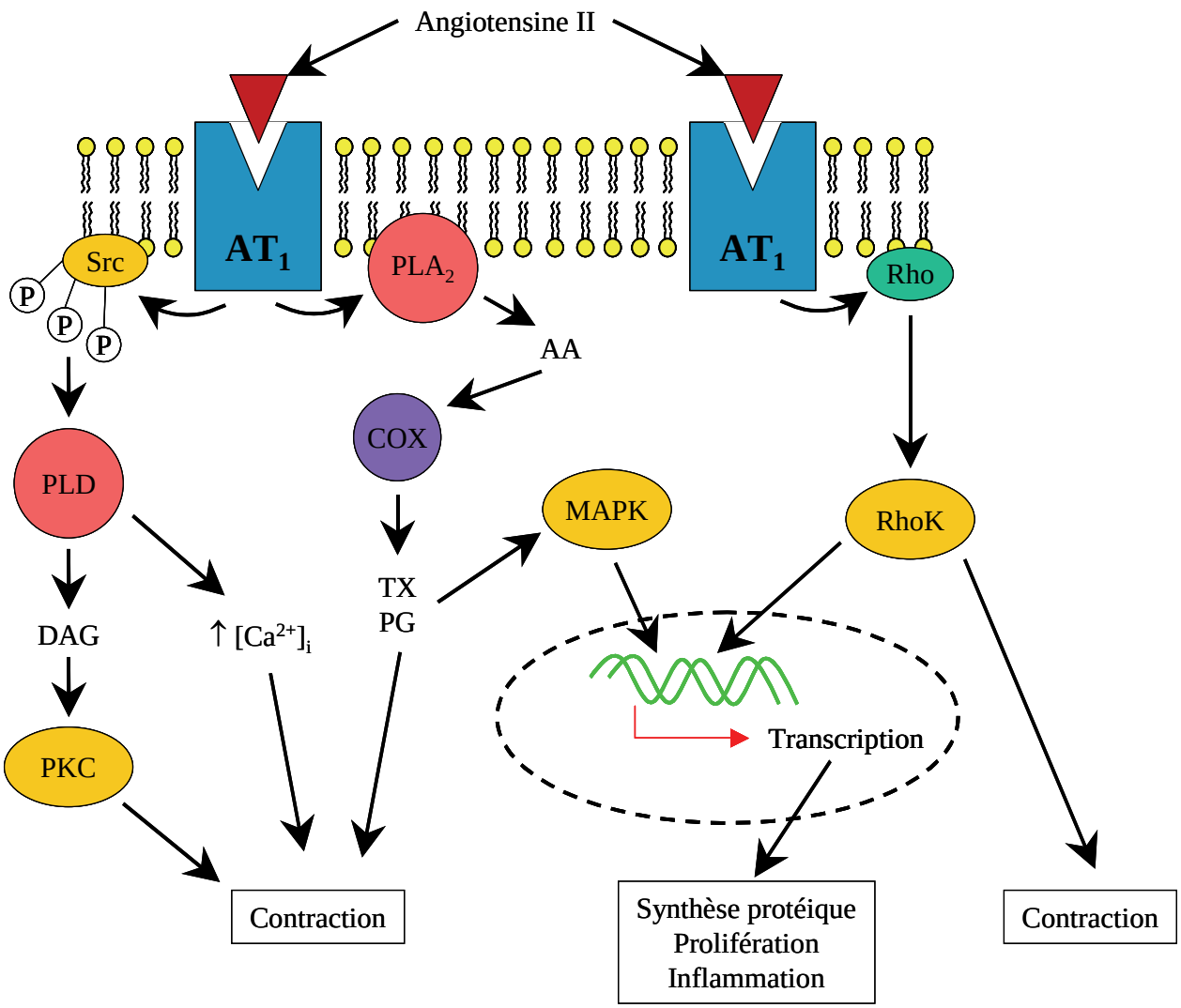


Figure 7 : Schéma de l'activation de la phospholipase A_2, de la phospholipase D et des protéines de la famille Rho suite à la stimulation des récepteurs AT_1 par l'angiotensine II. PLD : phospholipase D ; DAG : diacylglycérol ; PKC : protéine kinase C ; PLA_2 : phospholipase A_2 ; AA : acide arachidonique ; COX : cyclo-oxygénases ; TX : thromboxanes ; PG : prostanglandines ; MAPK : « mitogen activated protein kinase » ; Rho : petites protéines G monomériques de la famille Rho ; RhoK : Rho kinase.

Enfin, les récepteurs AT_1 sont susceptibles d'induire une activation des petites protéines G monomériques, notamment celles de la sous-famille Rho (RhoA, Rac1 et Cdc42) (Figure 7) (Touyz et Berry, 2002). Lorsqu'elle est liée au GDP, la protéine RhoA est inactive et principalement cytoplasmique ; elle est activée par échange du GDP par un GTP, et cette activation nécessite une modification post-traductionnelle (greffe d'un groupement géranylgéranyl qui permet son ancrage dans la membrane) (Laufs et Liao, 2000). La cible privilégiée de la protéine RhoA activée est la Rho kinase (Figure 7). Cette dernière favorise la

contraction en phosphorylant la sous-unité de liaison à la myosine de la phosphatase de la chaîne légère de la myosine, inhibant ainsi son activité phosphatase et augmentant la sensibilité de l'appareil contractile au calcium (Somlyo et Somlyo, 2000). Par ailleurs, la voie de transduction RhoA/Rho kinase semble jouer un rôle important dans la croissance cellulaire induite par l'angiotensine II, puisqu'elle est susceptible d'augmenter l'expression de certains gènes, comme c-*fos* ou le gène codant pour la MCP-1 (« monocyte chemoattractant protein-1 ») (Touyz et Berry, 2002). Autre membre de la famille Rho, la protéine Rac1 est également activée par l'angiotensine II, et participe à la transcription génétique, à la croissance cellulaire, à l'inflammation et à la régulation de la NAD(P)H oxydase (Laufs et Liao, 2000).

Il est à noter que certains auteurs ont rapporté que la stimulation des récepteurs AT_1 est associée à une augmentation de la formation des nucléotides cycliques AMPc et GMPc (adénosine 3',5'-monophosphate cyclique et guanosine 3',5'-monophosphate cyclique), molécules induisant une relaxation des cellules musculaires lisses (Boulanger, *et al.*, 1995 ; Caputo, *et al.*, 1995). Cependant ces effets ont été décrits au niveau des cellules endothéliales mais semblent plus généralement liés à une stimulation des récepteurs AT_2 (Touyz et Schiffrin, 2000).

Evènements tardifs (de l'ordre de l'heure)

La stimulation des récepteurs AT_1 entraîne des conséquences sur le contrôle à long terme de l'activité cellulaire. Ces évènements tardifs, se manifestant dans les heures qui suivent la stimulation des récepteurs AT_1, sont impliqués dans des phénomènes divers tels que la croissance, l'adhésion et la migration des cellules, ou la synthèse et la régulation des différents composants de la matrice extracellulaire (Touyz et Schiffrin, 2000). Ils pourrraient donc être potentiellement impliqués dans des processus adaptatifs comme le remodelage vasculaire au cours de l'hypertension artérielle chronique. Ces évènements tardifs correspondent à 1) la génération de radicaux libres oxygénés (RLO) et 2) l'expression de proto-oncogènes et de facteurs de croissance (Touyz et Schiffrin, 2000).

Les RLO comme l'anion superoxyde ($\cdot O_2^-$) ou le peroxyde d'hydrogène (H_20_2) agissent comme des seconds messagers intracellulaires qui peuvent jouer un rôle physiologique dans le tonus vasculaire ou la croissance cellulaire, ou un rôle physiopathologique dans l'inflammation ou l'hypertension (Touyz et Berry, 2002). Contrairement à de nombreux tissus extra-vasculaires où les RLO sont produits par la

xanthine oxydase, les oxydases mitonchondriales ou l'acide arachidonique, la principale source de RLO dans les cellules vasculaires est une NAD(P)H oxydase non mitonchondriale ancrée dans la membrane plasmique (Touyz et Berry, 2002). Cette NAD(P)H oxydase est constituée d'au moins 6 sous-unités dont l'activation et l'assemblage sont assez complexes (Touyz, *et al.*, 2003). Les mécanismes de l'activation de cette enzyme par les récepteurs AT_1 de l'angiotensine II ne sont pas encore totalement elucidés, mais la PLD, la PKC et la protéine c-Src semblent fortement impliquées (Touyz, *et al.*, 2003). L'activation de la NAD(P)H oxydase par l'angiotensine II est détectable environ 60 minutes après la stimulation et reste effective pendant plus de 24 heures (Griendling, *et al.*, 1994). Les RLO ainsi générés vont agir sur plusieurs cibles cellulaires (Figure 8). Tout d'abord, les RLO augmentent la $[Ca^{2+}]_i$ et participent ainsi à la contraction cellulaire (Touyz, *et al.*, 2003). Ensuite, les RLO sont capables d'inactiver les protéines à activité tyrosine phosphatase en oxydant un résidu cystéine situé dans leur site catalytique (Touyz, *et al.*, 2003). Cette inactivation des tyrosine phosphatases conduit à une activation ou une transactivation des récepteurs à activité tyrosine kinase comme les récepteurs du PDGF (« Platelet Derived Growth Factor » : facteur de croissance dérivé des plaquettes) ou de l'EGF (« Epidermal Growth Factor ») (Touyz, *et al.*, 2003). Les RLO sont également susceptibles d'augmenter l'activité des MMP (« matrix metalloproteinase » : métalloprotéinase matricielle), enzymes assurant la dégradation des protéines de la matrice extracellulaire (Touyz, *et al.*, 2003). De plus, certaines MAPK dont la p38-MAPK, JNK, STAT sont également régulées par les RLO (Ushio-Fukai, *et al.*, 1998 ; Touyz, *et al.*, 2003). Enfin, les RLO induisent l'activation de différents facteurs de transcription comme le NF-κB (« nuclear transcription factor kappa B ») ou l'AP-1 (« activator protein 1 ») (Touyz, *et al.*, 2003). Le NF-κB semble être activé aussi bien par les récepteurs AT_1 que par les récepteurs AT_2, bien que la part principale de la transcription induite par le NF-κB semble liée aux récepteurs AT_1 (Ruiz-Ortega, *et al.*, 2000). Or, le NF-κB est impliqué dans l'expression de nombreux gènes codant notamment pour des cytokines, des protéines d'adhésion cellulaire, la NOS (NO synthase), ou d'autres protéines impliquées dans l'inflammation et la prolifération cellulaire (Barnes et Karin, 1997).

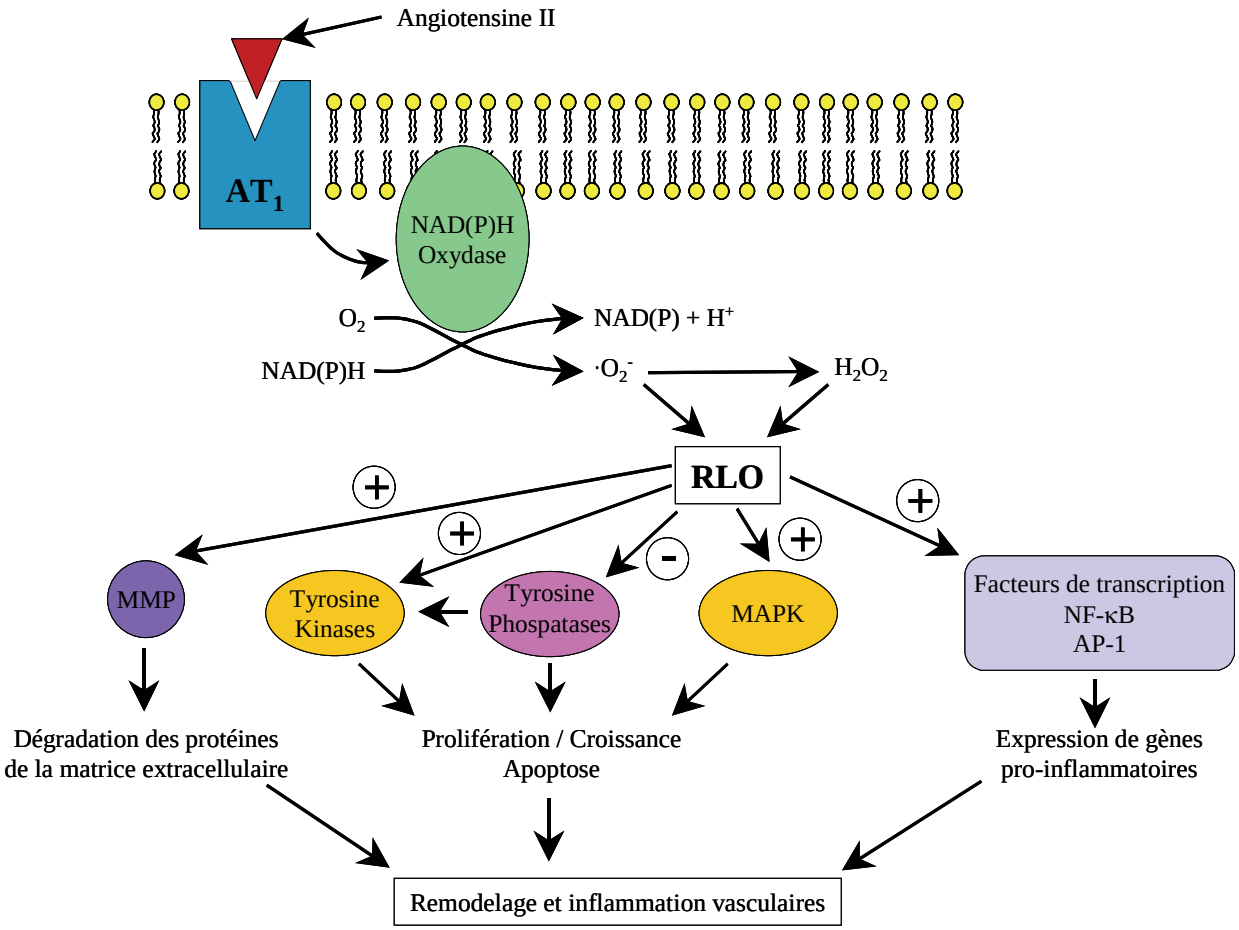


Figure 8 : Schéma de la production des radicaux libres oxygénés et de leur implication dans les effets tardifs consécutifs à la stimulation des récepteurs AT1 par l'angiotensine II. RLO : radicaux libres oxygénés ; MMP : métalloprotéinases matricielles ; MAPK : « mitogen activated protein kinases » ; NF-κB : facteur de transcription nucléaire kappa B ; AP-1 : activator protein-1. D'après Touyz, *et al.*, 2003.

Enfin, l'expression de proto-oncogènes et la synthèse protéique induites par la stimulation des récepteurs AT_1 contribuent au contrôle à long terme de la croissance, de la migration et de l'adhésion cellulaire, mais également à la fibrose et à la régulation de la composition de la matrice extracellulaire (Touyz et Berry, 2002). L'angiotensine II induit l'expression de différents proto-oncogènes tels que c-*fos*, c-*jun*, c-*myc*, *erg-1*, VL-30 et les complexes AP-1/proto-oncogènes (Hsueh, *et al.*, 1995 ; Touyz et Schiffrin, 2000 ; Touyz et Berry, 2002). La stimulation de ces gènes est associée à une augmentation de l'expression et de la production de différents facteurs de croissance (PDGF, EGF, TGF-β (« transforming growth factor-β »), IGF (« insulin-like growth factor »),…), d'agents vasoconstricteurs (endothéline-1), de molécules d'adhésion cellulaire (ICAM-1 (« intercellular cell adhesion

molecule-1 »), VCAM-1 (« vascular cell adhesion molecule-1 »)), d'intégrines (notamment les intégrines $\alpha_V\beta_3$ et β_5) ou encore de substances chimiotactiques (MCP-1, TNF-α (« tumor necrosis factor-α »)) (Hsueh, *et al.*, 1995 ; Touyz et Schiffrin, 2000 ; Touyz et Berry, 2002). De même, l'angiotensine II augmente l'expression et la production de nombreuses substances intervenant dans la composition de la matrice extracellulaire (fibronectine, collagène de type 1, glycosaminoglycannes, chondroïtine sulfates, dermatane sulfates et protéoglycannes). L'angiotensine II accroît également l'activité des MMP, enzymes reponsables de la dégradation de la matrice extracellulaire (Hsueh, *et al.*, 1995 ; Touyz et Berry, 2002).

Conclusions

La stimulation des récepteurs AT_1 par l'angiotensine II active de nombreuses voies de transduction intracellulaire et induit des évènements immédiats (de l'ordre de la seconde), précoces (de l'ordre de la minute) et tardif (de l'ordre de l'heure). Les effets immédiats de la stimulation concourent à la contraction des cellules musculaires lisses et expliquent l'action vasoconstrictrice de l'angiotensine II. Ces évènements immédiats vont également participer à l'activation des différents effecteurs des réponses précoces et tardives.

Les évènements précoces et tardifs sont impliqués dans la régulation à long terme de l'activité cellulaire, notamment en contrôlant l'expression des gènes et la synthèse protéique. Un certain nombre de ces évènements précoces et tardifs déclenchés par l'angiotensine II peuvent être impliqués dans des phénomènes adaptatifs de restructuration notamment au niveau cardiovasculaire, comme le remodelage cardiaque ou vasculaire (Figure 9). Ainsi, l'activation des MAPK, la génération de RLO par la NADP(H) oxydase et l'activation de certaines tyrosine kinases (JAK-STAT) vont activer de nombreux facteurs de transcription . La synthèse protéique qui en découle peut conduire à des phénomènes aussi divers que la prolifération cellulaire, l'apoptose, la synthèse de protéines constitutives de la matrice extra-cellulaire ou la production de facteurs de croissance (Figure 9). De plus, l'activation de certaines tyrosine kinases (FAK, $p130^{Cas}$) couplée à l'activation des MMP par les RLO pourrait permettre la migration et le réarrangement des cellules constitutives de la paroi vasculaire (Figure 9). Comme nous le verrons dans le chapitre correspondant (cf. PARTIE 1 : III. 2.1. et PARTIE 1 : III. 3.1.), tous ces phénomènes peuvent potentiellement être à l'origine du remodelage vasculaire des artérioles cérébrales observé au cours de l'hypertension artérielle chronique.

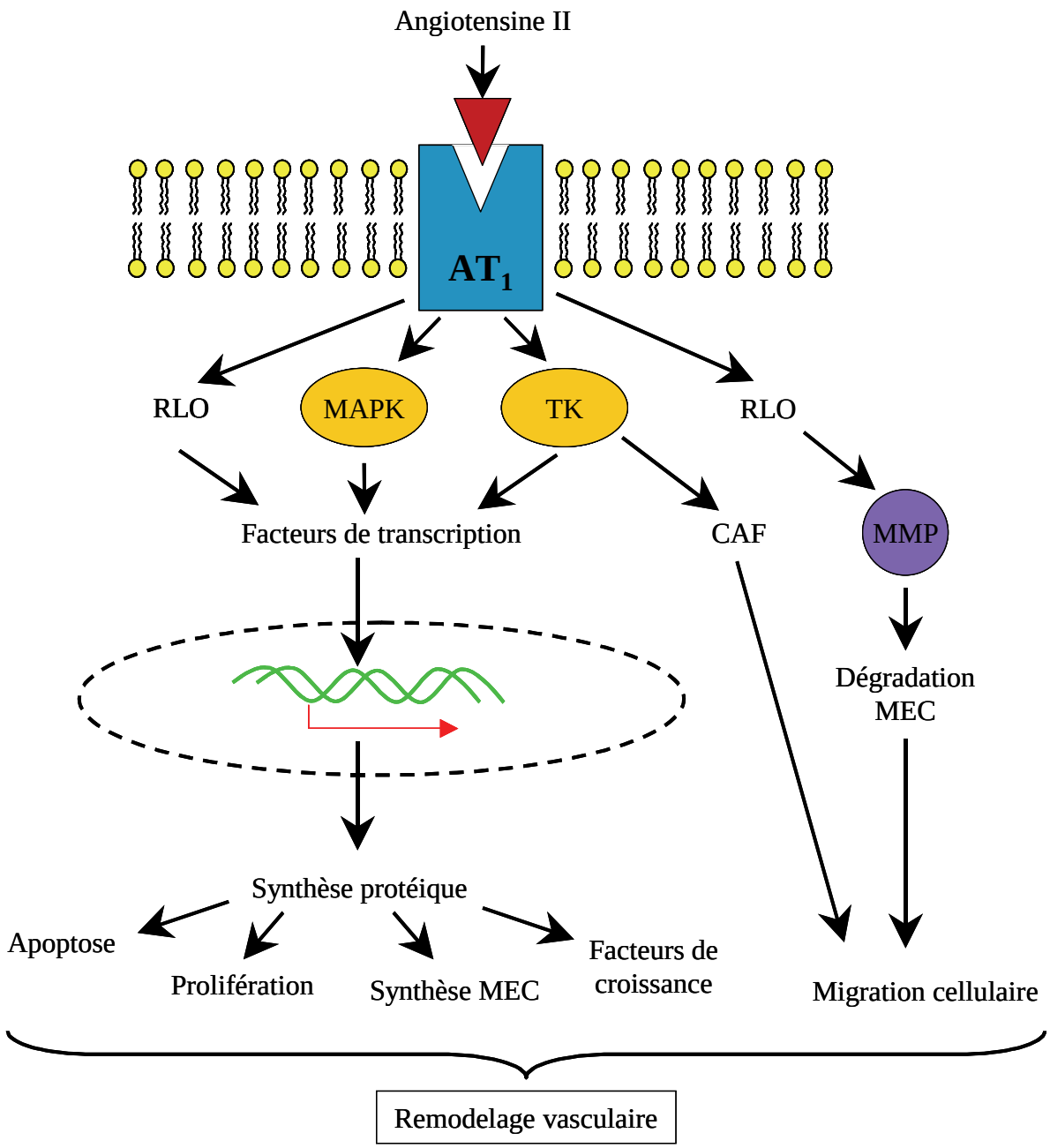


Figure 9 : Schéma récapitulatif des différentes voies de signalisation intracellulaire activées par la stimulation des récepteurs AT_1 et potentiellement impliquées dans le remodelage vasculaire. RLO : radicaux libres oxygénés ; MAPK : « mitogen activated protein kinases » ; TK : enzymes à activité tyrosine kinase ; CAF : complexes d'adhésion focales ; MMP : métalloprotéinases matricielles ; MEC : matrice extracellulaire.

2.1.2. Récepteurs AT_2 de l'angiotensine II

Généralités

Les récepteurs AT_2 de l'angiotensine II possèdent, tout comme les AT_1, sept domaines transmembranaires, une extrémité amino-terminale extra-cellulaire et une extrémité carboxy-terminale intra-cellulaire (Mukoyama, *et al.*, 1993). Les récepteurs AT_2 présentent donc une structure caractéristique des récepteurs couplés à des protéines G, mais ces récepteurs montrent toutefois quelques singularités aussi bien structurelles (Mukoyama, *et al.*, 1993) que fonctionnelles : les récepteurs AT_2 ne sont pas internalisés après stimulation et cette stimulation n'entraîne pas de liaison des analogues stables du GTP (de Gasparo, *et al.*, 2000). Or, ces propriétés sont pourtant caractéristiques des récepteurs couplés aux protéine G hétérotrimériques. Les protéines G associées à ces récepteurs AT_2 seraient les protéines $G_i\alpha_2$ et $G_i\alpha_3$ (Zhang et Pratt, 1996).

La distribution des récepteurs AT_2 varie au cours du développement. Ils représentent le sous-type exprimé majoritairement au cours de la vie fœtale mais leur expression diminue fortement après la naissance, si bien que chez l'adulte, ils ne sont plus prépondérants qu'au niveau de certains organes comme les glandes surrénales, certaines aires du cerveau, les ovaires ou l'utérus (Horiuchi, *et al.*, 1999 ; de Gasparo, *et al.*, 2000). Cependant, les récepteurs AT_2 sont également exprimés à un taux faible mais fonctionnel, dans d'autres tissus, notamment les reins, les vaisseaux et le cœur (Widdop, *et al.*, 2003). Enfin, l'expression des récepteurs AT_2 peut augmenter dans certaines situations pathologiques telles que l'inflammation, l'insuffisance cardiaque ou des lésions vaculaires (Horiuchi, *et al.*, 1999).

Le rôle physiologique des récepteurs AT_2 n'est pas encore complètement élucidé. Cependant, il semble que ces récepteurs jouent un rôle important dans le développement de l'appareil circulatoire, notamment en permettant au cours de la gestation la différentiation des cellules précurseurs en cellules musculaires lisses (synthèse des différentes protéines de l'appareil contractile), influençant par là la structure et la fonction des vaisseaux sanguins (Horiuchi, *et al.*, 1999). Après la naissance, il semble que la stimulation des récepteurs AT_2 s'oppose aux actions induites par les récepteurs AT_1. Ainsi, les récepteurs AT_2 provoquent une vasodilatation et exercent des actions anti-prolifératives et proapoptotiques (Horiuchi, *et al.*, 1999 ; de Gasparo, *et al.*, 2000).

Signalisation intracellulaire

Les voies de signalisation intracellulaire activées par les récepteurs AT_2 ne sont pas encore complètement élucidées. Cependant, les récepteurs AT_2 augmentent l'activité des protéines à activité tyrosine phosphatase, semblent accroître la production de GMPc par l'oxyde nitrique (NO), et font vraisemblablement intervenir la bradykinine et stimule la PLA_2 (de Gasparo, *et al.*, 2000 ; Widdop, *et al.*, 2003).

Tout d'abord, les récepteurs AT_2 provoquent l'activation de diverses protéines à activité tyrosine phosphatase (PTPase) (Bottari, *et al.*, 1992) (Figure 10). Ces PTPase induisent la déphosphorylation des résidus tyrosyls de différentes protéines provoquant ainsi leur inactivation (Widdop, *et al.*, 2003). L'identification de ces différentes PTPases activées par les récepteurs AT_2 n'est sans doute pas encore complète, mais des progrès ont été réalisés ces dernières années. Ainsi, les récepteurs AT_2 stimulent l'activité de la MKP-1 (« mitogen activated protein kinase phosphatase-1 ») qui inactive de manière spécifique les MAPK ERK1 et ERK2, puisqu'un prétraitement par un oligonucléotide antisens dirigé contre le gène de cette enzyme annule les effets de l'angiotensine II sur les récepteurs AT_2 (Yamada, *et al.*, 1996). Cette inactivation des ERKs par la MKP-1 pourrait contribuer aux effets proapoptotiques des récepteurs AT_2 puisqu'elle inhiberait la phosphorylation de la protéine Bcl-2 (Figure 10), une protéine impliquée dans la cascade enzymatique conduisant à l'apoptose (Horiuchi, *et al.*, 1997). Une autre PTPase potentiellement impliquée dans la signalisation intracellulaire des récepteurs AT_2 et dans l'activation de l'apoptose est la SHP-1 tyrosine phosphatase (Cui, *et al.*, 2001). Enfin, la sérine/thréonine phosphatase PP2A est également susceptible d'être activée par les récepteurs AT_2 et d'inactiver les ERKs (Widdop, *et al.*, 2003). Parallèlement à cette inactivation des ERKs, les récepteurs AT_2 sont capables d'induire la déphosphorylation d'autres protéines kinases, telles que celles de la famille Janus ou STAT (de Gasparo, *et al.*, 2000). Ainsi, une des principales voie de signalisation des récepteurs AT_2 consiste à inactiver les protéines kinases qui sont par ailleurs activées par les récepteurs AT_1.

Par ailleurs, plusieurs études ont montré que les récepteurs AT_2 sont susceptibles d'accroître la concentration intracellulaire en GMPc, du moins au niveau des cellules endothéliales, par un mécanisme impliquant le NO (Wiemer, *et al.*, 1993 ; Gohlke, *et al.*, 1998 ; Pueyo, *et al.*, 1998). D'autres études ont pu montrer un lien entre l'activation des récepteurs AT_2 et la libération de bradykinine (Gohlke, *et al.*, 1998 ; Widdop, *et al.*, 2003).

Ainsi, l'augmentation du GMPc induit par l'angiotensine II peut être prévenue soit par l'utilisation d'antagonistes des récepteurs AT_2, soit par une inhibition de la NOS, soit par un antagoniste des récepteurs B_2 de la bradykinine (Widdop, *et al.*, 2003). Cette augmentation du GMPc participerait à la vasodilatation induite par les récepteurs AT_2 (de Gasparo, *et al.*, 2000 ; Widdop, *et al.*, 2003) (Figure 10). Au moins une autre étude a pu montrer que la vasodilatation induite par stimulation des récepteurs AT_2 peut également être liée à l'activation des canaux potassiques calcium-dépendant (BK_{Ca}) dans les petits vaisseaux de résistance (Dimitropoulou, *et al.*, 2001) (Figure 10).

Enfin, des études réalisées sur des cardiomyocytes ont permis de montrer que les récepteurs AT_2 induisent la libération d'acide arachidonique et de PGI_2, probablement par activation de la PLA2 (de Gasparo, *et al.*, 2000) (Figure 10).

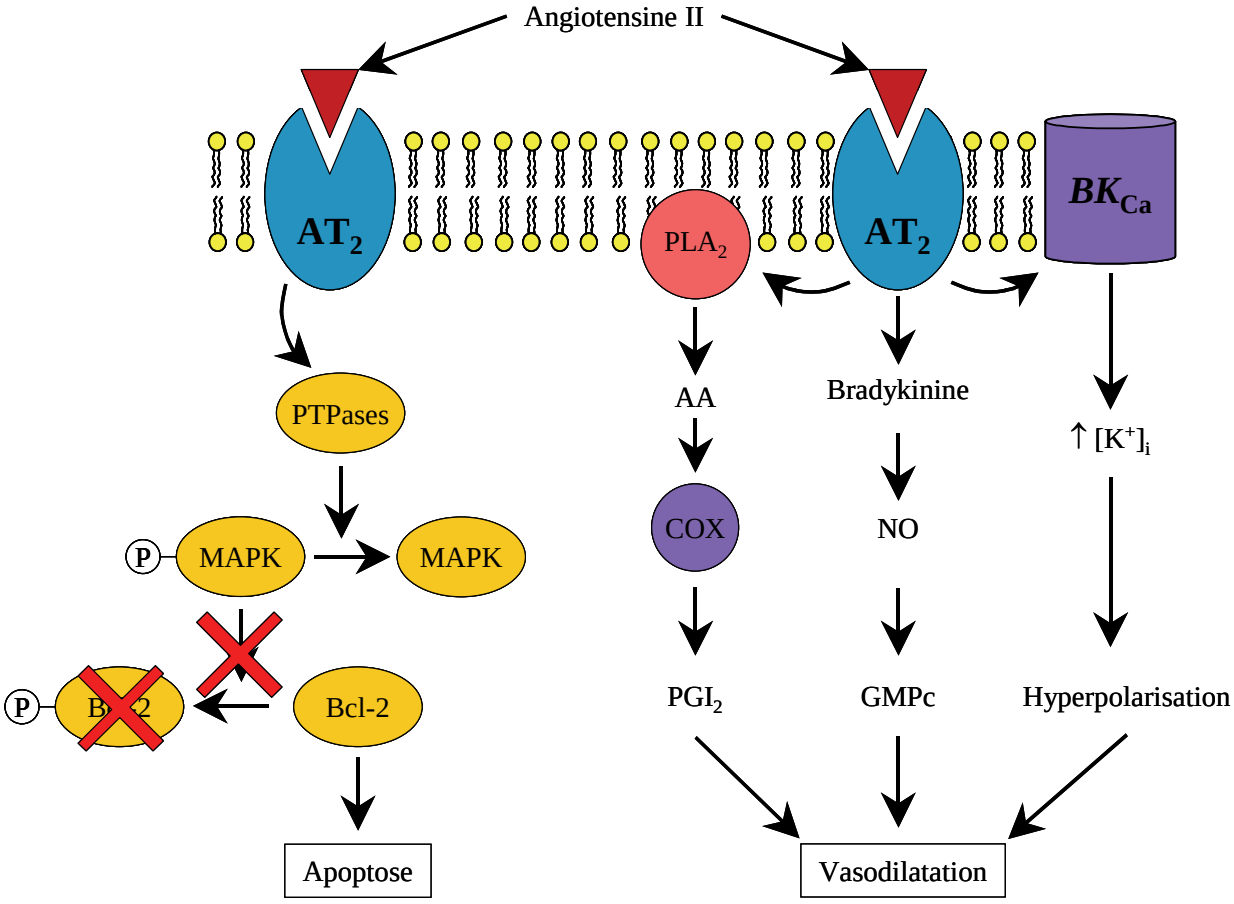


Figure 10 : Schéma des principales voies de signalisation intracellulaire consécutives à la stimulation des récepteurs AT_2 par l'angiotensine II. PTPases : protéines à activité tyrosine phosphatase ; P : groupement phosphate ; MAPK : « Mitogen Activated Protein Kinase » ; PLA_2 : phospholipase A_2 ; AA : acide arachidonique ; COX : cyclo-oxygénases ; PGI_2 : prostacycline ; NO : oxyde nitrique ; GMPc : guanosine 3',5'-monophosphate cyclique ; BK_{Ca} : canaux potassiques calcium-dépendant ; $[K^+]_i$:concentration intracellulaire en potassium.

Conclusion

Les voies de signalisation intracellulaire des récepteurs AT_2 ne sont donc pas encore complètement elucidées. Les données actuelles permettent toutefois d'observer que la stimulation des récepteurs AT_2 entraîne des effets opposés à ceux provoqués par l'activation des récepteurs AT_1 : une vasodilatation qui s'oppose à la vasoconstriction induite par les récepteurs AT_1, et un effet proapoptotique et antiprolifératif passant notamment par une inactivation des protéines kinases stimulées par les récepteurs AT_1.

2.2. Récepteur(s) de l'aldostérone

2.2.1. Controverse sur l'existence de plusieurs types de récepteurs à l'aldostérone

L'aldostérone est une hormone stéroïde faisant l'objet de recherches intensives depuis plus de 50 ans. Le récepteur de cette hormone stéroïde, appelé récepteur des minéralocorticoïdes (MR), a été cloné il y a un peu moins de 20 ans (Arriza, *et al.*, 1987) et appartient à la superfamille des récepteurs nucléaires induisant une réponse génomique (Funder, 2004). Cependant, depuis une dizaine d'années, la mise en évidence d'une action non génomique rapide de l'aldostérone (de l'ordre de la seconde ou de la minute, donc des effets immédiats ou précoces), non inhibée par les antagonistes du récepteur MR, a conduit certains auteurs à émettre l'hypothèse de l'existence de récepteurs membranaires à l'aldostérone (Wehling, *et al.*, 1995 ; Boldyreff et Wehling, 2003).

Une controverse sévit encore à l'heure actuelle quant à l'existence de ces récepteurs membranaires à l'aldostérone (Boldyreff et Wehling, 2003 ; Uhrenholt, *et al.*, 2004). Ainsi, des travaux ont montré que l'aldostérone est susceptible de s'opposer à la vasoconstriction induite par différents agonistes, et que cet effet rapide et non génomique peut être bloqué par la spironolactone, un antagoniste des récepteurs MR (Uhrenholt, *et al.*, 2003 ; Liu, *et al.*, 2003). Par ailleurs, il a été montré que de nombreux autres récepteurs intracellulaires des hormones stéroïdes (récepteurs des oestrogènes, des glucocorticoïdes, de la vitamine D ou de la progestérone) pouvaient avoir une localisation membranaire et activer des voies de signalisation immédiates ou précoces non génomiques (Buitrago, *et al.*, 2000 ; Pedram, *et al.*, 2002 ; Boldyreff et Wehling, 2003). Ces résultats suggèrent que les effets rapides et non génomiques de l'aldostérone pourraient être consécutifs à l'activation des récepteurs MR (Uhrenholt, *et al.*, 2004).

Cependant, des études pharmacologiques ont pu mettre en évidence des sites de liaisons spécifiques de l'aldostérone au niveau de la membrane de différents tissus, qui présentent des caractéristiques différentes des récepteurs MR classiques (affinité plus ou moins forte pour l'aldostérone, spécificités différentes pour divers agonistes ou antagonistes comme le cortisol, l'hydrocortisone ou la canrénone) (Boldyreff et Wehling, 2003). Ainsi, une protéine membranaire de 50 kDa montre une affinité pour l'aldostérone 10 fois supérieure à celle des MR (Eisen, *et al.*, 1994). Enfin, l'aldostérone est capable d'induire une réponse

intracellulaire rapide sur des cellules de souris mutantes dans lesquelles le gène codant pour le MR a été inactivé (Haseroth, *et al.*, 1999). L'ensemble de ces résultats suggèrent donc fortement que les effets immédiats et précoces, non génomiques, de l'aldostérone sont médiés par un récepteur différent du récepteur classique MR.

L'existence d'un nouveau récepteur à l'aldostérone est toujours actuellement une question ouverte et un sujet de recherche particulièrement actif.

2.2.2. Effets tardifs génomiques de l'aldostérone

L'aldostérone peut participer à la fibrose par une interaction directe avec les MR situés dans le cytosol des cellules. Le récepteur MR, sous sa forme inactive est associée sous forme de dimère à une protéine de choc thermique (« heat shock protein ») (Mangelsdorf, *et al.*, 1995) (Figure 11). La liaison de l'aldostérone sur son récepteur active celui-ci qui se sépare alors de la protéine de choc thermique et induit une modification de la conformation du MR et dégage des structures en doigt de zinc et un site de fixation à l'ADN (Mangelsdorf, *et al.*, 1995). Le MR va alors se dimériser et c'est sous cette forme active d'homodimère, que le MR migre vers le noyau où il va se fixer sur l'ADN et induire l'expression de différents gènes (Mangelsdorf, *et al.*, 1995) (Figure 11). Ces gènes codent pour des facteurs protéiques qui activent eux-mêmes une multitude d'autres gènes, dont celui codant pour le collagène de type 1 (Mangelsdorf, *et al.*, 1995 ; Duprez, *et al.*, 2000). Cette transcription induite par l'interaction de l'aldostérone avec le MR est effective dans un délai variant de 20 minutes à plusieurs heures et peut être prévenue par l'administration de spironolactone ou d'autres antagonistes des MR (Duprez, *et al.*, 2000).

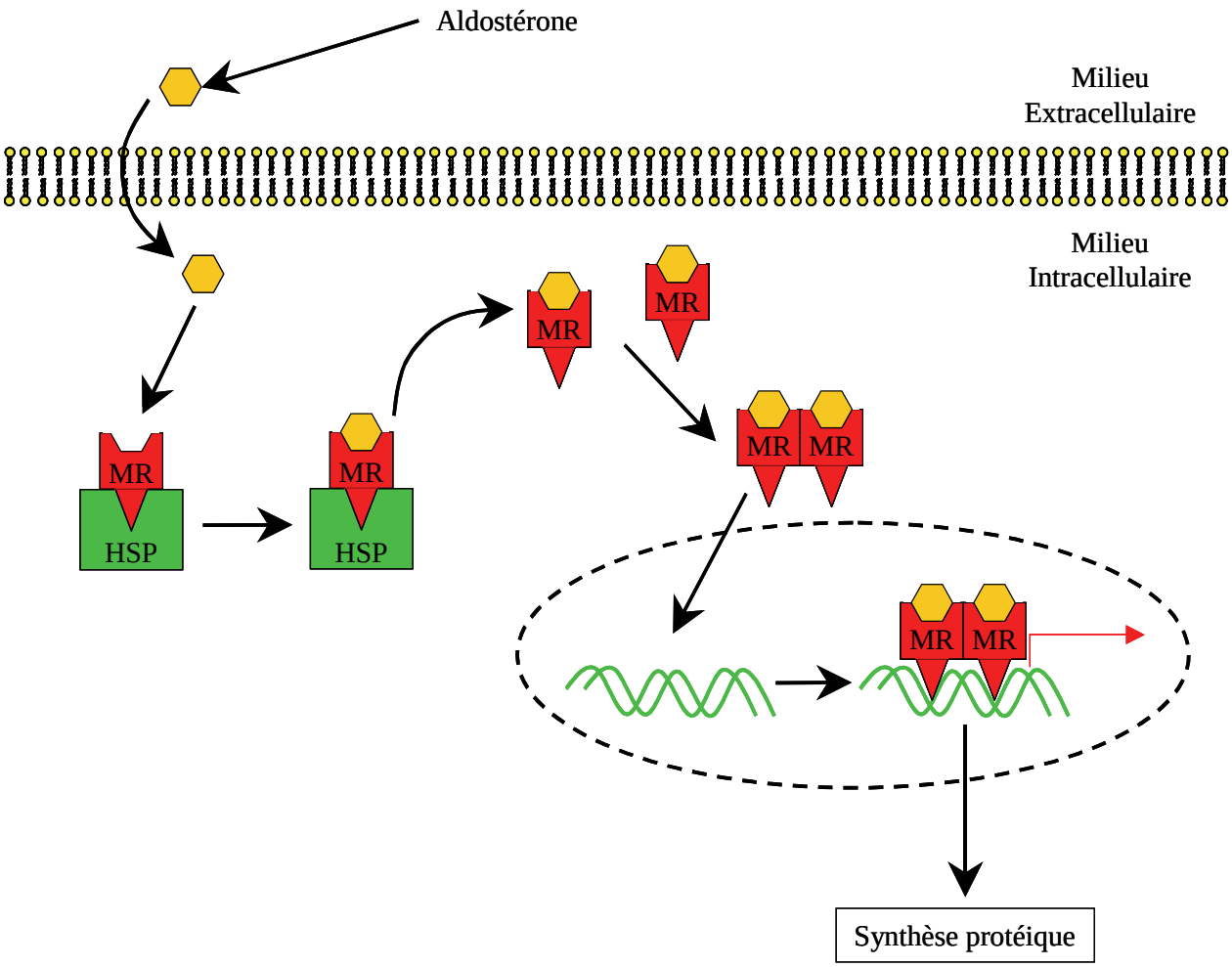


Figure 11 : Schéma de l'activation du récepteur des minéralocorticoïdes par l'aldostérone. MR : récepteurs des minéralocorticoïdes ; HSP : protéines de choc thermique.

Cette synthèse protéique, et notamment la synthèse de collagène et la fibrose qui en résulte, pourrait participer aux altérations structurales des vaisseaux observés au cours de l'hypertension artérielle.

2.2.3. Effets non génomiques immédiats ou précoces

Nous avons vu que, depuis une dizaine d'années, de nombreux travaux se sont intéressés aux effets non génomiques rapides de l'aldostérone.

Ainsi, au niveau des cellules musculaires lisses, l'administration d'aldostérone induit une élévation rapide et non génomique de la $[Ca^{2+}]_i$, associée à une stimulation de la PLC et une libération de DAG et d'IP_3 (Wehling, *et al.*, 1995). D'autres résultats ont confirmé les effets de l'aldostérone sur la PLC, le DAG et l'IP_3 et ont en plus montré une activation de la

PKC (Boldyreff et Wehling, 2003 ; Losel, *et al.*, 2004 ; Uhrenholt, *et al.*, 2004). Il a de plus été montré que l'aldostérone induit une vasoconstriction de l'artériole afférente rénale par un mécanisme impliquant la PLC et la mobilisation du calcium (Arima, *et al.*, 2003).

Cependant, comme nous l'avons déjà évoqué précédemment, d'autres auteurs ont montré que l'aldostérone peut prévenir la vasoconstriction et qu'elle n'a pas d'effet sur la $[Ca^{2+}]_i$ (Liu, *et al.*, 2003 ; Uhrenholt, *et al.*, 2003). Ces auteurs ont en revanche pu montrer que l'aldostérone induit une activation de la PI3K, qui elle-même active la protéine kinase B (PKB) (Liu, *et al.*, 2003 ; Uhrenholt, *et al.*, 2003). Cette voie de signalisation PI3K/PKB est impliquée dans de nombreux phénomènes de régulation, favorisant notamment la croissance cellulaire et inhibant l'apoptose (Uhrenholt, *et al.*, 2004). Une des cibles potentielles de la PKB est la eNOS (isoforme endothéliale de la NOS) : la production accrue de NO permettrait l'activation de la guanylate cyclase et donc la formation de GMPc, ce qui pourrait expliquer l'inhibition de la vasoconstriction par l'aldostérone (Liu, *et al.*, 2003 ; Uhrenholt, *et al.*, 2003 ; Uhrenholt, *et al.*, 2004). De plus, il a également été décrit que l'aldostérone induit une augmentation de la concentration intracellulaire en AMPc au niveau de cellules musculaires lisses vasculaires (Christ, *et al.*, 1999). Cette augmentation de l'AMPc pourrait également contribuer à l'effet de l'aldostérone sur la vasoconstriction par le biais d'une activation de la PKA (protéine kinase A) qui elle-même active la phosphatase de la chaîne légère de la myosine (MLCP) qui favorise la relaxation.

Enfin, un autre effet rapide et non génomique de l'aldostérone correspond à l'activation de l'échangeur Na^+/H^+, la NHE, qui pourrait participer à la rétention hydrosodée induite par cette hormone. Cette activation de la NHE par l'aldostérone semble être consécutive à une activation des MAPK ERK1/2 (Gekle, *et al.*, 2001). L'activation de ces MAPK serait, comme nous l'avons vu précédemment pour les récepteurs AT_1, consécutive à la phosphorylation des MAPKK (Boldyreff et Wehling, 2003). De même, des résultats obtenus récemment montrent une activation de la protéine Src (Boldyreff et Wehling, 2003 ; Braun, *et al.*, 2004). Cette activation de la Src conduirait à une activation de la p38-MAPK et de la NAD(P)H oxydase (Callera, *et al.*, 2005).

2.2.4. Conclusion

La découverte relativement récente d'une action immédiate ou précoce et non génomique de l'aldostérone soulève encore de nombreuses questions, dont beaucoup restent à

l'heure actuelle sans réponse, comme l'existence ou non de nouveaux récepteurs membranaires ou la façon dont l'aldostérone déclenche l'activation de tous les seconds messagers que nous venons d'évoquer. Cependant, il semble certain que l'action de l'aldostérone induise, soit par une voie génomique classique, soit par cette voie non génomique, la transcription de nombreux gènes qui pourraient participer au développement de phénomènes adaptatifs au niveau de la paroi des vaisseaux, comme la fibrose ou le remodelage consécutif à l'hypertension artérielle.

3. Système rénine angiotensine aldostérone et hypertension artérielle

De par son action sur la régulation de la pression artérielle et son effet global entraînant une élévation de la pression artérielle, le système rénine angiotensine aldostérone est une cible de choix pour le traitement de l'hypertension artérielle chronique, comme le montre l'efficacité des IEC et l'avènement plus récent des antagonistes des récepteurs AT_1 (les sartans).

S'il semble évident que des perturbations systémiques de la production d'angiotensine II et d'aldostérone entraînent des pathologies se manifestant notamment par une élévation de la pression artérielle (ce qui est le cas de l'hypertension rénovasculaire ou de l'hyperaldostéronisme primaire) (Williams, 1995), la production locale tissulaire de ces deux hormones pourrait également contribuer au développement d'une hypertension artérielle.

Ainsi, un modèle transgénique de rats hypertendus a été mis au point en insérant le gène Ren2 de la rénine de souris dans le génome des rats (Mullins, *et al.*, 1990). Dans ce modèle, l'activité de la rénine plasmatique est plus basse que chez les rats contrôles normotendus, ce qui en fait donc un modèle d'hypertension où le système rénine angiotensine systémique est réprimé (Mullins, *et al.*, 1990). Cependant, bien que son activité systémique soit réduite, il semble tout de même que le système rénine angiotensine aldostérone soit à l'origine de l'hypertension observée chez ces animaux transgéniques car un traitement par un IEC ou un antagoniste des récepteurs AT_1 permet de diminuer efficacement la pression (Moriguchi, *et al.*, 1994). De plus, la production tissulaire d'angiotensine I et d'angiotensine II est augmentée dans ce modèle au niveau de différents organes tels que les glandes surrénales ou le système nerveux central (Mullins, *et al.*, 1990 ; Lee, *et al.*, 1996). Hilgers et coll. ont ainsi mis en évidence une augmentation de la synthèse et de la sécrétion

d'angiotensine I et d'angiotensine II dans un modèle de « train arrière » isolé perfusé de rats transgéniques ayant subi une néphrectomie 24 heures avant l'expérimentation (Hilgers, *et al.*, 1992). Ce modèle expérimental permet de s'assurer que la rénine plasmatique ne peut pas contribuer à la biosynthèse de l'angiotensine I. Dans cette même étude, les auteurs ont pu observer la présence de l'ARN messager du transgène Ren2 au niveau de la paroi aortique et de la paroi des artères de résistance mésentériques (Hilgers, *et al.*, 1992). Ces rats transgéniques hypertendus présentent donc une activité accrue du système rénine angiotensine tissulaire, au niveau de la paroi des vaisseaux.

Un autre modèle d'hypertension chronique, le rats SHR (« spontaneously hypertensive rat » : rat spontanément hypertendu), présente le même profil que les rats transgéniques hypertendus. En effet, l'activité plasmatique du système rénine angiotensine est diminuée chez ces animaux par rapport à leurs témoins normotendus (Shiono et Sokabe, 1976). Cependant, comme chez les rats transgéniques Ren2, il semble que l'activité tissulaire du système rénine angiotensine soit augmentée, notamment au niveau de la paroi des artères (Asaad et Antonaccio, 1982).

La production vasculaire d'aldostérone pourrait également être impliquée dans les mécanismes physiopathologiques de l'hypertension, puisqu'il a été démontré que celle-ci est augmentée chez les rats SHRSP (« spontaneously hypertensive rat stroke prone ») âgés de deux semaines. De même, l'expression des récepteurs de l'aldostérone chez les rats SHRSP âgés de 2, 4 ou 9 semaines est augmentée par rapport à des rats WKY de même âge (Takeda, *et al.*, 1997).

Enfin, la production tissulaire d'angiotensine II et d'aldostérone de même que leurs productions systémiques pourraient jouer un rôle capital dans les altérations structurales et fonctionnelles de différents organes au cours de pathologies comme l'insuffisance cardiaque ou l'hypertension. Nous aborderons plus tard dans ce travail de thèse les implications potentielles de ce système dans les processus de remodelage des artérioles cérébrales au cours de l'hypertension artérielle.

Comme nous l'avons déjà évoqué, des études cliniques ont montré qu'un blocage du système rénine angiotensine aldostérone par un IEC permet de prévenir l'apparition d'accidents vasculaires cérébraux (PROGRESS, 2001). Ces études suggèrent que le système rénine angiotensine joue un rôle important dans la circulation cérébrale et dans ses altérations liées à l'hypertension. Dans ce chapitre, nous étudierons donc les caractéristiques de la circulation cérébrale, et plus particulièrement l'anatomie et l'autorégulation du DSC avant de voir comment l'hypertension et le système rénine angiotensine aldostérone peuvent moduler cette autorégulation.

II. CIRCULATION CEREBRALE ET HYPERTENSION ARTERIELLE

Bien qu'il ne représente que 2 % du poids corporel, le cerveau représente à lui seul près de 20 % de la consommation totale d'oxygène de l'organisme. Or, les 10 milliards de neurones qui constituent cet organe ne possèdent ni réserve énergétique (glucose ou glycogène) ni réserve d'oxygène. Les besoins constants de ces cellules en oxygène et en nutriments, les rendent donc particulièrement vulnérables à une diminution des apports sanguins.

La circulation cérébrale revêt donc un caractère essentiel dans le bon fonctionnement de cet organe. Toutes les caractéristiques de cette circulation permettent d'assurer la protection du système nerveux central en assurant un apport sanguin constant. Parmi ces caractéristiques, nous nous intéresserons plus particulièrement à l'anatomie de la circulation sanguine cérébrale ainsi qu'à l'autorégulation du DSC.

1. Anatomie

L'étude anatomique de la circulation cérébrale révèle l'existence de dispositifs tout à fait spécifiques au cerveau. Ces spécificités de la circulation cérébrale se manifestent aussi bien au niveau artériel, qu'au niveau veineux ou capillaire et l'ensemble de ces particularités va contribuer à la protection de cet organe particulièrement sensible à l'hypoxie.

1.1. Système artériel

La circulation cérébrale est dite tétrapodique. En effet, l'irrigation du cerveau est assurée par deux paires d'artères : les artères carotides internes droite et gauche, et les artères vertébrales droite et gauche.

La carotide primitive gauche est directement issue de l'aorte, tandis que l'artère carotide droite prend naissance à partir du tronc brachio-céphalique (l'autre branche devenant l'artère sous-clavière droite). Les carotides primitives montent et se divisent en deux branches au niveau des « bulbes carotidiens » (renflements des bifurcations carotidiennes) : les carotides externes et internes. Les carotides externes vont irriguer la face, les maxillaires et le crâne, à l'exception d'une branche intra-crânienne, l'artère méningée moyenne. Les carotides internes, ont, elles, une destinée uniquement intra-crânienne. Chacune pénètre dans le crâne *via* le trou déchiré antérieur, s'infléchit vers le sphénoïde et forme un siphon carotidien dans les sinus caverneux (Sokoloff, 1997 ; Edvinsson et MacKenzie, 2002).

Les artères vertébrales prennent naissance à partir des artères sous-clavières au niveau des creux sus-claviculaires. Elles empruntent les canaux transversaires des vertèbres cervicales (à partir de la sixième cervicale) et se retrouvent donc enchâssées dans un conduit ostéo-fibreux capable de torsion jusqu'à leur pénétration dans le crâne *via* le trou occipital (Sokoloff, 1997 ; Edvinsson et MacKenzie, 2002).

L'une des particularités anatomiques les plus remarquables de l'apport artériel au niveau du cerveau est le polygone (ou cercle) de Willis (Figure 12). Les deux artères vertébrales se rejoignent pour former l'artère basilaire. Celle-ci va alors s'anastomoser avec les deux carotides internes par le biais des artères communicantes postérieures. Le polygone de Willis est complété par l'artère communicante antérieure qui relie les deux carotides internes (Figure 12).

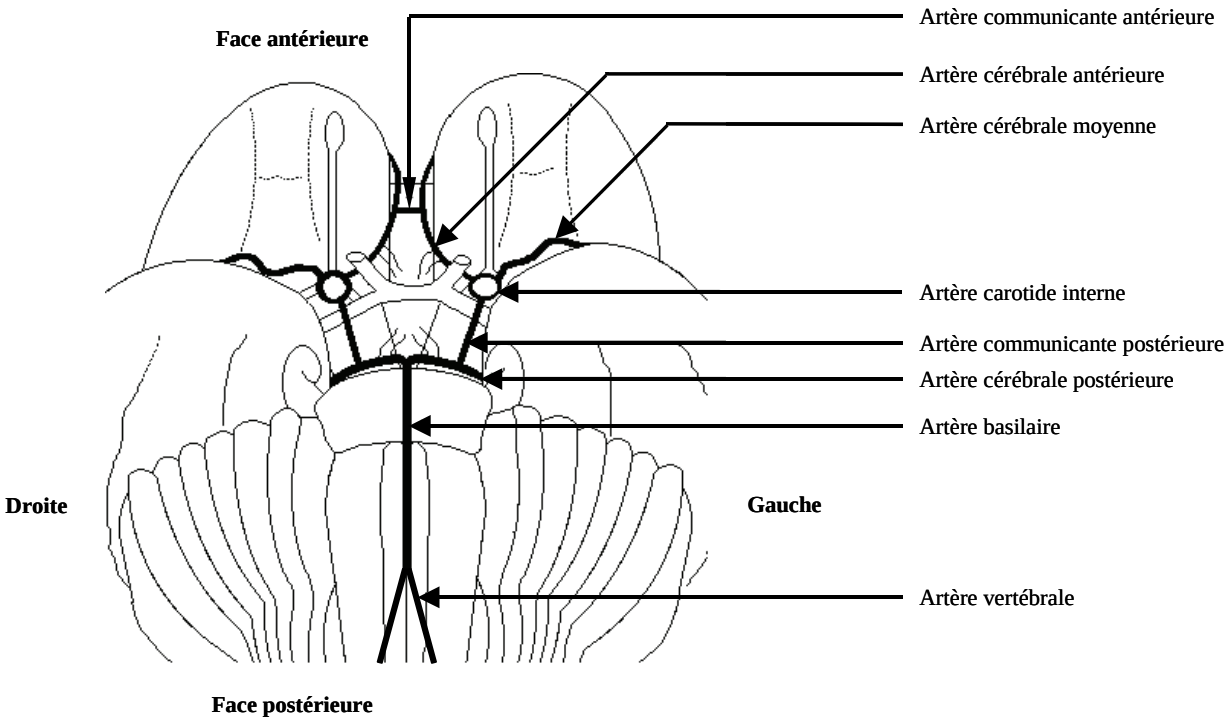


Figure 12 : Représentation schématique du polygone de Willis et des différentes artères afférentes et efférentes à ce polygone (vue basale du cerveau). D'après Sokoloff, 1997.

Quatre-vingts % de l'apport artériel au niveau du cercle de Willis est dû aux seules carotides (40 % chacune). Cependant, dans des conditions physiologiques normales, la pression artérielle étant identique dans les carotides et dans les artères vertébrales, le sang issu des carotides ne se mélange quasiment pas au sang provenant de l'artère basilaire. Ainsi, l'artère basilaire irrigue principalement la partie postérieure de cerveau tandis que les carotides suppléent aux besoins des parties médianes et antérieures (Sokoloff, 1997). L'égalité des pressions sanguines dans les quatre artères alimentant le cercle de Willis explique également qu'il y ait peu de mélange de sang entre les côtés droit et gauche : la carotide droite alimente majoritairement l'hémisphère droit et la gauche, l'hémisphère gauche (Sokoloff, 1997).

En revanche, ce système d'anastomose unique permet de maintenir une irrigation complète du cerveau dans certaines conditions (Sokoloff, 1997 ; Edvinsson et MacKenzie, 2002). Ainsi, en cas d'occlusion ou d'obstruction d'une des quatre artères principales, la pression artérielle régnant dans les trois autres se répartit dans le cercle de Willis, ce qui permet une redistribution du sang dans toutes les artères issues de ce polygone. Le polygone

de Willis peut donc rééquilibrer les apports artériels et les répartir de façon homogène pour tout le territoire cérébral. Il prévient ainsi les risques d'ischémie cérébrale sévère.

De ce cercle de Willis partent donc trois paires d'artères allant irriguer l'encéphale : les artères cérébrales antérieures, moyennes et postérieures.

Les deux artères cérébrales antérieures vont se loger dans la fissure longitudinale, entre les deux hémisphères cérébraux, puis s'incurver pour remonter autour du corps calleux et se prolonger postérieurement (Sokoloff, 1997 ; Edvinsson et MacKenzie, 2002). Les différentes branches issues de ces artères cérébrales antérieures (branches orbitales, moyennes, et postérieures) vont assurer l'irrigation des pôles frontaux et des parties médianes des lobes frontaux et pariétaux (Figure 13).

Les artères cérébrales moyennes (ou sylviennes) sont les plus importantes branches issues des carotides internes. Elles empruntent le sillon de Rolando et donnent naissance à différentes branches assurant la perfusion de la majeure partie des surfaces latérales des hémisphères cérébraux (Figure 13).

Enfin, les artères cérébrales postérieures s'incurvent autour du pédoncule cérébral avant de traverser la surface des lobes occipitaux. Elles permettent l'irrigation des parties inférieures et médianes des lobes temporaux et occipitaux (Figure 13).

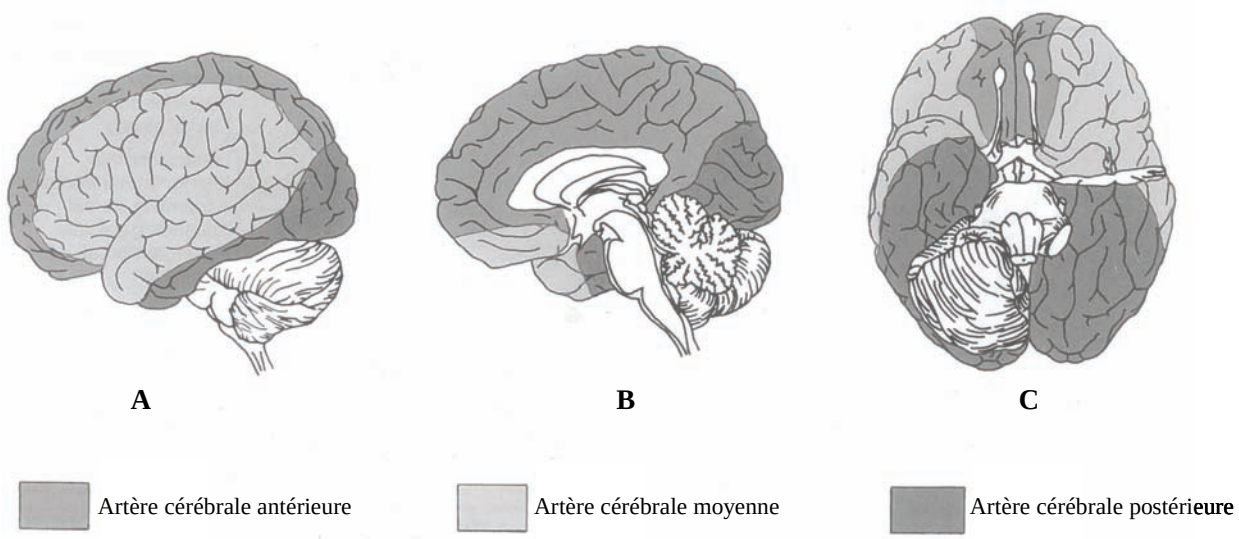


Figure 13 : Représentation des territoires du cerveau alimentés par l'artère cérébrale antérieure (gris), l'artère cérébrale moyenne (gris clair) et l'artère cérébrale postérieure (gris foncé). **A** : vue latérale ; **B** : vue médiale ; **C** : vue basale. D'après Edvinsson et MacKenzie, 2002.

Toutes ces artères ainsi que leurs branches principales parcourent la surface des hémisphères cérébraux, et seules leurs ramifications vont pénétrer dans le cerveau. Le mode de pénétration de ces artérioles dans la substance cérébrale est encore controversé. Cependant, l'opinion la plus répandue est que des invaginations de la pie-mère vont entourées les artérioles en créant un espace péri-vasculaire : l'espace de Virchow-Robin (Figure 14), contigu à l'espace sous-arachnoïdien (Edvinsson et MacKenzie, 2002). La coalescence des membranes basales de la pie-mère et de l'artériole engendre la disparition de cet espace de Virchow-Robin lorsque l'artériole donne naissance à un capillaire.

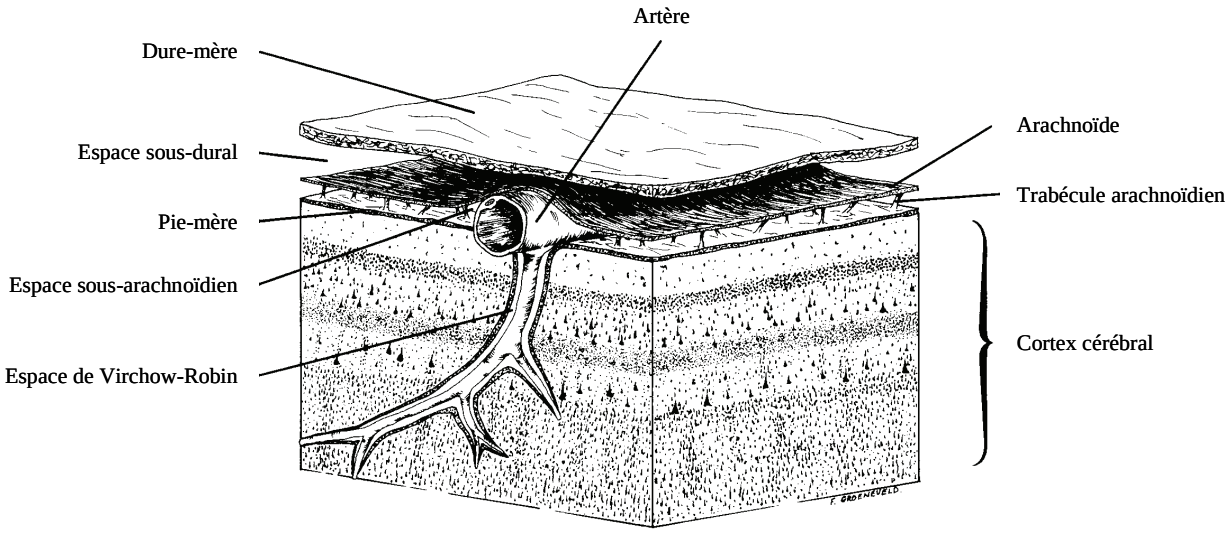


Figure 14 : Représentation du mode de pénétration des artérioles dans le cortex cérébral. D'après Edvinsson et MacKenzie, 2002.

1.2. Système capillaire

La microcirculation cérébrale présente plusieurs caractéristiques remarquables.

Tout d'abord, seules les ramifications les plus étroites des artérioles cérébrales plongent dans le cortex en formant un angle droit avec la surface. Ceci va engendrer une organisation verticale, dite « en colonne », de la microvascularisation. Ces ramifications donnent naissance à des capillaires assurant ainsi l'irrigation de toutes les couches de l'organisation de l'encéphale. Par ailleurs, la distribution des capillaires dans le système nerveux central n'est pas homogène. En effet, la densité capillaire ne semble pas être corrélée au nombre ou à la masse de neurones, mais plutôt au nombre de synapses d'une région du cerveau. De plus, comme la presque totalité des capillaires cérébraux (environ 90 %) sont perfusés en continu, cette densité capillaire semble donc être le reflet anatomique du métabolisme aérobie des cellules nerveuses (Edvinsson et MacKenzie, 2002). Ainsi, le cortex cérébral ayant des besoins en glucose et en oxygène plus importants que le cortex cérébelleux ou l'hypothalamus présente une densité capillaire nettement supérieure à ces derniers. Ce type de relation existe à l'intérieur même de certaines régions : la couche moléculaire de l'hippocampe tout comme la couche IV du cortex cérébral ayant une activité métabolique très élevée possèdent un réseau capillaire plus riche que les autres couches de ces mêmes régions (Edvinsson et MacKenzie, 2002).

Une autre caractéristique majeure de la microcirculation cérébrale concerne la structure même des vaisseaux capillaires. Les capillaires cérébraux sont constitués d'une couche simple de cellules endothéliales, de péricytes, d'une membrane basale et de pieds astrocytaires (Figure 15). Les cellules endothéliales sont ici dépourvues de fenestrations (caractéristiques des vaisseaux perméables), et établissent entre elles des jonctions serrées complexes (*zonula occludens*) empêchant ainsi toute diffusion de substance par les espaces intercellulaires (Stewart, 1997). La rareté des vésicules de pinocytose au niveau de ces cellules endothéliales limite également la diffusion transcellulaire des fluides. Les péricytes sont étroitement plaqués sur la surface externe des capillaires et recouvrent environ 25 % de cette surface. Bien que leur rôle ne soit pas encore clairement élucidé, on pense qu'ils pourraient phagocyter les substances ayant réussi à franchir les cellules endothéliales ou qu'ils pourraient être des précurseurs des cellules musculaires lisses (Stewart, 1997). Les péricytes et les cellules endothéliales sont entourés par une membrane basale commune. Les pieds astrocytaires recouvrent près de 99 % de la surface externe de ces capillaires. Ils permettent d'assurer la communication entre les cellules nerveuses et les cellules endothéliales (Pardridge, 1997).

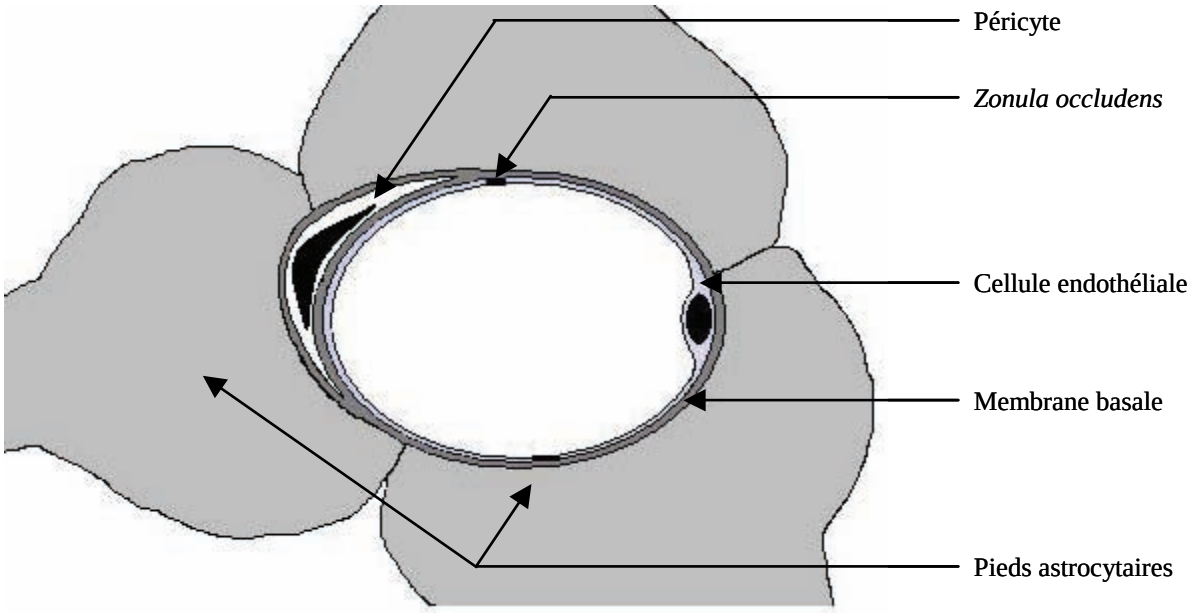


Figure 15 : Représentation de la structure d'un capillaire cérébral (coupe transversale). *Zonula occludens* : jonction serrée complexe entre les cellules endothéliales. D'après Stewart, 1997.

Cette structure particulière des capillaires cérébraux leur confère une certaine étanchéité permettant d'éviter au liquide cérébral interstitiel de subir les fluctuations de composition du sang circulant : c'est la barrière hémato-encéphalique. En effet, seules les molécules apolaires, avec un coefficient de liposolubilité élevé, pourront franchir relativement aisément cette barrière. Quant aux molécules polaires, dont certaines (comme le glucose, certains acides aminés ou encore des peptides circulant) sont essentielles au fonctionnement des neurones, elles ne pourront traverser cette barrière que par le biais de transporteurs spécifiques (Pardridge, 1997). En plus de cette composante physique, la barrière hémato-encéphalique s'enrichit d'une composante enzymatique et d'une composante d'efflux actif : les substances ayant réussi à franchir la barrière physique que constituent les cellules endothéliales et leurs *zonula occludens* seront soit dégradées par des ecto-enzymes situées à la surface externe des péricytes et des astrocytes, soit rejetées dans le courant sanguin par des transporteurs d'efflux actif. La composition chimique du liquide cérébral interstitiel reste donc relativement stable, assurant ainsi la protection et le maintien de conditions optimales pour le bon fonctionnement des neurones.

1.3. Système veineux

Le système veineux cérébral est constitué de trois groupes de veines : les veines corticales superficielles, localisées dans la pie-mère des méninges, en surface du cortex cérébral ; les veines centrales ou profondes situées à l'intérieur du cerveau ; et enfin, les sinus veineux prisonniers de la dure-mère (Sokoloff, 1997).

Le drainage du cortex cérébral est principalement assuré par les veines corticales superficielles. Deux veines sylviennes superficielles (une de chaque côté du cortex) prennent naissance au niveau de la surface des hémisphères cérébraux, suivent les fissures latérales et se jettent dans les sinus sphéno-pariétaux et caverneux (Figure 16). Ces veines sylviennes communiquent avec le sinus sagittal supérieur *via* les veines anastomotiques supérieures (ou grandes veines de Trolard) et également avec les sinus transverses *via* les veines anastomotiques inférieures (ou veines de Labbé). Les veines de la surface inférieure du lobe frontal vont se déverser dans les sinus caverneux et dans le sinus sagittal inférieur tandis que les veines superficielles des lobes temporaux aboutissent aux sinus transverses et aux sinus pétreux supérieurs (Edvinsson et MacKenzie, 2002).

Deux veines centrales (ou profondes ; une pour chaque hémisphère) vont drainer les régions plus profondes du cerveau (Sokoloff, 1997). Elles se dirigent vers la partie postérieure de l'encéphale où elles se rejoignent pour former la grande veine de Galen (Figure 16).

Le sang veineux cérébral est finalement drainé vers les grand sinus de la dure-mère. Le sinus sagittal supérieur qui se loge entre les deux hémisphères cérébraux est le plus important d'entre eux. Le sinus sagittal inférieur rejoint la grande veine de Galen pour former le sinus droit qui lui-même rejoint le sinus sagittal supérieur au niveau du confluent sinusal (Figure 16). De là partent les deux sinus transverses (droit et gauche) qui se prolongent par les sinus sigmoïdes. Ces derniers vont finalement se déverser dans la veine jugulaire interne (Figure 16). Enfin, les sinus pétreux supérieurs et inférieurs, qui collectent le sang en provenance du cervelet et de divers autres territoires, assurent la communication entre les sinus caverneux et les sinus transverses et sigmoïdes (Figure 16).

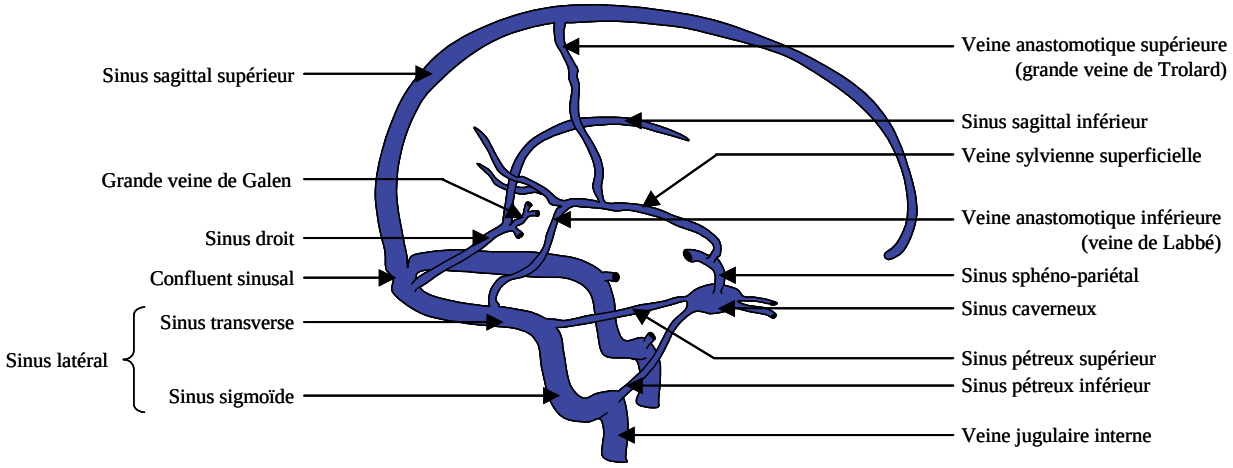


Figure 16 : Représentation des principales veines et des principaux sinus veineux de la circulation cérébrale. D'après Sokoloff, 1997.

En plus de ces nombreuses anastomoses et communications, les veines du cerveau sont également dépourvues de valvules (Sokoloff, 1997). Le sang peut donc y circuler librement dans les deux sens, sous l'influence de divers facteurs comme, par exemple, la position de la tête (Edvinsson et MacKenzie, 2002). L'absence de valvules et la présence de nombreuses anastomoses permettent d'équilibrer la pression veineuse dans les sinus et les veines superficielles assurant ainsi une nouvelle protection du cerveau contre l'ischémie. En effet, une interruption du débit sanguin dans une veine majeure de l'organisme (comme la

veine cave supérieure ou une des veines jugulaires internes) pourrait générer une augmentation de la pression intracrânienne, donc une compression du cerveau et finalement provoquer une ischémie. L'absence de symptômes lors d'une telle manipulation prouve l'efficacité de ce système (Sokoloff, 1997).

2. Autorégulation du débit sanguin cérébral

2.1. Définition de l'autorégulation du débit sanguin cérébral

En plus de l'anatomie particulière de ses vaisseaux sanguins, la circulation cérébrale possède une caractéristique fonctionnelle majeure qui lui permet d'assurer la constance de l'apport sanguin aux cellules neuronales : il s'agit de l'autorégulation du DSC. Celle-ci se définit comme étant la capacité intrinsèque du cerveau à maintenir son débit sanguin relativement constant et ce en dépit de variation aiguë de la pression de perfusion.

La pression de perfusion du cerveau correspond à la différence entre la pression artérielle et la pression intracrânienne. Cette dernière correspond à la somme de la pression veineuse et de la pression du liquide céphalo-rachidien qui s'opposent à l'arrivée du sang dans la boîte crânienne. Dans des conditions physiologiques normales, la pression intracrânienne est négligeable par rapport à la pression artérielle. La courbe d'autorégulation du DSC (Figure 17, courbe noire) se construit donc généralement en représentant le DSC (ou ses variations) en fonction de la pression artérielle moyenne.

L'autorégulation du DSC permet d'assurer la constance de l'apport en nutriments et en oxygène, éléments véhiculés par le sang artériel, au niveau des neurones malgré la variabilité tensionnelle.

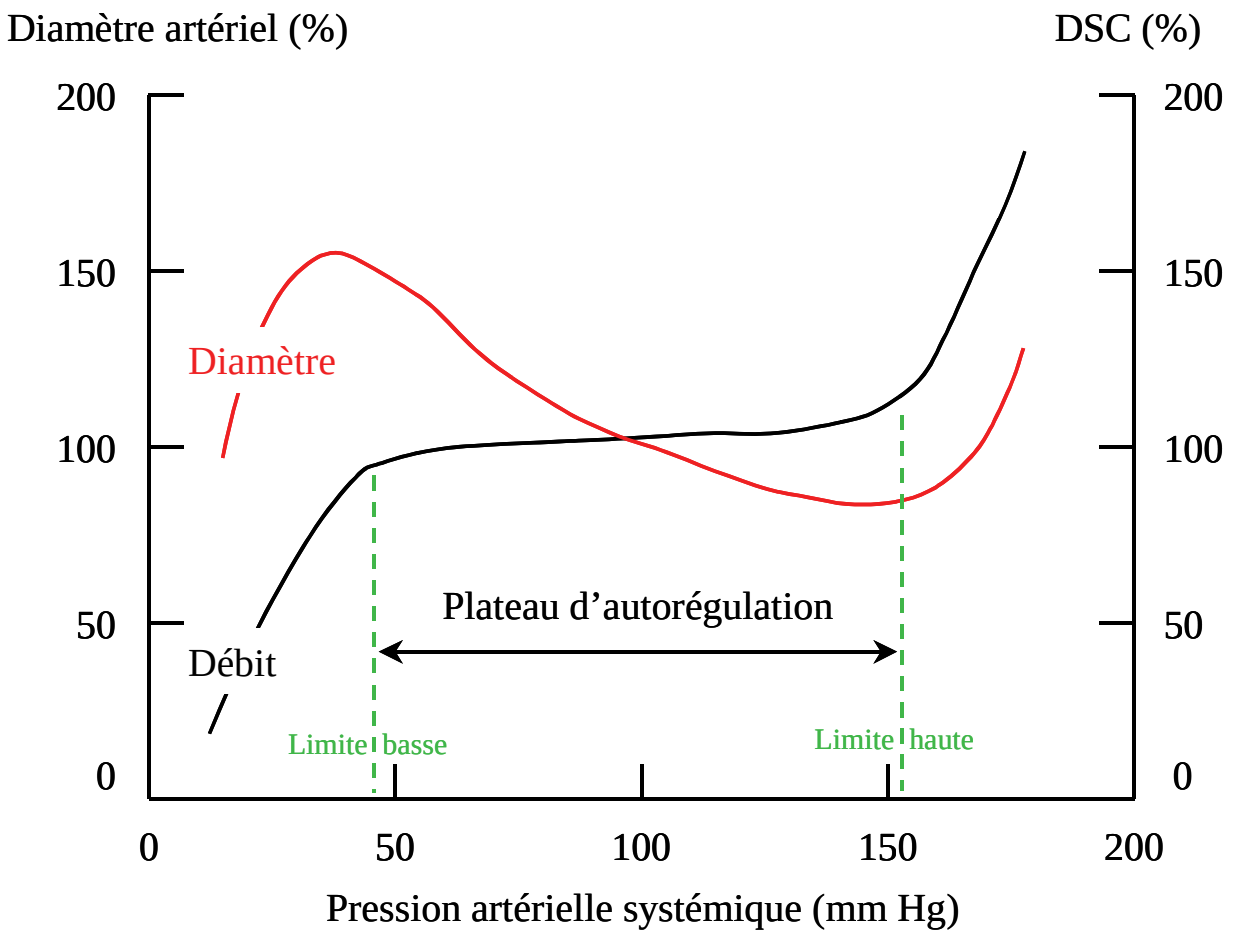


Figure 17 : Représentation de la courbe d'autorégulation du débit sanguin cérébral (courbe noire), et de l'évolution du diamètre des artères cérébrales (courbe rouge) chez un individu jeune normotendu. DSC : débit sanguin cérébral. Les valeurs de débit et de diamètre sont exprimées en pourcentage de la valeur de base. D'après Chillon et Baumbach, 1997.

Le plateau d'autorégulation est délimitée par deux bornes : la limite basse et la limite haute de l'autorégulation du DSC.

La limite basse de l'autorégulation du DSC (Figure 17) se définit comme étant la valeur de pression artérielle en dessous de laquelle le DSC diminue avec la pression. Lorsque la pression artérielle systémique devient inférieure à cette limite basse, la chute du DSC entraîne un épisode d'hypoperfusion cérébrale et une augmentation du coefficient d'extraction de l'oxygène (Chillon et Baumbach, 1997). Lorsque l'extraction de l'oxygène devient insuffisante pour satisfaire aux besoins des neurones, la perturbation du métabolisme neuronal entraîne l'apparition des premiers symptômes d'hypoperfusion cérébrale, tels que pâleur, vertiges ou attaques pouvant aboutir à une perte de conscience (Chillon et Baumbach, 1997).

Si cet épisode d'hypoperfusion reste bref, les effets seront minimes voire réversibles. En revanche, selon la sévérité de l'hypoperfusion, les effets pourront être particulièrement marqués, voire irréversibles en cas de mort neuronale. La valeur de la limite basse de l'autorégulation du DSC se situe généralement autour de 50 à 60 mm Hg chez l'homme ou l'animal normotendus (Paulson, *et al.*, 1990).

La valeur de la limite basse de l'autorégulation permet de déterminer un autre paramètre : la « marge de sécurité » de la circulation cérébrale. Cette marge de sécurité se définit comme étant le pourcentage dont peut varier la pression artérielle moyenne sans entraîner de diminution du DSC (Lartaud, *et al.*, 1993). Elle dépend donc, non seulement de la limite basse, mais également de la pression artérielle moyenne de vie de l'individu considéré. Si cette dernière est faible, et/ou si la valeur de la limite basse augmente, la marge de sécurité diminue, et inversement. Or, plus la marge de sécurité est faible, plus le risque d'hypoperfusion cérébrale augmente en cas de variation minime de la pression artérielle. Ce paramètre peut donc permettre de déterminer la plus ou moins grande susceptibilité d'un individu à subir des épisodes d'hypoperfusion cérébrale.

La limite haute de l'autorégulation du DSC se définit comme étant la valeur de pression artérielle au delà de laquelle le DSC augmente avec la pression (Figure 17). Si la pression d'un individu devient supérieure à cette limite haute, les conséquences de l'augmentation du DSC peuvent se révéler particulièrement délétères. Le dépassement de la limite haute de l'autorégulation risque de détériorer la barrière hémato-encéphalique. Une lésion de cette dernière peut engendrer un œdème cérébral (Chillon et Baumbach, 2002). Cet œdème peut lui-même entraîner une compression des vaisseaux sanguins aboutissant à une diminution du DSC. Les manifestations cliniques de cette forme d'encéphalopathie hypertensive se rapprochent donc de celles d'une ischémie cérébrale. La limite haute de l'autorégulation du DSC oscille entre 150 et 160 mm Hg chez les sujets normotendus, pour l'homme comme pour l'animal (Paulson, *et al.*, 1990).

2.2. Théorie segmentaire de l'autorégulation

L'extrapolation de la loi d'Ohm, appliquée aux vaisseaux, nous apprend que le DSC est égal au quotient de la pression de perfusion par la résistance cérébrovasculaire (R) (Hurn et Traystman, 1997). Comme nous l'avons vu plus haut, la pression de perfusion correspond à la pression artérielle moyenne de laquelle sont soustraites les pressions veineuse et extra-

luminale (pression du liquide céphalo-rachidien). Comme ces deux dernières sont négligeables par rapport à la pression artérielle moyenne systémique (PAM), la relation existant entre débit, pression et résistance peut s'écrire :

$$\mathbf{DSC = PAM / R}$$

Ainsi, la résistance cérébrovasculaire doit augmenter ou diminuer avec la pression artérielle pour permettre au DSC de rester relativement constant lors du plateau d'autorégulation. Or, la circulation cérébrale semblant être dépourvue de sphincters pré-capillaires (Edvinsson et MacKenzie, 2002), la régulation de la résistance de ce lit vasculaire ne peut se faire qu'au niveau artériel et/ou artériolaire.

La loi de Poiseuille (Poiseuille, 1828, citée par Hurn et Traystman, 1997), nous permet de calculer cette résistance cérébrovasculaire :

$$\mathbf{R = (8\eta L) / (\pi r^4)}$$

où η désigne la viscosité du sang, L la longueur du vaisseau et r son rayon. On constate donc que de très petites variations du rayon artériel ou artériolaire engendrent d'importantes variations de la résistance cérébrovasculaire.

Effectivement, lors d'une hypotension systémique, les artères et artérioles cérébrales se dilatent, ce qui entraîne une diminution des résistances cérébrovasculaires et permet donc au débit de rester stable (Figure 17). Inversement, au cours d'un épisode d'hypertension, ces mêmes vaisseaux se constrictent, augmentant par là-même la résistance et limitant l'augmentation du DSC (Figure 17).

Il convient cependant d'affiner ces observations. En effet, la réponse des artères et artérioles cérébrales à une hypotension se fait de manière séquentielle. Une étude réalisée sur le chat (Kontos, *et al.*, 1978b) a permis de montrer que les artères et artérioles cérébrales de gros diamètre (185 à 384 µm) commencent à se dilater dès le début de l'hypotension (de 130 à 120 mm Hg) induite soit par une hémorragie contrôlée soit par une administration intraveineuse d'ATP. Leur réponse à cette hypotension est supérieure à celle des vaisseaux de plus petit diamètre pour des pressions artérielles moyennes comprises entre 120 et 80 mm Hg (Figure 18). Les vaisseaux de taille moyenne (150 à 173 µm) ne dilatent significativement qu'à partir de 110 mm Hg, leur dilatation augmentant avec une réduction plus poussée de la

pression (Figure 18). Enfin, les artérioles de plus petit calibre (30 à 75 µm) ne dilatent de manière significative qu'à partir de 90 mm Hg, leur diamètre atteignant une taille maximale à 40 mm Hg (Figure 18). Des résultats similaires ont été observés dans d'autres modèles, notamment chez le rat anesthésié où l'hypotension était induite par hémorragie (Harper, *et al.*, 1984). Ces résultats montrent donc que la vasodilatation induite par l'hypotension dépend non seulement de la pression artérielle, mais aussi de la taille des vaisseaux considérés : les plus larges artères dilatent dès le début de l'hypotension, suivies progressivement par les artérioles de plus petit diamètre quand la pression diminue plus avant. On constate également que la limite basse de l'autorégulation du DSC (50 à 60 mm Hg) est atteinte avant que les artérioles les plus petites ne soient complètement dilatées.

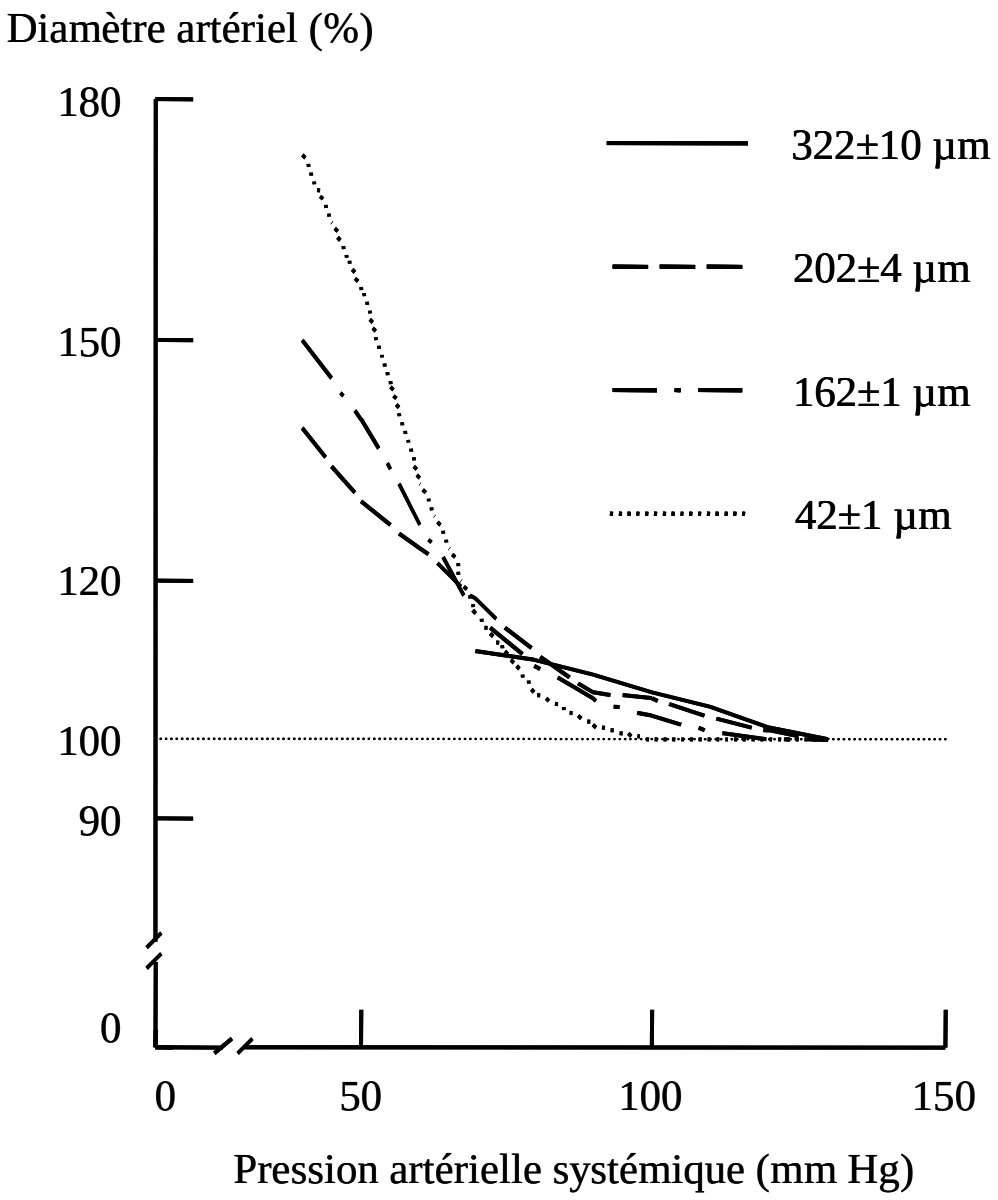


Figure 18 : Réponse des artères et artérioles cérébrales à l'hypotension. Les valeurs de diamètre sont exprimées en pourcentage de la valeur de base. D'après Kontos, *et al.*, 1978b.

A l'inverse, cette même étude de Kontos montre que l'autorégulation du DSC au cours d'une augmentation de la pression artérielle semble résider principalement au niveau des vaisseaux de gros calibres (Kontos, *et al.*, 1978b). En effet, les artères cérébrales de diamètre important (273 à 375 µm et 205 à 252 µm) se constrictent progressivement avec l'augmentation de pression, atteignant un diamètre minimal à 160-170 mm Hg. Au contraire, aucun changement de diamètre n'a pu être mis en évidence sur les artérioles de plus petit calibre (37 à 59 µm et 117 à 174 µm) avant d'atteindre des pressions de l'ordre de 170-190

mm Hg. Au delà de ces valeurs, on observe une dilatation par segment des artérioles, dite en « chapelet de saucisses ». Ce phénomène précède une dilatation forcée des vaisseaux, due à l'augmentation importante des contraintes exercées sur leurs parois, et l'élévation concomitante du DSC (au delà de la limite hausse) (Chillon et Baumbach, 2002).

2.3. Mécanismes de l'autorégulation du débit sanguin cérébral

Les mécanismes qui régissent ces vasodilatations et ces vasoconstrictions au cours de l'autorégulation du DSC ne sont pas encore clairement élucidés. Trois hypothèses ont été envisagées : l'hypothèse myogénique, l'hypothèse métabolique et l'hypothèse neurogénique.

2.3.1. Hypothèse myogénique

L'hypothèse myogénique de l'autorégulation du DSC suggère que le mécanisme sous-jacent aux variations de diamètre des artères et artérioles cérébrales en fonction de la pression artérielle met en jeu le réflexe myogénique.

Ce réflexe myogénique est la capacité qu'ont les variations de pression transmurale *per se* à induire une modification du diamètre du vaisseau considéré (Schubert et Mulvany, 1999). Ainsi, une diminution de la pression transmurale appliquée sur la paroi d'une artère induit très rapidement une vasodilatation de cette artère ; inversement, une augmentation de la pression transmurale entraîne une vasoconstriction réflexe (Schubert et Mulvany, 1999). La pression transmurale correspond à la pression générée par une force centrifuge de direction radiale et dépend directement de la pression artérielle dans le vaisseau considéré (la pression transmurale est égale à la différence entre la pression intravasculaire et la pression extravasculaire ; Milnor, 1989)

Le mécanisme exact par lequel l'application d'une force sur la paroi d'un vaisseau provoque cette vasoconstriction n'est pas encore complètement élucidé. Il est actuellement admis que le potentiel de membrane des cellules musculaires lisses augmente avec la pression intravasculaire (Figure 19, Panneau A) (Knot et Nelson, 1998 ; Wellman et Nelson, 2002). Cette dépolarisation induite par la pression transmurale s'accompagne d'une augmentation de $[Ca^{2+}]_i$ qui semble elle-même consécutive à l'ouverture des canaux calciques voltage-dépendants (Figure 19, Panneau B et C) (Knot et Nelson, 1998). Cette augmentation de $[Ca^{2+}]_i$ permet la contraction musculaire. Cependant, l'origine de cette dépolarisation

observée au niveau des cellules musculaires lisses est encore débattue, de même que la participation de nombreux messagers secondaires intracellulaires (IP_3, DAG, etc…) (Schubert et Mulvany, 1999). L'influence de l'endothélium sur ce réflexe myogénique est également controversée (cf. PARTIE 1 : II. 2.3.2.).

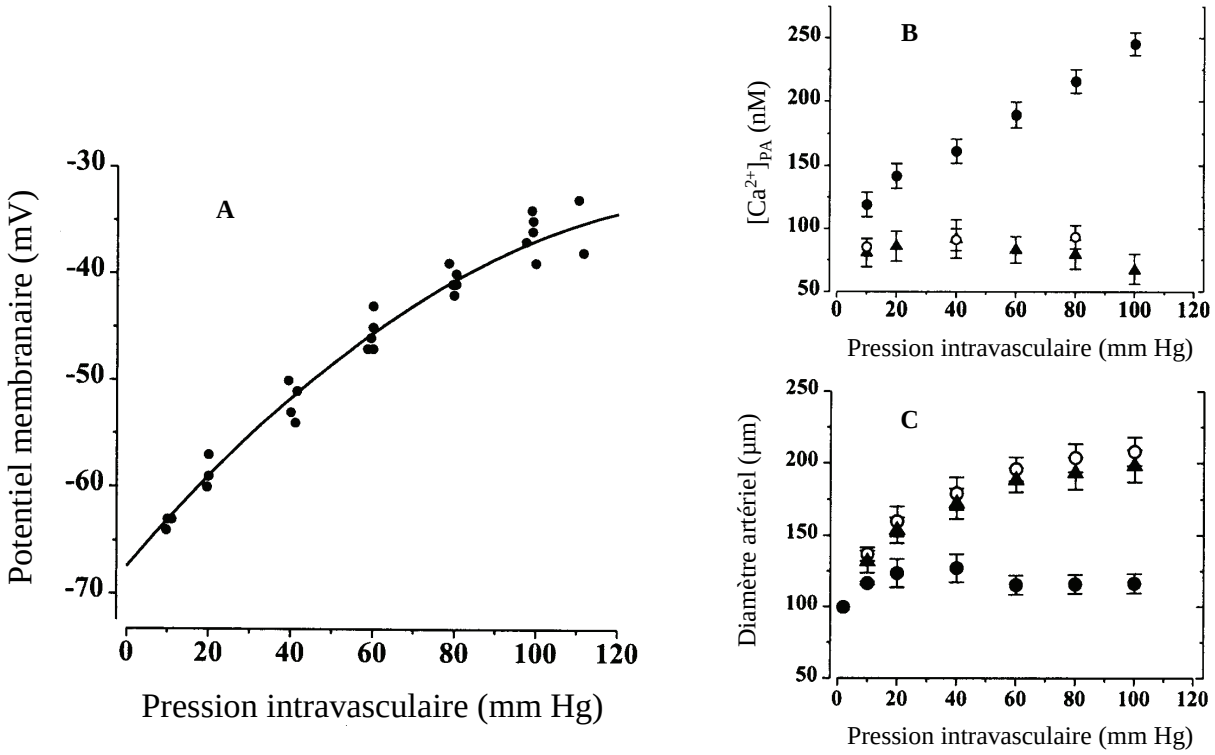


Figure 19 : Relation entre la pression intravasculaire et le potentiel membranaire dans des segments d'artères cérébrales isolés (Panneau A). Relation entre la pression intravasculaire et la concentration calcique de la paroi artérielle ($[Ca^{2+}]_{PA}$, Panneau B). Relation entre la pression intravasculaire et la diamètre des artères cérébrales (Panneau C). Panneau B et C : ● solution extracellulaire contrôle ; ▲ solution extracellulaire contenant de la nilsodipine ; ○ solution extracellulaire dépourvue de calcium. L'implication des canaux calciques voltage-dépendants dans le réflexe myogénique est démontré par la suppression de l'augmentation en $[Ca^{2+}]_{PA}$ et par l'absence de constriction en présence de nilsodipine (antagoniste des canaux calciques voltage-dépendants) ainsi qu'en absence de calcium dans la solution extracellulaire. D'après Knot et Nelson, 1998.

L'un des facteurs les plus probants en faveur d'un rôle du réflexe myogénique au cours de l'autorégulation du DSC est la rapidité de la réponse des artères et artérioles à une variation de pression. En effet, au cours d'une hypotension, la vasodilatation des artérioles

cérébrales débute dès les premières secondes qui suivent la réduction de la pression transmurale pour se stabiliser dans les 15 à 30 secondes (Symon, *et al.*, 1973 ; Kontos, *et al.*, 1978b). Cette rapidité de la mise en place de l'autorégulation est cohérente avec un mécanisme impliquant le réflexe myogénique, puisque celui-ci, comme nous l'avons vu, fait intervenir des canaux ioniques et que ces derniers engendrent des réponses cellulaires de l'ordre de la milliseconde à la seconde (Wellman et Nelson, 2002).

Cependant, certains résultats ne corroborent pas cette hypothèse. En effet, dans des études réalisées chez le chat (Wei et Kontos, 1982) et le chien (McPherson, *et al.*, 1988), les auteurs ont augmenté la pression veineuse jugulaire par occlusion de la veine cave supérieure. L'augmentation de la pression veineuse jugulaire engendre non seulement une diminution de la pression de perfusion cérébrale, mais également une augmentation des pressions intravasculaire et transmurale dans les artérioles cérébrales. Selon la théorie de l'autorégulation, la diminution de la pression de perfusion cérébrale devrait amener les artères et artérioles cérébrales à se dilater pour maintenir le DSC constant. En revanche, si le réflexe myogénique est effectivement le principal mécanisme régissant l'autorégulation du DSC, l'augmentation de la pression transmurale devrait au contraire aboutir à une constriction des artérioles cérébrales, qui s'avèrerait délétère en réduisant encore davantage le débit sanguin. Or, dans ces deux modèles animaux, les observations effectuées ont permis de montrer que les artères et artérioles cérébrales dilatent en réponse à l'augmentation de la pression veineuse jugulaire (Wei et Kontos, 1982 ; McPherson, *et al.*, 1988). Ces résultats de Wei et McPherson suggèrent donc que le réflexe myogénique n'est vraisemblablement pas le seul mécanisme impliqué dans l'autorégulation du DSC, du moins dans de telles conditions expérimentales.

Ces auteurs n'excluent toutefois pas totalement une contribution de ce réflexe myogénique à la vasodilatation induite par l'hypotension. Wei émet l'hypothèse que ce réflexe myogénique pourrait être prépondérant dans les situations où les influences métaboliques sont peu élevées, comme lors d'une diminution du métabolisme cérébral ou lors de l'étude *in vitro* des artères cérébrales (Wei et Kontos, 1982). Par ailleurs, ce réflexe myogénique pourrait maintenir un tonus basal optimal au niveau des cellules musculaires lisses de la paroi des artères et artérioles cérébrales, assurant ainsi la meilleure réponse possible à d'autres facteurs (métaboliques ou neurogéniques) lors de l'autorégulation (Osol et Halpern, 1985).

2.3.2. Rôle des cellules endothéliales

De nombreuses études se sont intéressées à la contribution des cellules endothéliales des artères cérébrales au phénomène d'autorégulation. Celles-ci pourraient, au cours du réflexe myogénique, capter les changements de pression transmurale et transmettre ces signaux aux cellules musculaires lisses.

Des études *in vitro* sur différents modèles d'artères cérébrales isolées (chez le chien ou le chat) ont en effet permis de montrer que la contraction des cellules musculaires lisses en réponse à une élévation de la pression transmurale dépendait d'une augmentation de la synthèse et/ou de la libération de prostaglandines par les cellules endothéliales (substances susceptibles d'activer les cellules musculaires lisses) (Katusic, *et al.*, 1987), voire de la production d'un facteur vasoconstrictant dérivé de l'endothélium (Harder, *et al.*, 1989). Cette production accrue de substances vasoconstrictrices serait d'autre part couplée à une diminution de la synthèse et de la libération de facteurs relaxants dérivés de l'endothélium (EDRF : « endothelium-derived relaxing factor ») (Rubanyi, *et al.*, 1990). Cependant, il a également été démontré qu'une élévation de la pression transmurale pouvait engendrer une constriction d'artères cérébrales postérieures de rats isolées, même en absence d'endothélium (McCarron, *et al.*, 1989). Ce dernier résultat va donc à l'encontre des précédents qui démontraient l'importance de l'endothélium dans les mécanismes de l'autorégulation.

Les études réalisées *in vivo* montrent elles-aussi des résultats contradictoires. Tanaka et Kobari, notamment, ont montré que l'inhibition aiguë de la synthèse du NO (le principal EDRF) perturbait les capacités d'autorégulation aussi bien chez le rat que chez le chat (Tanaka, *et al.*, 1993 ; Kobari, *et al.*, 1994). L'inhibition de la NOS induirait même une augmentation de la limite basse de l'autorégulation du DSC chez le rat (Jones, *et al.*, 1999b), suggérant que le NO, et donc l'endothélium, joue un rôle majeur dans la modulation de la vasodilatation induite par l'hypotension. De plus, la vasoconstriction constatée lors d'un épisode hypertensif semble être due à une libération accrue d'endothéline 1 et de prostaglandines (Martinez-Orgado, *et al.*, 1998). Ces résultats sont donc cohérents avec ceux obtenus *in vitro* et semblent démontrer l'importance du rôle des cellules endothéliales dans les processus d'autorégulation. Toutefois, comme pour les études *in vitro*, d'autres études *in vivo* tendent à prouver le contraire : Faraci a ainsi pu montrer qu'après lésion des cellules endothéliales, la vasodilatation endothélium-dépendante en réponse à l'acétylcholine ou à la

bradykinine était effectivement altérée, mais pas la vasodilatation induite par l'hypotension (Faraci, *et al.*, 1989). De même, plusieurs autres équipes ont pu prouver que l'inhibition de la NOS ne modifiait pas les capacités d'autorégulation du DSC chez le rat (Wang, *et al.*, 1992 ; Takahashi, *et al.*, 1995).

L'endothélium semble donc agir comme un capteur de pression transmurale, capable de relayer les modifications de pression vers les cellules musculaires lisses : soit par la libération de prostaglandines et/ou endothéline 1 en cas d'augmentation de cette pression transmurale ; soit par la libération de NO en cas de diminution. Cependant, le rôle de l'endothélium dans le fonctionnement du réflexe myogénique dépend visiblement des conditions expérimentales et l'importance des cellules endothéliales dans les processus d'autorégulation pourrait être subordonnée à d'autres facteurs, comme par exemple les facteurs métaboliques. Ceci expliquerait les divergences constatées sur les résultats expérimentaux.

2.3.3. Hypothèse métabolique

Contrairement à l'hypothèse myogénique, qui suppose que les variations de pression sont à l'origine de la dilatation ou de la constriction des artères cérébrales, l'hypothèse métabolique suggère que ce sont les variations du DSC qui vont déclencher ces processus d'autorégulation. Selon la théorie métabolique, une réduction locale du DSC entraînerait la libération de facteurs chimiques par les cellules du système nerveux central telles que les neurones ou les astrocytes (Chillon et Baumbach, 2002). Ces substances seraient susceptibles de provoquer une vasodilatation des artères et artérioles cérébrales. Plusieurs espèces chimiques ont été proposées comme médiateur potentiel de ce couplage entre débit sanguin et activité neuronale : l'anhydride carbonique (CO_2), les protons (H^+), l'oxygène (O_2), le potassium (K^+), le calcium (Ca^{2+}) ou encore l'adénosine (Kuschinsky et Wahl, 1978).

Parmi toutes ces substances, l'adénosine a été la plus étudiée. D'une part, celle-ci est susceptible d'induire une vasodilatation des artérioles cérébrales (Ngai et Winn, 1993), et d'autre part la concentration cérébrale de cette substance s'accroît quand la pression diminue, allant même jusqu'à augmenter d'un facteur 6 lors d'une hypotension sévère (Winn, *et al.*, 1980). En revanche, d'autres auteurs ont pu montrer que l'administration d'un antagoniste peu spécifique de l'adénosine (en l'occurrence la caféine) ne modifiait ni le plateau ni la limite basse de l'autorégulation (Phillis et DeLong, 1986 ; Phillis, 1989) ce qui rend donc peu

probable que l'adénosine puisse jouer un rôle prépondérant dans ce phénomène d'autorégulation (Kontos, 1985). De même, les ions tels que H^+ ou K^+ ne semblent pas être impliqués dans les processus d'autorégulation car ni le pH, ni la concentration en K^+ ne subissent de variations au cours d'une hypotension (Kuschinsky et Wahl, 1978).

Même si aucune des substances précédemment citées ne semble pour le moment être impliquée dans les mécanismes de l'autorégulation, la composante métabolique de ce phénomène existe et impliquerait un processus sensible à l'apport d'oxygène. En effet, la vasodilatation des artères cérébrales obtenue lors d'une chute de pression artérielle dépend apparemment de la diminution de la pression partielle en oxygène du tissu cérébral (Kontos, *et al.*, 1978a). De plus, la dilatation artériolaire et la diminution des résistances vasculaires cérébrales concomitante observées chez le chien anesthésié lors d'une augmentation de la pression veineuse (Wagner et Traystman, 1983) peuvent être complètement annihilées par une hyper-oxygénation locale des tissus (obtenue à l'aide de fluorocarbone saturé en oxygène) (Wei et Kontos, 1984).

Ainsi, la composante métabolique de l'autorégulation du DSC, bien que non encore clairement identifiée, semble dépendre directement de l'oxygénation des tissus. Si le DSC diminue, la pression partielle en oxygène diminue également ce qui, par un mécanisme qui reste à découvrir, provoque la dilatation des artères et artérioles cérébrales.

Une molécule, l'ATP (adénosine 5'-triphosphate), pourrait intervenir dans ce mécanisme (Figure 20). Cette substance est normalement produite par les mitochondries en présence d'oxygène. Une diminution de l'apport en O_2 entraînerait donc une diminution de la concentration intracellulaire en ATP. Or, cette molécule régit l'ouverture de certains canaux potassiques des cellules musculaires lisses (Nelson et Quayle, 1995), dont le rôle sera discuté un peu plus loin.

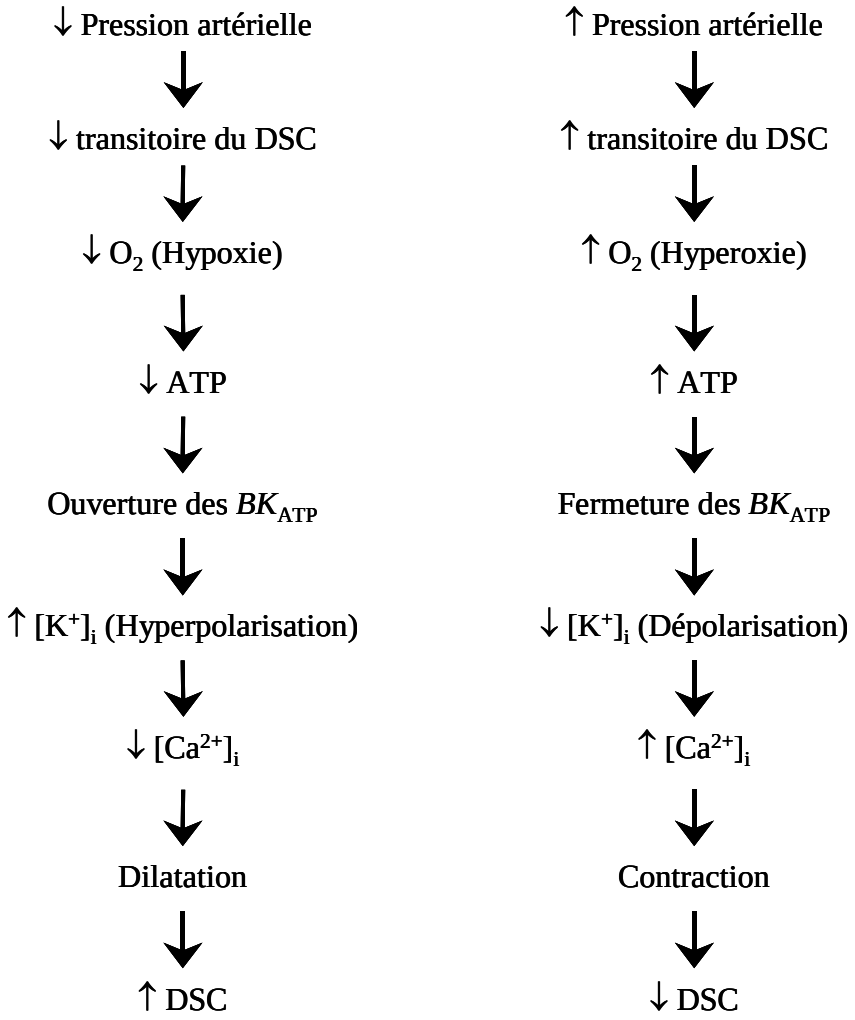


Figure 20 : Schéma de l'hypothèse métabolique du mécanisme de l'autorégulation du débit sanguin cérébral en réponse à l'hypotension (à gauche) ou à l'hypertension (à droite) impliquant l'ATP. DSC : débit sanguin cérébral ; ATP : adénosine 5'-triphosphate ; BK_{ATP} : canaux potassiques ATP-dépendant ; $[K^+]_i$: concentration intracellulaire en potassium ; $[Ca^{2+}]_i$: concentration intracellulaire en calcium.

2.3.4. Hypothèse neurogénique

Une autre mécanisme envisageable pour expliquer ce phénomène de l'autorégulation du DSC passe par l'existence d'une innervation des vaisseaux cérébraux intra et extra parenchymateux (Edvinsson, 1975). En effet, tous les segments vasculaires des artères et artérioles cérébrales sont innervés (Uddman et Edvinsson, 1989) par des fibres contenant des neurotransmetteurs de différentes classes chimiques, et des récepteurs de nombreux

neurotransmetteurs potentiels ont été mis en évidence sur les vaisseaux cérébraux (McCulloch et Edvinsson, 1984).

De nombreuses études ont permis de montrer que les systèmes sympathique et parasympathique n'interviennent vraisemblablement pas dans les mécanismes de l'autorégulation, mais plutôt dans la modulation de ce phénomène (Busija et Heistad, 1984 ; Paulson, *et al.*, 1990). Effectivement, chez l'animal, une dénervation sympathique ou parasympathique n'abolit pas l'autorégulation, tandis qu'une stimulation du système sympathique provoque un déplacement de la courbe d'autorégulation vers de plus fortes valeurs de pression artérielle (Paulson, *et al.*, 1990 ; Morita, *et al.*, 1994).

Un des neurotransmetteurs qui pourrait être impliqué dans l'autorégulation est le CGRP (« calcitonin gene-related peptide »). Les nerfs sensoriels issus du ganglion trijumeau et innervant les vaisseaux cérébraux contiennent ce neurotransmetteur ainsi que de la substance P et de la neurokinine (Brian, *et al.*, 1996). Or, le prétraitement de rats par de la capsaicine (molécule provoquant une déplétion du CGRP et de la substance P), ainsi que la superfusion des artères cérébrales avec des anticorps anti-CGRP, atténuent presque totalement la vasodilatation induite par une hypotension, laissant supposer que ce neurotransmetteur intervient dans les mécanismes de l'autorégulation (Hong, *et al.*, 1994). Cette action vasodilatatrice du CGRP semble passer par l'activation de certains canaux potassiques (Hong, *et al.*, 1994), dont le rôle sera discuté un peu plus loin. Cependant, une section du nerf trijumeau ne modifie pas les capacités d'autorégulation chez le chat (Edvinsson, *et al.*, 1986).

D'autres fibres nerveuses pourraient intervenir dans les mécanismes de l'autorégulation, et notamment les voies nerveuses issues ou passant par le noyau du tractus solitaire. Des auteurs ont rapporté qu'une lésion de ce noyau cérébral provoque chez le rat anesthésié une perte des capacités d'autorégulation. Cet effet ne serait du ni à une diminution du métabolisme ni à d'autres effets non spécifiques pouvant résulter de cette lésion (Ishitsuka, *et al.*, 1986).

Ainsi, l'innervation des vaisseaux cérébraux et l'action de certains neuromédiateurs pourraient contribuer aux mécanismes de l'autorégulation du DSC, bien que les fibres nerveuses impliquées ne soient pas encore clairement identifiées.

2.3.5. Importance des canaux potassiques

Le tonus des artères et artérioles cérébrales, et par conséquent leur diamètre, dépend du potentiel de membrane des cellules musculaires lisses. Or, ce sont principalement les canaux potassiques qui vont réguler ce potentiel membranaire (Nelson et Quayle, 1995). L'ouverture des canaux potassiques augmente le flux de potassium du milieu intracellulaire vers le milieu extracellulaire, provoquant une hyperpolarisation de la membrane. Cette hyperpolarisation entraîne la fermeture des canaux calciques voltage-dépendants et donc une diminution de l'entrée de calcium dans les cellules, ce qui aboutit finalement à la relaxation des cellules musculaires lisses (Nelson et Quayle, 1995). Une ouverture des canaux potassiques entraîne donc une vasodilatation des artères cérébrales. Inversement, si les canaux potassiques se ferment, la cellule se dépolarise, les canaux calciques s'ouvrent et les cellules musculaires lisses peuvent alors se contracter, provoquant une constriction des artères cérébrales. De nombreuses études se sont donc intéressées au rôle potentiel de ces canaux potassiques dans l'autorégulation du DSC.

Quatre types de canaux potassiques ont été identifiés sur les cellules musculaires lisses (Nelson et Quayle, 1995), dont deux semblent jouer un rôle dans les mécanismes de l'autorégulation du DSC : les canaux potassiques ATP-dépendants (BK_{ATP}) et les BK_{Ca} (Brian, *et al.*, 1996). Les BK_{ATP} se ferment quand la concentration intracellulaire en ATP augmente, tandis que les BK_{Ca} s'ouvrent lors de légères augmentations du calcium intracellulaire (Nelson et Quayle, 1995).

Nous avons vu précédemment que l'ATP pouvait être impliqué dans la théorie métabolique de l'autorégulation (cf. PARTIE 1 : II. 2.3.3.), une diminution de l'apport en O_2 induisant une diminution de la synthèse d'ATP par les mitochondries. Au niveau de cellules musculaires lisses, la diminution de la concentration intracellulaire en ATP qui découlerait d'une baisse de la pression partielle en O_2 aboutirait à l'ouverture des BK_{ATP} et donc à la vasodilatation des artérioles cérébrales (Figure 20). Par ailleurs, la dilatation des artères cérébrales en réponse au CGRP, neuromédiateur qui participerait aux mécanismes de l'autorégulation (PARTIE 1 : II. 2.3.4.), semble médiée par les BK_{ATP}. En effet, l'utilisation du glibenclamide, un antagoniste spécifique des BK_{ATP}, bloque la vasodilatation des artères cérébrales induites par le CGRP (Kitazono, *et al.*, 1993 ; Hong, *et al.*, 1994).

Une étude plus récente a permis de montrer que les BK_{ATP} sont impliqués dans la dilatation des artérioles cérébrales de petit diamètre au cours de l'autorégulation, mais n'interviennent pas dans la dilatation des artères de plus gros diamètre (Toyoda, *et al.*, 1997). Une autre étude montre que, au cours de l'hypotension, les BK_{ATP} et les BK_{Ca} seraient activés par la libération de prostaglandines et d'AMPc ; ils participeraient donc tous les deux à la dilatation observée au cours de l'autorégulation (Armstead, 1999). Les BK_{Ca} seraient également impliqués dans la dilatation « forcée » des artérioles cérébrales observées lors du franchissement de la limite haute de l'autorégulation au cours d'un épisode hypertensif (Paterno, *et al.*, 2000). Ce dernier point permet de penser que la dilatation « forcée » des artérioles cérébrales lors d'un épisode hypertensif n'est pas simplement une réponse passive des vaisseaux, mais qu'elle dépende également d'une composante active.

Il apparaît donc que, quelle que soit l'hypothèse envisagée, les canaux potassiques des cellules musculaires lisses des artères cérébrales participent aux mécanismes de l'autorégulation du DSC.

2.3.6. Conclusion

Les mécanismes sous-jacents de l'autorégulation du DSC ne sont donc pas encore complètement élucidés. Les trois hypothèses ayant été envisagées à l'heure actuelle (hypothèse myogénique, métabolique et neurogénique) ont toutes permis d'expliquer certains phénomènes, mais ont également rapidement montrer leurs limites respectives. Les contributions de l'endothélium et des canaux potassiques à l'autorégulation semblent maintenant à peu près admises, même si certains résultats restent encore en porte-à-faux. La contradiction apparente de ces résultats peut parfois s'expliquer par des différences de modèles ou de conditions expérimentales.

Au final, aucune de ces trois hypothèses ne semble prépondérante par rapport aux deux autres. Il est vraisemblable de penser que ces trois théories se révèlent exactes et que c'est l'intégration de ces différents signaux qui va permettre la mise en place de l'autorégulation (Figure 21).

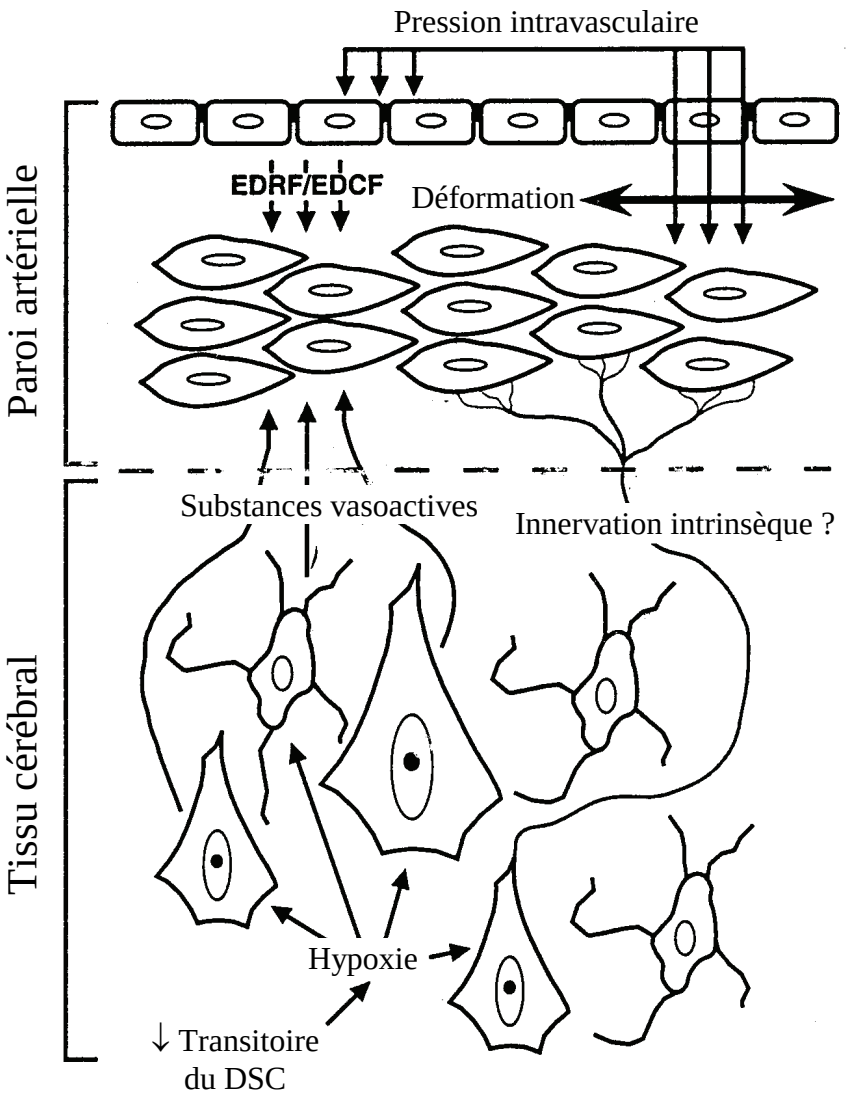


Figure 21 : Schéma des différents mécanismes potentiellement impliqués dans l'autorégulation du débit sanguin cérébral. DSC : débit sanguin cérébral ; EDRF : facteur vasorelaxant dérivé de l'endothélium ; EDCF : facteur vasoconstrictant dérivé de l'endothélium. D'après Chillon et Baumbach, 1997.

3. Débit sanguin cérébral, hypertension et système rénine angiotensine aldostérone

Comme nous l'avons vu précédemment, le DSC est égal au quotient de la pression artérielle moyenne par la résistance cérébrovasculaire. Or, une des caractéristiques fondamentales de l'hypertension artérielle est l'augmentation des résistances périphériques (Folkow, *et al.*, 1958). Ainsi, cette augmentation des résistances concomittante à l'élévation de la pression artérielle assure le maintien d'un DSC basal identique entre des individus normotendus et hypertendus (Hafkenschiel, *et al.*, 1954 ; Tominaga, *et al.*, 1976).

Cependant, bien que le DSC basal soit équivalent, les patients hypertendus montrent une tolérance moindre à des procédures telles qu'une hypotension contrôlée induite par le trimetaphan (un ganglioplégique) et un passage en position verticale (Strandgaard, 1976). Cette moindre tolérance des patients hypertendus à l'hypotension s'explique par un déplacement du plateau de la courbe d'autorégulation du DSC vers de plus fortes valeurs de pression artérielle (Figure 22). En effet, Strandgaard a pu montrer que la limite basse et la limite haute de l'autorégulation du DSC correspondent à des valeurs de pression supérieures chez des patients hypertendus par rapport à des témoins normotendus (Strandgaard, *et al.*, 1973 ; Strandgaard, 1976). Ces observations cliniques ont été confirmées en parallèle dans un modèle d'hypertension rénovasculaire chez le singe, où le plateau d'autorégulation est également déplacé vers des valeurs de pression artérielle plus élevées (Strandgaard, *et al.*, 1975 ; Jones, *et al.*, 1976). Une augmentation de la limite basse de l'autorégulation du DSC a également pu être observée dans un modèle génétique de rats hypertendus, les rats SHR (Fujishima et Omae, 1976 ; Bray, *et al.*, 1991). Enfin, le déplacement du plateau de l'autorégulation du DSC au cours de l'hypertension artérielle n'est pas symétrique : en effet, le déplacement de la limite basse semble moins important que le déplacement de la limite haute (Figure 22) (Harper et Bohlen, 1984). Cette asymétrie du décalage de la courbe d'autorégulation au cours de l'hypertension pourrait être due à des modifications de la distensibilité des vaisseaux, comme nous l'évoquerons par la suite (cf. PARTIE 1 : III. 4.3.).

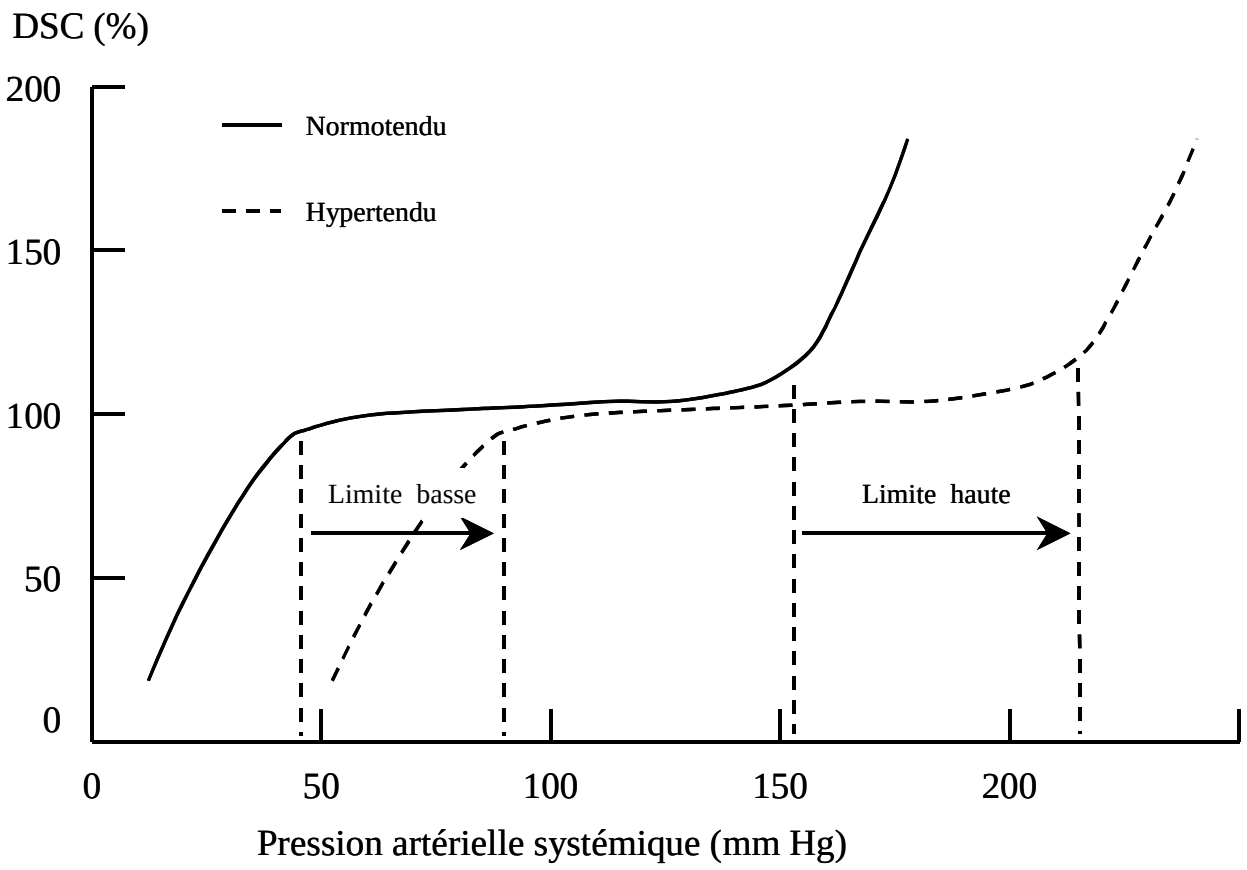


Figure 22 : Evolution de la courbe d'autorégulation du débit sanguin cérébral au cours de l'hypertension artérielle chronique.

L'augmentation de la limite basse de l'autorégulation du DSC chez les patients hypertendus étant associée à une élévation de la pression artérielle moyenne, elle n'entraîne pas de modification de la marge de sécurité cérébrovasculaire. Cependant, une diminution de la marge de sécurité, et des risques d'hypoperfusion cérébrale pourraient survenir lors de l'administration d'un traitement anti-hypertenseur. En effet, si celui-ci induit une diminution de la pression artérielle sans redéplacer la courbe d'autorégulation du DSC vers de plus faibles valeurs de pression, la marge de sécurité serait diminuée proportionnellement à l'effet du traitement sur la pression artérielle. Cette réduction de la marge de sécurité augmenterait les risques d'hypoperfusion et d'ischémie cérébrale et pourrait entraîner des dommages cérébraux et l'apparition de troubles cognitifs (Atkinson, 2001).

Or, les médicaments agissant sur le système rénine angiotensine aldostérone semblent susceptibles de modifier la courbe de l'autorégulation du DSC. Ainsi, le captopril, un IEC, administré par voie intraveineuse en aigu est capable de diminuer les limites basse et haute de

l'autorégulation du DSC (Barry, *et al.*, 1984). En revanche, lors d'une administration directe au niveau des ventricules cérébraux, le captopril n'a pas d'effet sur l'autorégulation (Jarden, *et al.*, 1984). Ces résultats suggèrent que le système rénine angiotensine aldostérone cérébral n'intervient pas dans le contrôle de l'autorégulation, mais que la production locale au niveau de la paroi des artères et artérioles cérébrales pourrait jouer un rôle important (Jarden, *et al.*, 1984).

Ainsi, il apparaît que l'hypertension artérielle modifie les capacités d'autorégulation du DSC. Le système rénine angiotensine semble par ailleurs jouer un rôle important dans la régulation de cette autorégulation et l'utilisation de médicaments bloquant ce système permet de restaurer une autorégulation du DSC en adéquation avec la diminution de la pression artérielle qu'ils engendrent, du moins lors d'une administration aiguë.

Nous avons vu que l'augmentation des résistances cérébrovasculaires au cours de l'hypertension permet de maintenir le DSC constant malgré l'augmentation de la pression artérielle, mais au prix d'un déplacement de la courbe d'autorégulation vers de plus fortes valeurs de pression. Plusieurs facteurs peuvent contribuer à la diminution de diamètre interne et donc à l'augmentation des résistances périphériques et au déplacement de la limite basse. Des modifications fonctionnelles telles qu'une augmentation du tonus basal des artérioles de résistance ou une altération de la fonction endothéliale ont été décrites (Mayhan, *et al.*, 1987). Cependant, au cours de cette thèse, nous nous intéresserons plus particulièrement aux modifications structurales des artérioles cérébrales qui, selon notre hypothèse de travail, seraient le principal déterminant de la diminution de diamètre interne des artérioles cérébrales et donc de l'augmentation des résistances cérébrovasculaires. Dans le chapitre suivant, nous allons donc décrire les altérations structurales et mécaniques des artérioles cérébrales observées au cours de l'hypertension artérielle. Nous tenterons de voir quels sont les mécanismes pouvant être à l'origine de ces altérations, en détaillant plus particulièrement le rôle que pourrait jouer le système rénine angiotensine aldostérone.

III. ALTERATIONS STRUCTURALES ET MECANIQUES DES ARTERIOLES CEREBRALES AU COURS DE L'HYPERTENSION

L'hypertension artérielle chronique est associée, aussi bien sur des modèles animaux (Folkow, *et al.*, 1973) que chez l'homme (Korner, *et al.*, 1973), à une augmentation des résistances périphériques. Les travaux de Folkow et Lundgren ont permis de montrer qu'une relaxation pharmacologique des cellules musculaires lisses ne permettait pas d'abolir complètement cette élévation des résistances vasculaires, et que par conséquent, une des composantes majeures de cette augmentation est d'origine structurale et non fonctionnelle (Folkow, *et al.*, 1973 ; Lundgren, *et al.*, 1974). Ces altérations structurales des artères et artérioles supposent donc un « remodelage » de la paroi de ces vaisseaux, c'est à dire à une modification quantitative et/ou qualitative de leur composition qui entraîne une variation de leur diamètre interne. Ce remodelage se caractérise par une augmentation du rapport entre l'épaisseur de la paroi et le diamètre interne du vaisseau considéré. Dans un premier temps, l'élévation de ce rapport a été attribuée exclusivement à une hypertrophie de la paroi, se développant de manière centripète (vers l'intérieur de l'artère) et aboutissant à une diminution du diamètre interne (Folkow, *et al.*, 1958 ; Folkow, *et al.*, 1973 ; Folkow, 1978). Cependant, des travaux plus récents ont permis de distinguer deux processus distincts pouvant être à

l'origine de cette augmentation du rapport épaisseur pariétale/lumière (Baumbach et Heistad, 1989 ; Heagerty, *et al.*, 1993). Ces deux processus ont été définis sous les noms de 1) remodelage hypertrophique centripète et 2) remodelage eutrophique centripète (Mulvany, *et al.*, 1996). Comme nous le verrons, la définition du remodelage eutrophique centripète repose sur l'absence d'une rigidification de la paroi artérielle. Or, les modifications des caractéristiques mécaniques de la paroi artériolaire observées au niveau des artérioles cérébrales au cours de l'hypertension artérielle montrent une augmentation de leur distensibilité.

Dans ce chapitre, nous nous intéresserons donc aux remodelages hypertrophique et eutrophique des artérioles cérébrales, ainsi qu'aux modifications des caractéristiques mécaniques de leur paroi, consécutifs à l'hypertension artérielle chronique.

1. Définitions et importances relatives des remodelages hypertrophique et eutrophique

1.1. Définitions des termes

D'après les définitions de Mulvany et coll., le terme de « remodelage » ne doit s'appliquer qu'aux situations pour lesquelles on observe une modification du diamètre interne d'un vaisseau lorsque celui-ci est entièrement relaxé et placé dans des conditions de pression intra-luminale déterminées. Par ailleurs, le terme de remodelage ne doit pas être employé lorsque les modifications de diamètre interne observées peuvent être attribuées à une modification des caractéristiques mécaniques du vaisseau considéré (modification de la rigidité notamment) (Mulvany, *et al.*, 1996). Le terme « remodelage hypertrophique » doit correspondre aux situations où l'augmentation du rapport épaisseur pariétale/diamètre interne est due à une augmentation de la quantité de matériel constitutif de la paroi (Mulvany, *et al.*, 1996). Enfin, le terme « centripète » est réservé aux situations dans lesquelles le diamètre interne est diminué (Mulvany, *et al.*, 1996). Ainsi, le remodelage hypertrophique centripète correspond à une situation où le diamètre interne est diminué suite à une augmentation quantitative des différents constituants de la paroi, se développant du côté luminal du vaisseau considéré (Figure 23).

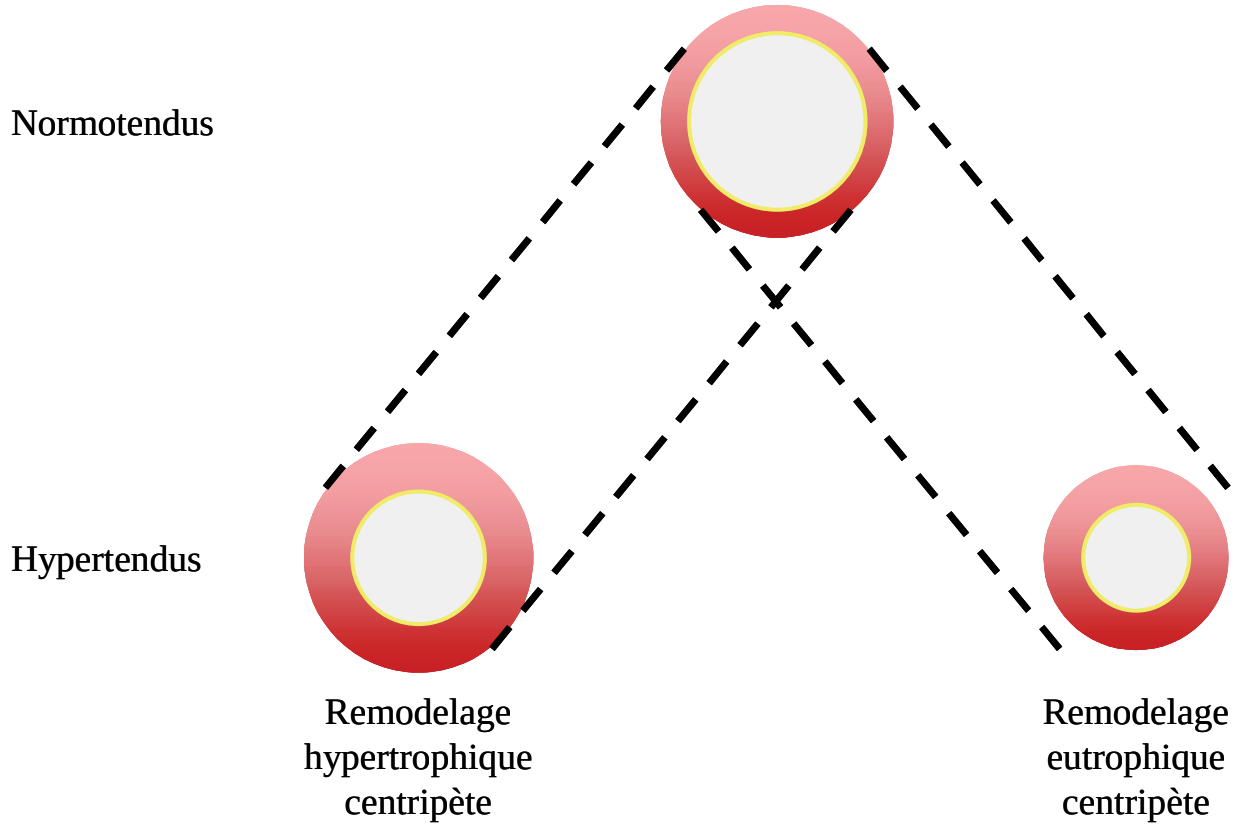


Figure 23 : Schéma de coupes transversales d'artères représentant le remodelage hypertrophique centripète et le remodelage eutrophique centripète au cours de l'hypertension artérielle.

Le remodelage eutrophique centripète est le deuxième type d'altération structurale susceptible d'induire une augmentation du rapport épaisseur pariétale/diamètre interne au cours de l'hypertension artérielle chronique. D'après les définitions établies par Mulvany (Mulvany, *et al.*, 1996), le terme de remodelage eutrophique centripète ne peut s'appliquer qu'aux situations dans lesquelles la réduction de diamètre interne du vaisseau considéré est observée après relaxation complète et ne peut être attribuée ni à une augmentation de la rigidité de sa paroi, ni à une modification du volume de la media, c'est à dire de la quantité totale de matériel constitutif de sa paroi (ce qui exclut donc hypertrophie et hypotrophie). Ainsi, lorsque les artères ou artérioles subissent un remodelage eutrophique centripète, la réduction de leur diamètre interne s'accompagne obligatoirement d'une réduction de leur diamètre externe (Figure 23). Ce type de remodelage suppose donc que les différents constituants de la paroi se réarrangent autour d'un diamètre externe plus petit, sans qu'il y ait synthèse ou dégradation, ou bien qu'une synthèse *de novo* de matériel au niveau interne de la

paroi soit contrebalancée par une dégradation accrue du côté externe (cf. PARTIE 1 : III. 3.1.1.).

1.2. Contribution relative des deux types de remodelage à la diminution de de diamètre interne

Le remodelage hypertrophique et le remodelage eutrophique centripète coexistent et participent donc tous les deux à l'augmentation du rapport épaisseur pariétale/diamètre interne. Cependant, leurs participations relatives à la réduction du diamètre interne du vaisseau considéré peuvent varier considérablement.

1.2.1. Importance relative du remodelage hypertrophique

Le remodelage hypertrophique centripète semble être prépondérant dans les modèles d'hypertension sévère (pression artérielle moyenne supérieure à 180 mm Hg) avec activation du système endothéline (Intengan et Schiffrin, 2000). Cela correspond notamment aux modèles d'hypertension rénale sévère (1 rein, 1 clip) (Korsgaard et Mulvany, 1988) ou aux rats rendus hypertendus par un traitement à l'acétate de déoxycorticostérone et un régime hypersalé (rats DOCA-salt) (Deng et Schiffrin, 1992a ; Larivière, *et al.*, 1993b) ou encore aux rats SHRSP (Intengan et Schiffrin, 2000), mais pas aux rats SHR (Larivière, *et al.*, 1993a).

Chez l'homme, le remodelage hypertrophique centripète est notamment présent au niveau des artérioles de résistance sous-cutanées de patients souffrant d'hypertension rénovasculaire (Rizzoni, *et al.*, 1996 ; Rizzoni, *et al.*, 2000b). Les travaux de Baumbach et coll. ont permis d'observer grâce à la technique de la fenêtre crânienne, que les artérioles cérébrales subissent un remodelage hypertrophique centripète dans différents modèles murins d'hypertension artérielle chronique : des modèles génétiques d'hypertension comme les rats SHR (Baumbach et Hajdu, 1993), les rats SHRSP (Baumbach et Heistad, 1989) ou les souris BPH-2 (Baumbach, *et al.*, 2003), mais également dans des modèles non génétiques comme des modèles d'hypertension rénale (rats Sprague-Dawley 1 rein, 1 clip) (Baumbach et Hajdu, 1993) ou d'hypertension induite par le L-NAME (N^{ϖ}-nitro-L-arginine methyl ester, un inhibiteur de la NOS) chez des rats WKY (Chillon et Baumbach, 2004) ou des souris C57BL/6J (Baumbach, *et al.*, 2004).

Une méthode permettant de calculer la contribution relative du remodelage hypertrophique centripète à la diminution du diamètre interne de l'artère considérée a été proposée par Baumbach et Heistad et reprise par Heagerty et coll. (Baumbach et Heistad, 1989 ; Heagerty, *et al.*, 1993). Le principe de cet indice de remodelage hypertrophique consiste à déterminer le diamètre interne qu'auraient les artères ou artérioles des individus hypertendus en absence de remodelage eutrophique. Cela revient donc à calculer une valeur de diamètre interne à partir des valeurs de diamètre externe des individus normotendus et des valeurs d'épaisseur de la paroi des individus hypertendus (Baumbach et Heistad, 1989) :

$$\mathbf{DI_{cal} = DE_{NT} - 2h_{HT}.}$$

$$\textbf{Indice de remodelage hypertrophique : } \mathbf{100 \times (DI_{NT} - DI_{cal}) / (DI_{NT} - DI_{HT})}$$

DI_{cal} : diamètre interne calculé
DE_{NT} : diamètre externe des individus normotendus
h_{HT} : épaisseur pariétale des individus hypertendus
DI_{NT} : diamètre interne des individus normotendus
DI_{HT} : diamètre interne des individus hypertendus.

Selon les modèles d'hypertension et les lits vasculaires considérés, l'indice de remodelage hypertrophique centripète oscille entre 0 et 30 % (Heagerty, *et al.*, 1993). Ainsi, au niveau des artérioles cérébrales de rats SHRSP, le remodelage hypertrophique centripète est responsable de la diminution de diamètre interne à hauteur de 24 % (les 76 % restant étant dus au remodelage eutrophique centripète) (Baumbach et Heistad, 1989).

1.2.2. Importance relative du remodelage eutrophique centripète

Le remodelage eutrophique centripète ne semble se développer qu'au niveau des artères et artérioles de résistance puisque la littérature ne fait état, à l'heure actuelle, d'aucune étude ayant mis en évidence un tel remodelage au niveau d'artères de conductance telles que l'aorte.

Le remodelage eutrophique a été décrit pour la première fois au niveau des artérioles cérébrales de rats SHRSP (Baumbach et Heistad, 1989). Par la suite, le remodelage eutrophique centripète a été observé, toujours au niveau des artérioles cérébrales, dans

d'autres modèles expérimentaux d'hypertension chronique : dans des modèles génétiques comme les rats SHR (Baumbach et Hajdu, 1993) ou les rats Dahl S/JR (Ghoneim, *et al.*, 1995), mais également dans des modèles non génétiques d'hypertension tels que l'hypertension induite par le L-NAME chez des rats WKY (Chillon et Baumbach, 2004). Le remodelage eutrophique est également observé au niveau des artères de résistance mésentériques ou crémasteriennes dans un modèle d'hypertension urémique induite par une néphrectomie quasi-totale chez des rats WKY (New, *et al.*, 2004). Chez l'homme, cette forme de remodelage est également présente chez les patients souffrant d'hypertension essentielle, notamment au niveau des artères et artérioles de résistance sous-cutanées (Korsgaard, *et al.*, 1993).

Comme nous l'avons déjà évoqué précédemment, les deux formes de remodelage, eutrophique et hypertrophique, coexistent dans la plupart des modèles expérimentaux ou cliniques d'hypertension artérielle. Cependant, de ces deux altérations structurales, le remodelage eutrophique centripète contribue davantage à la diminution du diamètre interne que le remodelage hypertrophique et représente donc le déterminant majeur de l'élévation des résistances périphériques.

Comme pour l'hypertrophie, il est possible de calculer un indice de remodelage eutrophique pour évaluer la contribution de ce dernier à la réduction de diamètre interne (Baumbach et Heistad, 1989 ; Heagerty, *et al.*, 1993). Le principe de cet indice de remodelage eutrophique consiste à déterminer le diamètre interne qu'auraient les artères ou artérioles des individus hypertendus en absence de remodelage hypertrophique. Cela revient donc à calculer une valeur de diamètre interne à partir des valeurs de diamètre externe des individus hypertendus et des valeurs d'épaisseur de la paroi des individus normotendus (Baumbach et Heistad, 1989) :

$$\mathbf{DI_{cal} = DE_{HT} - 2h_{NT}}$$

$$\textbf{Indice de remodelage eutrophique : } \mathbf{100 \times (DI_{NT} - DI_{cal}) / (DI_{NT} - DI_{HT})}$$

DI_{cal} : diamètre interne calculé

DE_{HT} : diamètre externe des individus hypertendus

h_{NT} : épaisseur pariétale des individus normotendus

DI_{NT} : diamètre interne des individus normotendus

DI_{HT} : diamètre interne des individus hypertendus.

Le calcul de l'indice de remodelage eutrophique montre que celui-ci est responsable à hauteur de 76 % de la réduction du diamètre interne des artérioles cérébrales de rats SHRSP (Baumbach et Heistad, 1989). Dans d'autres modèles expérimentaux d'hypertension génétique ou d'autres lits vasculaires, l'indice de remodelage eutrophique peut varier de 70 à 96 % (Heagerty, *et al.*, 1993). De même, chez les patients hypertendus, cet indice peut osciller entre 62 et 100 % (Heagerty, *et al.*, 1993). L'hypertension artérielle essentielle induit des indices de remodelage eutrophique plus élevés que les formes d'hypertension secondaire (Mulvany, 2002 ; Rizzoni, *et al.*, 2000b ; Rizzoni, *et al.*, 1996 ; Rizzoni, *et al.*, 2004).

Ainsi, le remodelage eutrophique centripète semble être l'altération structurale prépondérante des artères et artérioles cérébrales, qui contribue le plus à la réduction de leur diamètre interne. L'importance relative du remodelage eutrophique centripète semble d'autant plus grande dans les formes relativement modérées d'hypertension avec activation du système rénine angiotensine aldostérone (rats SHR) ou dans l'hypertension artérielle essentielle chez l'homme (Intengan et Schiffrin, 2000). En effet, dans ces situations, l'indice de remodelage eutrophique varie entre 90 et 100 %. Il apparaît donc capital de connaître les déterminants de ce remodelage eutrophique et d'en comprendre les mécanismes afin de pouvoir guérir ou prévenir les altérations structurales consécutives à l'hypertension.

2. Remodelage hypertrophique centripète

2.1. Hypothèses mécanistiques

De très nombreux travaux ont mis en évidence une augmentation de l'épaisseur pariétale au cours de l'hypertension artérielle chronique, aussi bien au niveau des artères de gros calibre (Wolinsky, 1970 ; Wiener, *et al.*, 1977 ; Olivetti, *et al.*, 1980) que des artères de résistance (Ichijima, 1969 ; Warshaw, *et al.*, 1979 ; Baumbach et Heistad, 1989). Ces travaux ont également établi que l'hypertrophie pariétale observée est consécutive à un épaississement de la media des artères et artérioles et plus particulièrement à une augmentation du volume occupé par les cellules musculaires lisses. Cependant, il convient de différencier l'hypertrophie des artères de conductance (aorte, etc…) de celle des artères de résistance (artères mésentériques ou artérioles cérébrales par exemple).

En effet, au niveau des artères de gros calibre comme l'aorte, l'hypertrophie pariétale serait due à une augmentation de la taille des cellules musculaires lisses (hypertrophie cellulaire) plutôt qu'à une hyperplasie (augmentation du nombre des cellules musculaires lisses) (Owens, *et al.*, 1981). L'hypertrophie pariétale observée au cours de l'hypertension artérielle chronique s'expliquerait par une augmentation de la fréquence et du volume des cellules polyploïdes (contenant plusieurs noyaux cellulaires) (Owens et Schwartz, 1982). A contrario, l'hypertrophie pariétale observée sur les artères de plus petit calibre, comme les artères de résistance mésentériques, serait consécutive à une prolifération des cellules musculaires lisses et donc à une hyperplasie (Lee, *et al.*, 1983b ; Lee, *et al.*, 1983a ; Mulvany, *et al.*, 1985 ; Owens, *et al.*, 1988).

Au niveau des artérioles cérébrales, les résultats obtenus chez les rats SHR et SHRSP montrent que l'hypertrophie pariétale est due à une augmentation de la masse de cellules musculaires lisses et d'élastine, tandis que les quantités de collagène, de membrane basale ou d'endothélium ne varient pas (Baumbach et Hajdu, 1993 ; Baumbach, *et al.*, 1988) (Figure 24). Les artérioles cérébrales pouvant être classées parmi les artères de résistance, il semble vraisemblable que l'hypertrophie de leur paroi, induite par l'hypertension, soit due à une hyperplasie cellulaire, plutôt qu'à une augmentation du volume des cellules musculaires lisses.

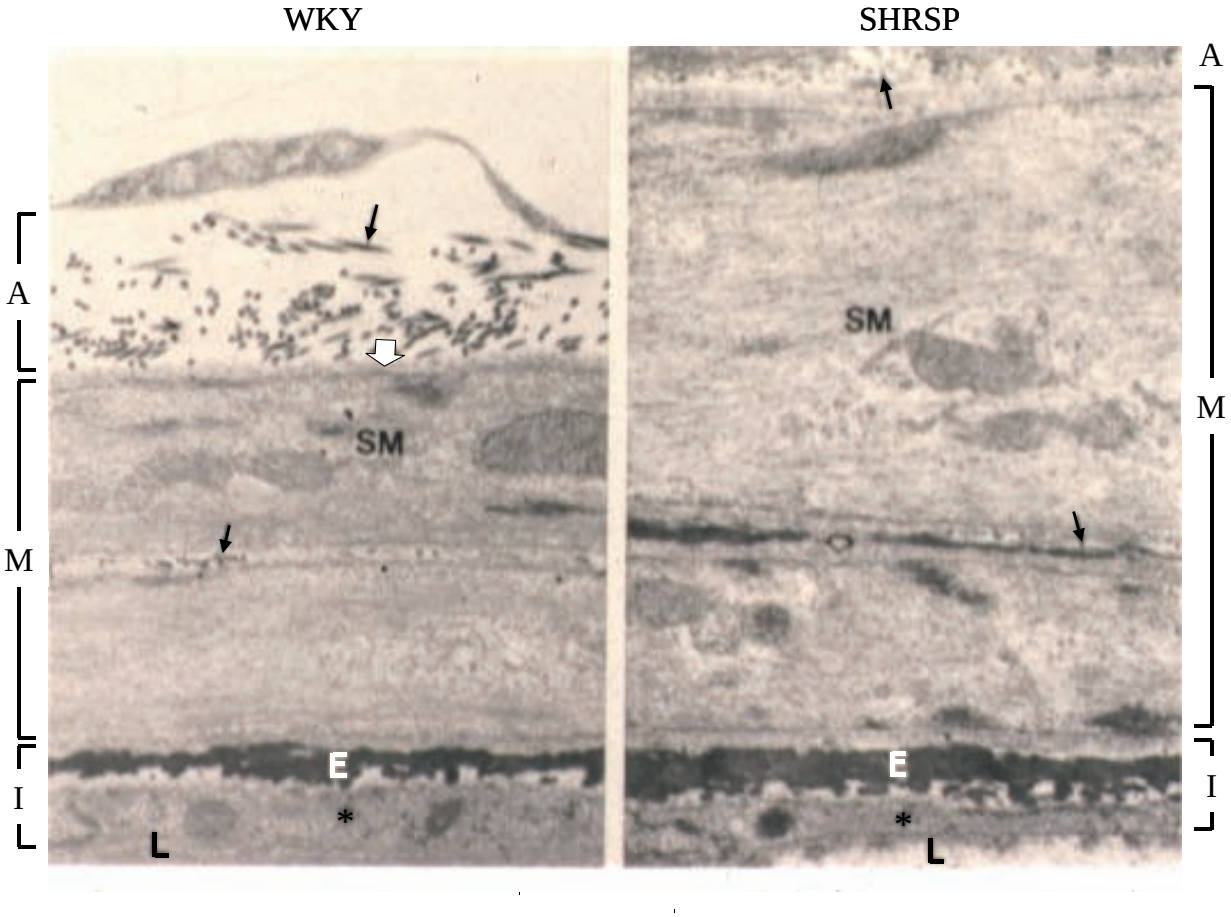


Figure 24 : Images de la paroi des artérioles cérébrales de rats normotendus WKY et de rats hypertendus SHRSP obtenues par microscopie électronique. I : intima ; M : media ; A : arachnoïde ; SM : cellule musculaire lisse ; L : lumière du vaisseau ; E : élastine ; * : endothélium ; flèches noires : collagène ; flèche blanche : membrane basale. D'après Baumbach, *et al.*, 1988.

2.2. Déterminants de l'hypertrophie pariétale des artérioles cérébrales

De nombreux facteurs peuvent contribuer au remodelage hypertrophique centripète au cours de l'hypertension artérielle chronique (Figure 25). Nous nous limiterons dans ce chapitre à l'étude des facteurs impliqués dans l'hypertrophie pariétale des artères et artérioles de résistance, et particulièrement des artérioles cérébrales.

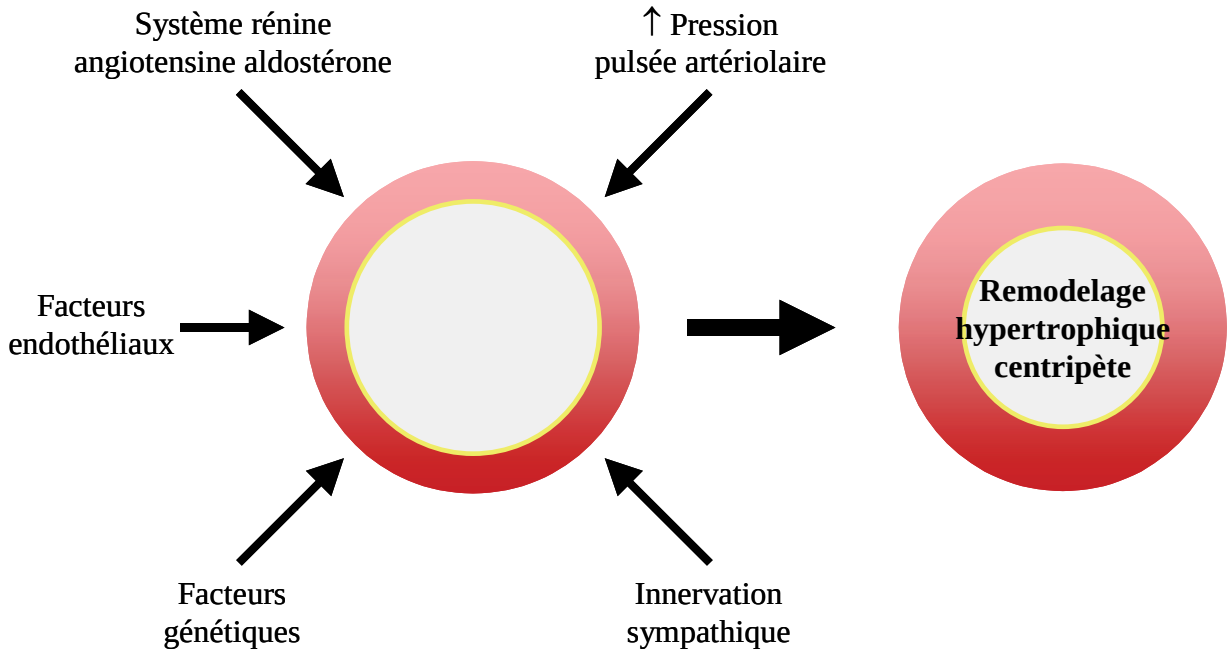


Figure 25 : Principaux déterminants du remodelage hypertrophique centripète des artères de résistance (représentées en coupe transversale) au cours de l'hypertension artérielle chronique.

2.2.1. Pression pulsée artériolaire

Parmi les nombreux facteurs pouvant être à l'origine du remodelage hypertrophique centripète des artérioles cérébrales, les augmentations de pression artériolaire, et notamment les augmentations de pression pulsée artériolaire, seraient un des principaux. Cette hypothèse est basée sur des résultats obtenus chez des rats SHRSP, montrant qu'un traitement anti-hypertenseur par l'hydralazine (un vasodilatateur) est aussi efficace qu'un traitement par un IEC, le cilazapril, pour prévenir le remodelage hypertrophique centripète. Or, l'hydralazine est moins efficace que le cilazapril pour diminuer la pression artériolaire moyenne (Hajdu, *et al.*, 1991). En revanche, l'hydralazine présente la même efficacité que le cilazapril pour normaliser la pression pulsée artériolaire (Hajdu, *et al.*, 1991). Suite à ces résultats, le groupe de Baumbach a réalisé une série d'expériences afin d'explorer davantage la relation entre pression pulsée artériolaire et remodelage hypertrophique centripète.

Dans un premier temps, ces auteurs ont exploré les effets d'une réduction locale de la pression sur la paroi artériolaire (Baumbach, *et al.*, 1991). La pose d'un clip au niveau de l'artère carotide gauche de rats SHRSP induit une normalisation de la pression artériolaire

pulsée dans l'hémisphère concerné (Figure 26), tandis que la pression artériolaire moyenne reste plus élevée que chez les contrôles normotendus WKY dépourvus de clip. La présence du clip carotidien induit donc, au niveau de l'hémisphère gauche des rats SHRSP, une diminution de la pression artériolaire pulsée ainsi qu'une réduction de la surface de coupe transversale de la paroi artériolaire (SCT, un indicateur d'hypertrophie) (Figure 26). Ainsi, une corrélation positive a été mise en évidence entre la SCT de la paroi et la pression pulsée artériolaire, tandis que la SCT et la pression artériolaire moyenne ou systolique ne semblent pas corrélées (Baumbach, *et al.*, 1991). De plus, chez les rats normotendus WKY, la pose d'un clip carotidien induit également une diminution de la pression artériolaire et de la SCT dans l'hémisphère cérébral concerné. La pression pulsée artériolaire contribuerait donc également au maintien de la masse pariétale chez les individus normotendus (Baumbach, *et al.*, 1991). Cette corrélation importante entre pression artériolaire pulsée et SCT de la paroi peut être interprété de deux façons : soit l'augmentation de la pression pulsée est la cause de l'hypertrophie pariétale, soit l'hypertrophie pariétale est à l'origine de l'élévation de la pression pulsée artériolaire chez les rats SHRSP. Les résultats d'une étude réalisée préalablement à celle-ci ont montré que chez des rats SHRSP âgés de 3 mois, la pression artériolaire pulsée est significativement supérieure à celle de leurs contrôles WKY de même âge, alors que les SCT de la paroi sont similaires dans les 2 groupes de rats (Baumbach, *et al.*, 1988). Ces résultats suggèrent que l'élévation de la pression artériolaire pulsée précède l'accroissement de la SCT. En d'autres termes, le remodelage hypertrophique centripète ne peut pas être la cause de l'augmentation de la pression artériolaire pulsée (Baumbach, *et al.*, 1991).

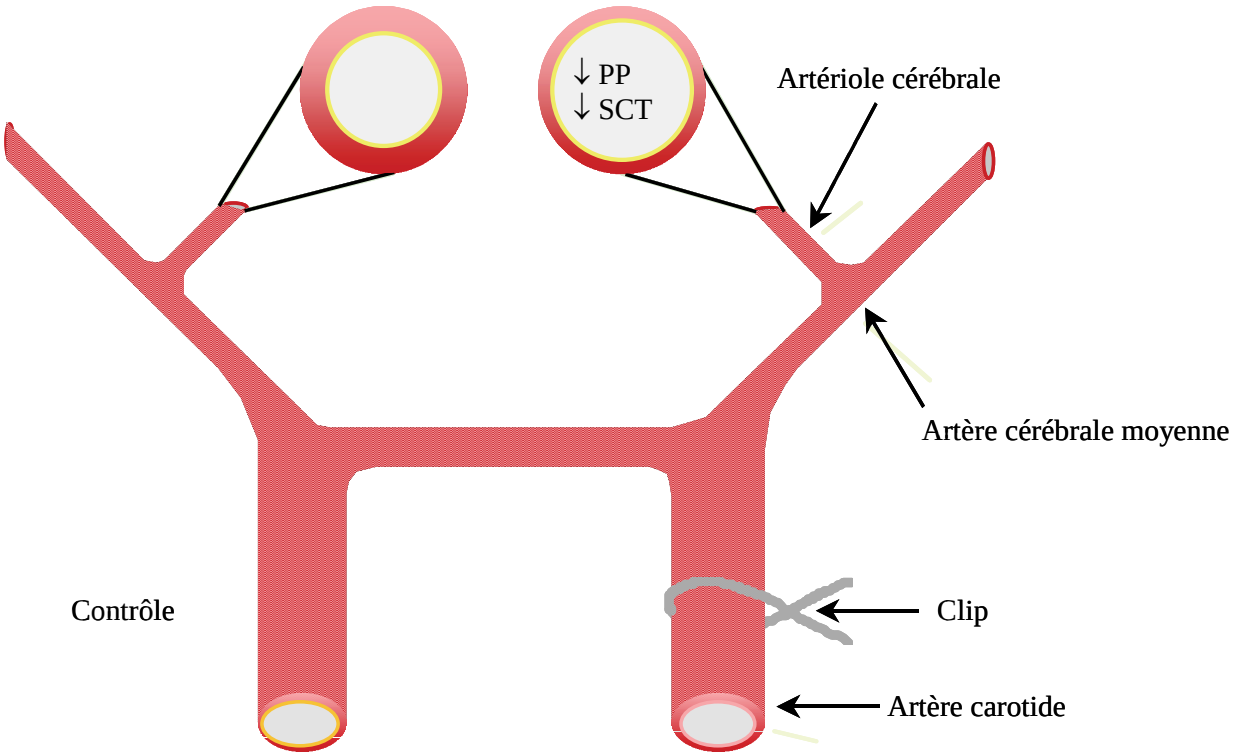


Figure 26 : Schéma représentant les effets de la pose unilatérale d'un clip carotidien sur la pression pulsée et sur la surface de coupe transversale des artérioles cérébrales chez les rats SHRSP. PP : pression pulsée artériolaire ; SCT : surface de coupe transversale de la paroi. D'après Baumbach (communication personnelle, 2000).

L'étape suivante de l'exploration de la relation entre pression pulsée et remodelage hypertrophique centripète a consisté à étudier les effets d'une augmentation localisée de la pression pulsée sur la structure des artérioles cérébrales. Pour obtenir une augmentation sélective de la pression pulsée, sans modification de la pression moyenne, Baumbach a utilisé un modèle de fistule artério-veineuse entre la veine cave inférieure et l'aorte abdominale (Figure 27). Ce modèle induit, chez les rats Sprague-Dawley, une augmentation de la pression pulsée au niveau des artères carotides, sans modification de la pression artérielle moyenne (Mickle, *et al.*, 1981 ; Glassford, *et al.*, 1990). Ainsi, chez des rats WKY, une telle fistule artério-veineuse augmente spécifiquement la pression artériolaire pulsée au niveau des artérioles cérébrales ainsi que la SCT de la paroi, sans augmentation de la pression artériolaire moyenne (Baumbach, 1996) (Figure 27). De plus, la pose d'un clip carotidien a permis d'abolir l'élévation de pression pulsée artériolaire ainsi que l'augmentation de la SCT de la paroi chez les rats ayant subi la fistule artério-veineuse (Baumbach, 1996). Cette série

d'expériences laisse donc supposer que la pression pulsée est l'un des déterminants majeurs du remodelage hypertrophique centripète au niveau des artérioles cérébrales.

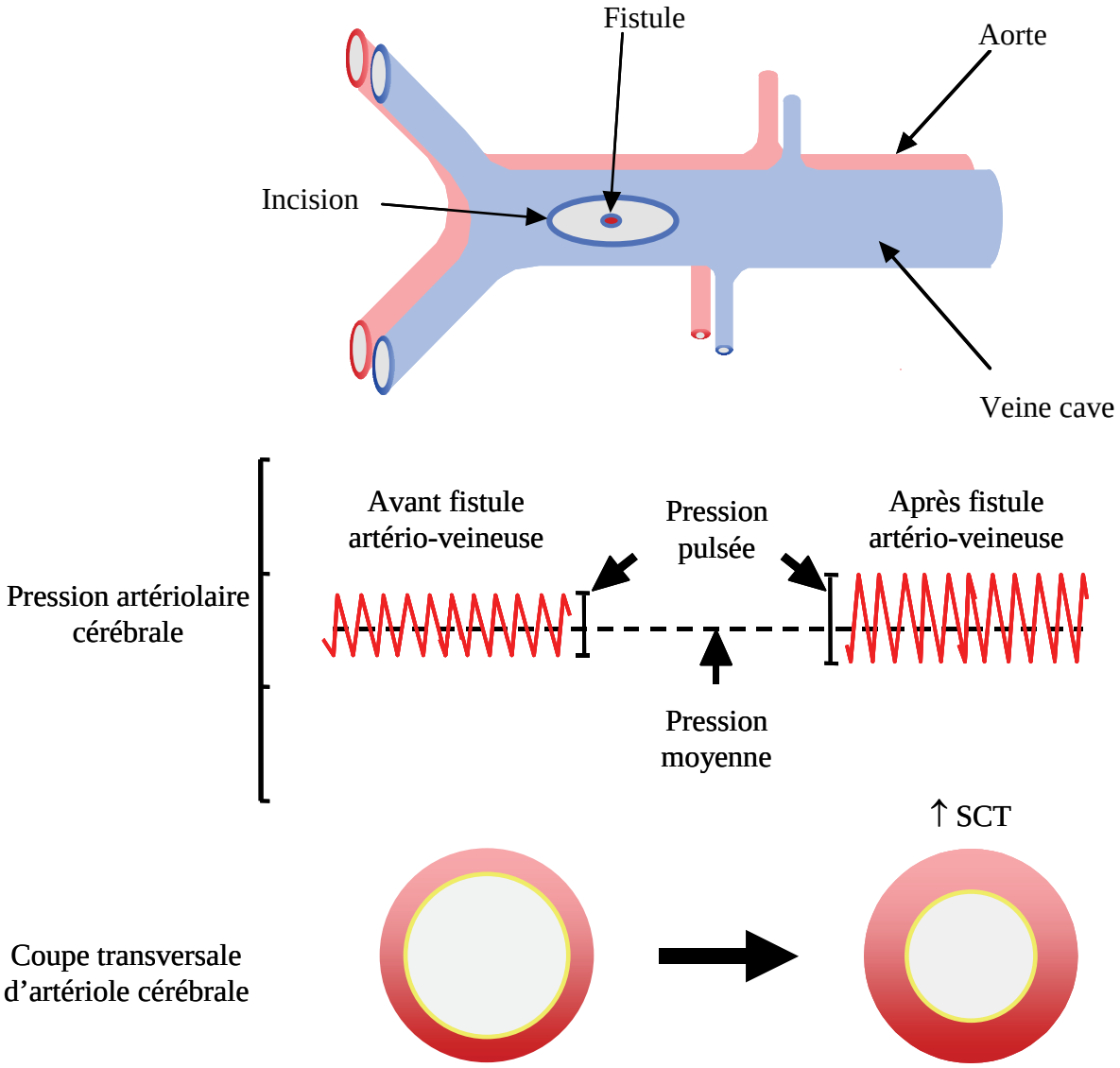


Figure 27 : Schéma d'une fistule artério-veineuse réalisée entre l'aorte et la veine cave et ses effets sur la pression artériolaire cérébrale et la structure des artérioles cérébrales chez les rats WKY. SCT : surface de coupe transversale de la paroi. D'après Baumbach (communication personnelle, 2000).

Cette relation entre pression pulsée et hypertrophie pariétale a par la suite été confirmée dans une étude portant sur des rats SHRSP traités pendant 3 mois soit par un IEC, le perindopril, soit par un β-bloquant, le propranolol, soit par une combinaison des deux

(Chillon et Baumbach, 1999). Deux doses de perindopril ont été utilisées, une forte dose normalisant la pression artérielle, et une faible dose ayant un impact minimal sur la pression artérielle. Le groupe traité par la combinaison des deux drogues recevait la faible dose de périndopril. Les traitements par la forte dose de perindopril ou par la combinaison propranolol-perindopril ont permis de prévenir l'élévation de la pression artériolaire pulsée ainsi que l'hypertrophie pariétale. En revanche, le traitement par la faible dose de perindopril ainsi que le traitement par le propranolol seul n'ont pas eu d'effet sur le remodelage hypertrophique centripète. Or, ces deux traitements ne normalisent pas la pression pulsée artériolaire (bien que le propranolol normalise la pression artériolaire moyenne) (Chillon et Baumbach, 1999).

L'ensemble de ces résultats expérimentaux obtenus au niveau des artérioles cérébrales suggère donc que, au cours de l'hypertension artérielle chronique, l'augmentation de la pression pulsée artériolaire est un des déterminants majeurs du remodelage hypertrophique centripète, puisque apparaissant préalablement à ce dernier. Cependant, bien que cette relation entre pression pulsée artériolaire et remodelage hypertrophique centripète semble clairement établie au niveau des artérioles cérébrales de rats SHRSP, certains résultats obtenus dans d'autres modèles ou d'autres lits vasculaires sont plus contradictoires. Ainsi, il a été démontré qu'au niveau des artères de résistance mésentériques de rats SHR, la pression pulsée est fortement corrélée au rapport épaisseur pariétale/diamètre interne, mais pas à la SCT de la paroi (Christensen, 1991). D'autre part, chez l'homme, la pression pulsée ne semble pas être un facteur déterminant du remodelage des artérioles de résistance chez des patients atteints d'hypertension essentielle (Schiffrin et Deng, 1999). En revanche, une autre étude portant sur des patients hypertendus dépourvus de traitement a montré une corrélation positive entre pression pulsée et épaisseur pariétale des artères carotides (Baguet, *et al.*, 2000).

2.2.2. Facteurs endothéliaux

Des facteurs sécrétés par l'endothélium pourraient également être à l'origine du remodelage hypertrophique centripète au niveau des artérioles cérébrales au cours de l'hypertension chronique. En effet, un déséquilibre entre la production d'endothéline 1, un facteur vasoconstricteur puissant dérivé de l'endothélium, et le NO, un vasodilatateur également dérivé de l'endothélium, pourrait contribuer à l'apparition de l'hypertrophie pariétale. Cette hypothèse est basée d'une part sur le fait que ces substances sont impliquées

dans de nombreux modèles d'hypertension (Schiffrin, 2001 ; Kunes, *et al.*, 2004), et d'autre part sur des études montrant que l'endothéline 1 stimule la croissance des cellules musculaires lisses en culture (Hirata, *et al.*, 1989 ; Bobik, *et al.*, 1990). De plus, des études montrent que les substances induisant la production de NO, telles que le nitroprussiate de sodium ou le dinitrate d'isosorbide, inhibent la mitose et la prolifération des cellules musculaires lisses *in vitro* (Garg et Hassid, 1989).

Pour évaluer le rôle de l'endothéline 1, des rats SHRSP ont été traités pendant trois mois avec du bosentan, un antagoniste non sélectif des récepteurs ETA et ETB de l'endothéline 1 (Chillon, *et al.*, 1996). Le traitement par le bosentan a complètement normalisé la SCT de la paroi des artérioles cérébrales par rapport aux rats contrôles normotendus WKY. Cet effet de l'antagoniste de l'endothéline 1 semble disproportionné par rapport à son effet sur la pression artériolaire pulsée, puisque celle-ci reste significativement supérieure chez les SHRSP traités par rapport aux WKY (Chillon, *et al.*, 1996). Ces résultats suggèrent donc que l'endothéline 1 contribue directement (et non *via* un effet sur la pression pulsée) au remodelage hypertrophique centripète au cours de l'hypertension artérielle chronique. D'autres études, portant sur différents lits vasculaires montrent également un rôle de l'endothéline dans le remodelage hypertrophique centripète dans des modèles d'hypertension tels que les rats DOCA-salt ou des rats SHR ayant reçu un traitement DOCA-salt (Li, *et al.*, 1994 ; Schiffrin, *et al.*, 1995). De même, il a été démontré que l'endothéline jouait un rôle important dans le développement de l'hypertrophie pariétale des artères de résistance induite par la noradrénaline (Dao, *et al.*, 2001). En revanche, chez les rats SHR, l'endothéline 1 ne semble pas être impliquée dans le remodelage hypertrophique centripète, et ce dans différents lits vasculaires (mésentérique, coronaire et fémoral notamment) (Li et Schiffrin, 1995). Ces résultats apparemment contradictoires peuvent s'expliquer par le fait que le remodelage hypertrophique centripète est principalement présent dans les modèles d'hypertension sévère avec activation du système endothéline, ce qui n'est pas le cas des rats SHR (Intengan et Schiffrin, 2000).

Pour évaluer l'impact du NO sur la structure des artérioles cérébrales, plusieurs études ont été réalisées visant à évaluer les effets d'une privation de NO chez des individus normotendus. Ainsi, chez des rats Sprague-Dawley, un traitement chronique par le L-NAME induit une hypertension artérielle associée à un remodelage hypertrophique au niveau des artérioles cérébrales (Chillon, *et al.*, 1997). La pose d'un clip carotidien sur les rats traités par L-NAME a permis de prévenir l'élévation de la pression pulsée artériolaire, mais pas

l'hypertrophie pariétale, suggérant donc un rôle direct du NO dans le développement de l'hypertrophie (Chillon, *et al.*, 1997). Une expérience semblable (sans la pose du clip carotidien) a été reconduite plus récemment sur une autre souche de rats (WKY) : les résultats de cette étude ont montré que le L-NAME induit un remodelage hypertrophique centripète dans cette souche de rats (Chillon et Baumbach, 2004). De même, un traitement de souris normotendues par le L-NAME induit une élévation de la pression artérielle et de la SCT de la paroi des artérioles cérébrales (Baumbach, *et al.*, 2004). Les auteurs de cette étude ont également tenté de déterminer quelle isoforme de la NOS est impliquée dans le remodelage hypertrophique. Pour ce faire, ils ont utilisé des souris non traitées, mais génétiquement modifiées afin qu'elles n'expriment pas le gène de la eNOS. Ces souris mutantes développent une hypertension artérielle systémique qui s'accompagne, au niveau des artérioles cérébrales, d'une élévation de la pression pulsée et d'une augmentation de la SCT de la paroi (Baumbach, *et al.*, 2004). La pose d'un clip carotidien sur ces souris génétiquement modifiées a permis de prévenir l'élévation de la pression pulsée artériolaire, mais pas l'hypertrophie pariétale (Baumbach, *et al.*, 2004). L'ensemble de ces résultats tendent à démontrer que la privation de NO est susceptible d'induire un remodelage hypertrophique centripète au niveau des artérioles cérébrales, et ce indépendamment de son effet sur la pression pulsée artériolaire. L'isoforme endothéliale de la NOS serait particulièrement impliquée dans ce processus.

Cependant, des résultats contradictoires ont été rapportés sur l'impact du NO sur la structure de l'artère basilaire. En effet, une première étude a montré qu'un traitement de rats WKY par le L-NAME induit une modification du rapport épaisseur pariétale/diamètre interne sans induire d'hypertrophie de la paroi (Moreau, *et al.*, 1995b ; Moreau, *et al.*, 1995a). De plus un traitement anti-hypertenseur a permis de prévenir l'élévation de la pression ainsi que les altérations structurales observées, suggérant soit que les effets du L-NAME sur la structure de l'artère basilaire ne serait dus qu'à son effet sur la pression artérielle, soit que les traitements exercent une action sur la paroi artérielle (Moreau, *et al.*, 1995b ; Moreau, *et al.*, 1995a). Le même groupe a montré que le NO n'inhibe pas l'hypertrophie de la paroi de l'artère basilaire induite par l'angiotensine II. Au contraire, le NO semble être un facteur nécessaire au développement de l'hypertrophie pariétale puisqu'un traitement par le L-NAME prévient l'hypertrophie induite par l'angiotensine II (Moreau, *et al.*, 1998). Ces expériences du groupe de Moreau sont également en contradiction avec d'autres résultats montrant qu'un traitement par le L-NAME potentialise l'hypertrophie induite par l'angiotensine II au niveau de l'aorte de rats Wistar (Kato, *et al.*, 1996). Ceci a conduit Moreau à émettre l'hypothèse

que, à l'instar d'autres fonctions vasculaires (Daemen et De Mey, 1995), le rôle du NO sur la croissance cellulaire et l'hypertrophie pariétale pouvait être différent selon la structure de l'artère considérée (artère de conductance ou artère de résistance) (Moreau, *et al.*, 1998). Dès lors, bien que les artérioles cérébrales étudiées par le groupe de Baumbach et l'artère basilaire étudiée par Moreau soient des artères de résistance, leur différence de taille (environ 50 µm de diamètre interne pour les artérioles et 300 µm pour l'artère basilaire) pourrait être associée à des différences structurales et fonctionnelles (Daemen et De Mey, 1995) qui expliquerait la discordance des résultats obtenus dans ces deux types de vaisseaux.

2.2.3. Modulation des facteurs endothéliaux par la pression pulsée artériolaire

Nous avons vu que deux des principaux déterminants du remodelage hypertrophique centripète au niveau des artérioles cérébrales sont la pression pulsée artériolaire et les facteurs endothéliaux (NO et endothéline 1). Or, la dissociation entre l'augmentation de la pression pulsée artériolaire et la masse pariétale, mise en évidence au cours des études portant sur les facteurs endothéliaux, semble contredire la corrélation habituellement observée entre ces deux paramètres. Ces résultats ont conduit les auteurs à émettre l'hypothèse que le mécanisme par lequel la pression pulsée artériolaire engendrerait le remodelage hypertrophique centripète passerait par une modulation des facteurs endothéliaux tels que le NO et/ou l'endothéline 1 (Figure 28).

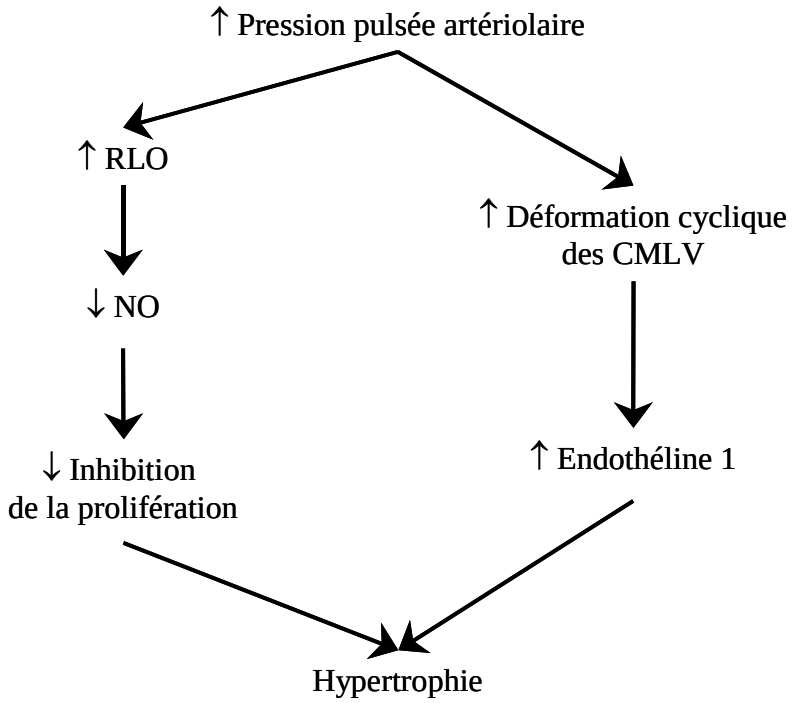


Figure 28 : Schéma de la modulation des facteurs endothéliaux par la pression pulsée artériolaire. RLO : radicaux libres oxygénés ; NO : oxyde nitrique ; CMLV : cellules musculaires lisses vasculaires.

D'une part, la production d'endothéline des cellules aortiques de bovin mises en culture sur des membranes souples est augmentée lorsque ces cellules sont soumise à des déformations cycliques induites par une légère dépression à une fréquence de 60 cycles par minute (Sumpio et Widmann, 1990). La sécrétion d'endothéline 1 par les cellules endothéliales en réponse à une déformation cyclique semble de plus être directement proportionnelle au pourcentage de l'élongation appliquée (Carosi, *et al.*, 1992). Ainsi, l'élévation de la pression pulsée artériolaire au cours de l'hypertension pourrait augmenter la déformation cyclique des cellules endothéliales et donc leur sécrétion d'endothéline 1, ce qui aboutirait à l'hypertrophie (Figure 28).

D'autre part, une hypertension aiguë engendrée par la noradrénaline entraîne au niveau des artérioles cérébrales une augmentation de la production de RLO associée à une diminution de la vasodilatation induite par l'acétylcholine (vasodilatation endothélium-dépendante) (Wei, *et al.*, 1985). Cette étude suggère que la production de RLO pourrait diminuer la disponibilité du NO produit par les cellules endothéliales (en diminuant sa production ou en augmentant son catabolisme) ou diminuer la sensibilité des cellules musculaires lisses au NO. Il a été

démontré par la suite qu'une augmentation isolée de la pression pulsée pouvait entraîner une diminution de la vasodilatation endothélium-dépendante, *in vitro* au niveau d'artères carotides (Ryan, *et al.*, 1995) et *in vivo*, au niveau des artérioles cérébrales de rats par ailleurs normotendus (Chillon et Baumbach, 1996). Cette diminution de la vasodilatation endothélium-dépendante ne semble ne pas être due à une diminution de la production de NO, mais bien à une augmentation de la production de RLO, tels que l'anion superoxyde ($\cdot O_2^-$). En effet, l'utilisation d'une superoxyde dismutase (SOD) annule les effets de l'élévation de la pression sur la vasodilatation endothélium-dépendante (Wei, *et al.*, 1985 ; Ryan, *et al.*, 1995). Or, les RLO peuvent réagir avec le NO et le dégrader (Dzau, 2001). L'augmentation de la pression pulsée artériolaire pourrait ainsi diminuer la disponibilité du NO en augmentant la production de RLO, et donc inhiber l'action antiproliférative du NO (Figure 28).

Ainsi, l'augmentation de la pression pulsée entraînerait une augmentation de la sécrétion d'endothéline 1 par les cellules endothéliales ainsi que la production de RLO, ces derniers diminuant la disponibilité du NO. Cette modulation des facteurs endothéliaux par la pression pulsée favoriserait le remodelage hypertrophique centripète et permettrait d'expliquer les résultats des études où l'hypertrophie pariétale ne semble pas liée à la pression pulsée artériolaire. Cela reste cependant une hypothèse, et des travaux complémentaires seraient nécessaires pour la confirmer.

2.2.4. Système rénine angiotensine aldostérone

De nombreux travaux démontrent que le système rénine angiotensine aldostérone, notamment *via* l'angiotensine II, exerce une action trophique sur les cellules musculaires lisses, aussi bien *in vitro* (Campbell-Boswell et Robertson, 1981) qu'*in vivo* (Powell, *et al.*, 1989). D'une part, l'angiotensine II serait capable d'induire une hypertrophie cellulaire (Geisterfer, *et al.*, 1988). En effet, l'angiotensine II déclenche une augmentation de la synthèse protéique au niveau des cellules musculaires lisses aortiques de rats en culture ainsi qu'une augmentation de leur volume (Berk, *et al.*, 1989). L'augmentation de la synthèse protéique induite par cette hormone se retrouve également *in vivo*, aussi bien au niveau des artères de conductance que des artères de résistance, et serait liée à l'activation des récepteurs AT_1 (Daigle, *et al.*, 2004). Ces derniers sont en effet couplés à des voies de signalisation intracellulaire susceptibles de conduire à l'hypertrophie (Guo, *et al.*, 2004). D'autre part, l'angiotensine II est également susceptible, *in vitro*, de provoquer la prolifération des cellules

musculaires lisses issues d'aorte de rats hypertendus (Paquet, *et al.*, 1990). Cet effet semble là encore consécutif à la stimulation des récepteurs AT_1 (Bunkenburg, *et al.*, 1992).

Jusqu'à ces dernières années, la plupart des études *in vitro* ou *in vivo* semblaient montrer que les effets hypertrophiques et prolifératifs de l'angiotensine II étaient effectivement dus à la stimulation des récepteurs AT_1, les récepteurs AT_2 montrant des effets opposés (Henrion, *et al.*, 2001). Cependant, des études *in vivo* plus récentes suggèrent que les récepteurs AT_2 pourraient jouer un rôle important dans le développement de l'hypertrophie pariétale, aussi bien au niveau aortique (Levy, *et al.*, 1996) qu'au niveau des artères mésentériques (Cao, *et al.*, 1999). Par ailleurs, des résultats contradictoires ont été obtenus sur des modèles de souris mutantes déficientes en récepteurs AT_2. Certaines études montrent que les récepteurs AT_2 sont essentiels dans le développement de l'hypertrophie (Senbonmatsu, *et al.*, 2000 ; Ichihara, *et al.*, 2001), tandis que d'autres études mettent en évidence une inhibition de l'hypertrophie médiée par ces mêmes récepteurs (Akishita, *et al.*, 2000a ; Akishita, *et al.*, 2000b). Les explications de ces résultats contradictoires sur le rôle des récepteurs AT_2, qui selon les études s'opposent ou miment les effets des récepteurs AT_1, ne sont toujours pas clairement établies (Levy, 2004). Actuellement, seules les différences de conditions expérimentales et de modèles utilisés (souches de souris génétiquement modifiées différentes par exemple) peuvent justifier ces résultats (Levy, 2004).

Quoiqu'il en soit, l'angiotensine II pourrait donc, par le biais des récepteurs AT_1 et/ou AT_2, être à l'origine du remodelage hypertrophique centripète, que celui-ci suppose une hypertrophie cellulaire (artères de gros calibre) ou une hyperplasie (artères de résistance).

Un autre élément du système rénine angiotensine aldostérone pourrait également être impliqué dans le remodelage hypertrophique centripète : il s'agit de l'aldostérone. Les effets rénaux de l'aldostérone (hormone sécrétée principalement par les glandes surrénales) sur la régulation de la volémie et de la pression artérielle sont bien connus, mais de plus en plus d'études s'intéressent aux effets vasculaires locaux de cette hormone (Schiffrin, 2004). La production locale tissulaire d'aldostérone pourrait contribuer au remodelage vasculaire en modulant l'action de l'angiotensine II. En effet, le groupe de Takeda a pu montrer que la synthèse vasculaire d'aldostérone est contrôlée par l'angiotensine II mais aussi qu'elle potentialise le développement de l'hypertrophie induite par l'angiotensine II (Hatakeyama, *et al.*, 1994 ; Takeda, *et al.*, 1995a ; Takeda, *et al.*, 1996). Par ailleurs, plusieurs études suggèrent que l'aldostérone produite au niveau vasculaire pourrait également jouer un rôle

dans la prolifération des cellules musculaires lisses induite par l'angiotensine II, et donc dans l'hyperplasie de la paroi des artères de résistance (Xiao, *et al.*, 2000 ; Duprez, *et al.*, 2000).

In vivo, plusieurs études démontrent qu'une stimulation du système rénine angiotensine aldostérone exerce une action trophique directe sur les vaisseaux de résistance. Ainsi, l'administration continue d'angiotensine II à des rats normotendus *via* l'implantation d'une mini-pompe provoque une élévation de la pression associée à un remodelage hypertrophique centripète au niveau des artères mésentériques (Griffin, *et al.*, 1991). L'effet de l'angiotensine II sur la paroi de ces artères de résistance est indépendant de son effet sur la pression, puisqu'un traitement concomitant par l'hydralazine empêche l'élévation de la pression artérielle mais pas l'hypertrophie pariétale (Griffin, *et al.*, 1991). L'hypertrophie induite par une telle perfusion continue d'angiotensine II semble par ailleurs due à une augmentation de la réplication des cellules musculaires lisses (Wiener, *et al.*, 1996). Là encore, un traitement concomitant par l'hydralazine empêche l'élévation de la pression artérielle, mais ne diminue pas la prolifération des cellules musculaires lisses des artères mésentériques, démontrant donc que l'angiotensine II stimule la prolifération cellulaire indépendamment de son effet sur la pression (Su, *et al.*, 1998). Chez l'homme, le remodelage hypertrophique centripète au niveau des artères de résistance n'est pas présent chez les patients souffrant d'hypertension essentielle, mais uniquement chez ceux souffrant d'hypertension rénovasculaire, malgré des pressions artérielles comparables (Rizzoni, *et al.*, 2000b). Or l'hypertension rénovasculaire se caractérise par une activation prononcée du système rénine angiotensine aldostérone (Williams, 1995).

L'ensemble de ces résultats suggère donc que le système rénine angiotensine aldostérone, *via* l'angiotensine II et/ou l'aldostérone, jouerait un rôle dans le développement du remodelage hypertrophique centripète des artères et artérioles de résistance au cours de l'hypertension.

Cependant, les résultats obtenus au niveau des artérioles cérébrales semblent en contradiction avec les études précédentes. Ainsi, l'hydralazine et le cilazapril (un IEC) présentent la même efficacité pour prévenir le remodelage hypertrophique centripète des artérioles de rats SHRSP alors que l'hydralazine ne bloque pas le système rénine angiotensine aldostérone (Hajdu, *et al.*, 1991). De plus, un traitement par le perindopril, un autre IEC, n'empêche la survenue du remodelage hypertrophique centripète qu'à une dose suffisamment forte pour normaliser la pression pulsée artériolaire (Chillon et Baumbach, 1999). Enfin, les

artérioles cérébrales subissent un remodelage hypertrophique centripète dans deux modèles de souris hypertendues : l'un de ces modèles, les souris BPH-2, est un modèle d'hypertension indépendant de la rénine, tandis que l'autre modèle, des souris transgéniques surexprimant les gènes humains de la rénine et de l'angiotensinogène, est rénine-dépendant (Baumbach, *et al.*, 2003). Ces résultats suggèrent donc fortement que le système rénine angiotensine aldostérone n'est pas un des déterminants majeurs du remodelage hypertrophique centripète des artérioles cérébrales, puisque ce remodelage peut survenir en absence d'une quelconque stimulation de ce système.

Cependant, le fait de ne pas être un des déterminants majeurs ne permet toutefois pas d'exclure un rôle direct de ce système dans l'hypertrophie pariétale des artérioles cérébrales. En effet, une étude récente montre que l'angiotensine II est susceptible d'induire *in vitro* la prolifération des cellules musculaires lisses issues d'artères basilaires humaines (Wang, *et al.*, 2005). D'autre part, les IEC pourraient empêcher la survenue du remodelage hypertrophique des artérioles cérébrales en prévenant les effets de l'aldostérone. En effet, la réduction des taux plasmatiques d'aldostérone suite à un traitement par IEC peut n'être que transitoire, conduisant à un « échappement à l'aldostérone » (Lakkis, *et al.*, 2003). Les mécanismes précis de cet échappement à l'aldostérone ne sont pas encore clairement déterminés, mais l'augmentation des taux plasmatiques d'angiotensine II, observée lors d'un traitement au long cours par IEC (MacFadyen, *et al.*, 1999 ; Roig, *et al.*, 2000), pourrait intervenir puisque l'angiotensine II est l'un des principaux stimulus de la sécrétion d'aldostérone par les glandes surrénales (Struthers, 2004). La dose faible de perindopril utilisée dans l'expérience décrite par Chillon et coll. n'avait qu'un impact modéré sur la pression artérielle (Chillon et Baumbach, 1999) et on peut donc supposer que les taux plasmatiques d'angiotensine II sont plus élevés qu'avec la forte dose de perindopril. Ceci pourrait donc aboutir à un échappement à l'aldostérone plus précoce qu'avec la forte dose et pourrait expliquer la présence du remodelage hypertrophique centripète.

2.2.5. Autres facteurs potentiels

D'autres facteurs sont susceptibles d'être responsables du remodelage hypertrophique centripète. Ainsi, le système nerveux sympathique exercerait une action trophique sur les artérioles cérébrales. En effet, l'ablation du ganglion cervical supérieur entraîne chez les rats SHRSP une diminution du rapport épaisseur pariétale/diamètre interne (Hart, *et al.*, 1980). Le

groupe de Baumbach a par la suite démontré qu'une ablation unilatérale d'un ganglion cervical supérieur induit une diminution importante de la SCT des artérioles cérébrales de rats SHRSP situées du côté du ganglion manquant (Baumbach, *et al.*, 1989). Cet effet d'une dénervation sympathique se retrouve également chez les rats WKY, mais à un moindre degré (Baumbach, *et al.*, 1989). L'innervation sympathique pourrait donc être impliquée dans le remodelage hypertrophique centripète des artérioles cérébrales des rats SHRSP, comme dans le contrôle de la structure pariétale chez les rats normotendus.

Plus récemment, l'utilisation de souris génétiquement modifiées a permis de prouver que le taux plasmatique d'homocystéine peut également jouer un rôle dans l'hypertrophie pariétale des artérioles cérébrales (Baumbach, *et al.*, 2002). En effet, des souris normotendues mais hétérozygotes pour le gène de la cystathionine β-synthase développent une hyper-homocystéinémie associée à une augmentation de la SCT de la paroi des artérioles cérébrales (Baumbach, *et al.*, 2002). De plus, un régime enrichi en L-methionine entraîne également, même chez les souris homozygotes pour ce gène, une élévation de l'homocystéine plasmatique associée à une hypertrophie pariétale (Baumbach, *et al.*, 2002).

Enfin, des facteurs génétiques pourraient également être en cause dans le remodelage hypertrophique centripète puisque une hypertrophie pariétale se développe chez les rats SHR avant même l'apparition de l'hypertension (Lee, 1985). Il semble que le développement de cette hypertrophie pariétale chez les rats SHR se met en place dès le stade fœtal, aussi bien au niveau de l'aorte que des artères carotides (Eccleston-Joyner et Gray, 1988).

2.2.6. Conclusion

Les principaux déterminants du remodelage hypertrophique centripète au niveau des artérioles cérébrales semblent donc être la pression pulsée artériolaire et les facteurs endothéliaux. Une élévation de la pression pulsée artériolaire engendre une hypertrophie pariétale, de même qu'une augmentation de la production d'endothéline 1 ou une diminution de la production du NO. Bien que le système rénine angiotensine aldostérone semble être impliqué dans l'hypertrophie pariétale dans de nombreux vaisseaux, il n'apparaît pas comme jouant un rôle majeur dans le développement du remodelage hypertrophique centripète des artérioles cérébrales.

3. Remodelage eutrophique centripète

3.1. Hypothèses mécanistiques

Plusieurs mécanismes ont été évoqués pour expliquer les altérations structurales correspondant au remodelage eutrophique centripète. Certains auteurs ont émis l'hypothèse qu'une combinaison d'apoptose et de croissance au niveau de la paroi artérielle pourrait contribuer au développement du remodelage eutrophique centripète (Figure 29). Selon d'autres auteurs, la migration et le réarrangement des cellules musculaires lisses pourraient jouer un rôle important (Figure 29). Pour permettre ces mouvements cellulaires, un réarrangement et/ou des modifications de la matrice extracellulaire sont nécessaires, et l'inflammation chronique de la paroi artérielle au cours de l'hypertension pourrait également intervenir (Figure 29).

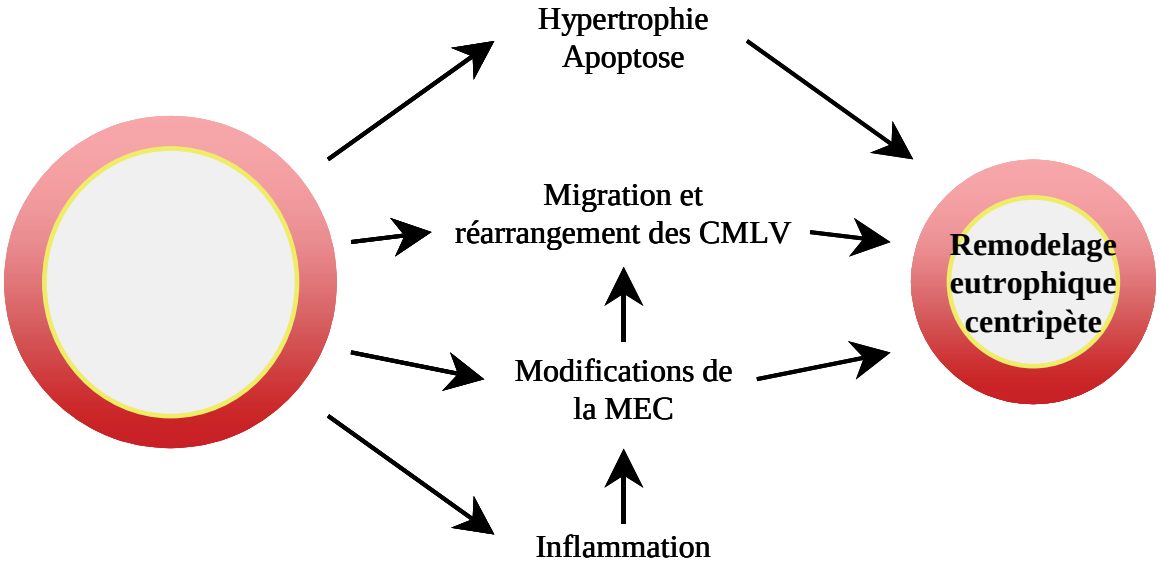


Figure 29 : Schéma des différentes hypothèses mécanistiques du remodelage eutrophique centripète. CMLV : cellules musculaires lisses vasculaires ; MEC : matrice extracellulaire.

3.1.1. Implication de l'apoptose dans le remodelage eutrophique centripète

L'apoptose correspond à la mort cellulaire génétiquement programmée. Elle se caractérise par des modifications morphologiques au niveau de la cellule : condensation du cytoplasme, du noyau et de la chromatine, fragmentation de l'ADN génomique. La membrane plasmique va alors bourgeonner, ce qui va entraîner la formation de corps apoptotiques qui seront digérés par les macrophages environnants (Kerr, *et al.*, 1972 ; Majno et Joris, 1995). Ce phénomène d'apoptose permet de réguler très finement la prolifération cellulaire au cours du développement et de maintenir l'homéostasie (Jacobson, *et al.*, 1997 ; Meier, *et al.*, 2000). Récemment, des altérations de l'apoptose ont été impliquées dans la pathogenèse de diverses maladies, telles que cancers, dégénérescences neuronales, maladies auto-immunes (Thompson, 1995) mais également dans des pathologies cardiovasculaires comme l'athérosclérose, la re-sténose, l'infarctus du myocarde, l'insuffisance cardiaque (Haunstetter et Izumo, 1998) ou encore l'hypertension.

Intengan et Schiffrin ont émis l'hypothèse que le remodelage eutrophique centripète pourrait résulter d'une combinaison d'apoptose et de prolifération cellulaire (Intengan et Schiffrin, 2001). En effet, l'apoptose localisée à la périphérie externe de la paroi diminuerait le diamètre externe, tandis que la prolifération, qui s'exprimerait de manière centripète vers la lumière du vaisseau, expliquerait la diminution du diamètre interne (Figure 30). Ces deux actions combinées assureraient donc à la fois le maintien de la quantité de matériel constitutif de la paroi (l'eutrophie) et la diminution du diamètre interne (remodelage centripète).

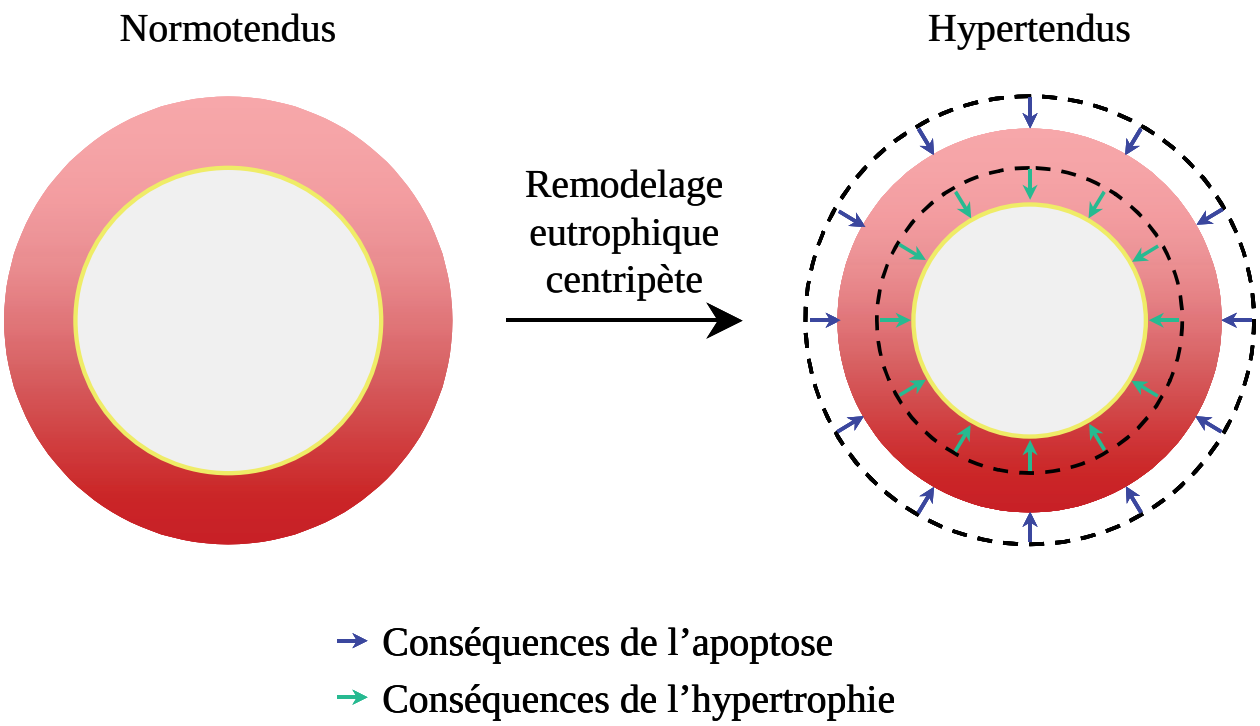


Figure 30 : Schéma de coupes transversales d'artères de résistance montrant les rôles potentiels de l'apoptose et de la prolifération cellulaire dans le développement du remodelage eutrophique centripète au cours de l'hypertension artérielle chronique.

Ainsi, il a été démontré *in vitro* que l'activité apoptotique ainsi que la synthèse d'ADN (qui témoigne d'une activité de prolifération) sont plus élevées dans des cellules musculaires lisses d'aorte de rats SHRSP que dans celles de rats WKY (Devlin, *et al.*, 2000). *In vivo*, une augmentation de l'activité apoptotique au niveau de la paroi aortique a également pu être mise en évidence aussi bien dans un modèle d'hypertension non génétique, les rats DOCA-salt (Sharifi et Schiffrin, 1997), que dans un modèle d'hypertension génétique, les rats SHR (Sharifi et Schiffrin, 1998). Dans ces deux études, les auteurs ont suggéré que l'augmentation de l'apoptose pouvait être envisagée comme un mécanisme de régulation homéostatique permettant de contrebalancer l'hypertrophie pariétale observée. Il a par la suite été démontré, toujours au niveau aortique, que l'apoptose n'apparaît que tardivement, soit deux semaines environ, après la prolifération cellulaire induite par une élévation localisée de la pression artérielle (Xu, *et al.*, 2001). De plus, l'apoptose est également augmentée au niveau de la paroi des artères et artérioles de résistance. Cette augmentation a été observée dans des artérioles mésentériques de rats SHR âgés de 8 et 12 semaines, mais pas chez les SHR de 4 semaines (Rizzoni, *et al.*, 2000a).

Il semble donc que l'activité apoptotique soit accrue au niveau de la paroi des artères et artérioles au cours de l'hypertension. Cette augmentation de l'activité apoptotique semble se manifester relativement tard et pourrait être envisagée comme un mécanisme permettant de compenser l'hypertrophie et la prolifération des cellules musculaires lisses. Ces résultats permettent donc de supposer que l'apoptose pourrait contribuer au remodelage des artères et artérioles, conformément à l'hypothèse d'Intengan (Intengan et Schiffrin, 2001).

3.1.2. Migration et réarrangement des cellules de la paroi vasculaire

Parmi les nombreuses hypothèses susceptibles d'expliquer les réductions concomitantes du diamètre interne et du diamètre externe des artérioles subissant un remodelage eutrophique centripète, Baumbach et Heistad ont proposé que les cellules musculaires lisses de la media de la paroi pourraient se réarranger autour d'un diamètre interne plus petit (Baumbach et Heistad, 1988). Cette hypothèse soulève deux possibilités. La première serait une diminution de la longueur sur laquelle chaque cellule musculaire lisse s'enroule autour du vaisseau, mais sans modification de son volume cellulaire (Baumbach et Heistad, 1988). Ceci induirait donc bien une diminution du diamètre interne sans modification du volume de la paroi artérielle. La deuxième possibilité est une augmentation du nombre de fois où chaque cellule musculaire lisse s'enroule autour de l'artère considérée (Baumbach et Heistad, 1988), ce qui correspond à une augmentation de la « wrapping distance » : longueur sur laquelle une cellule s'enroule autour du vaisseau (Figure 31).

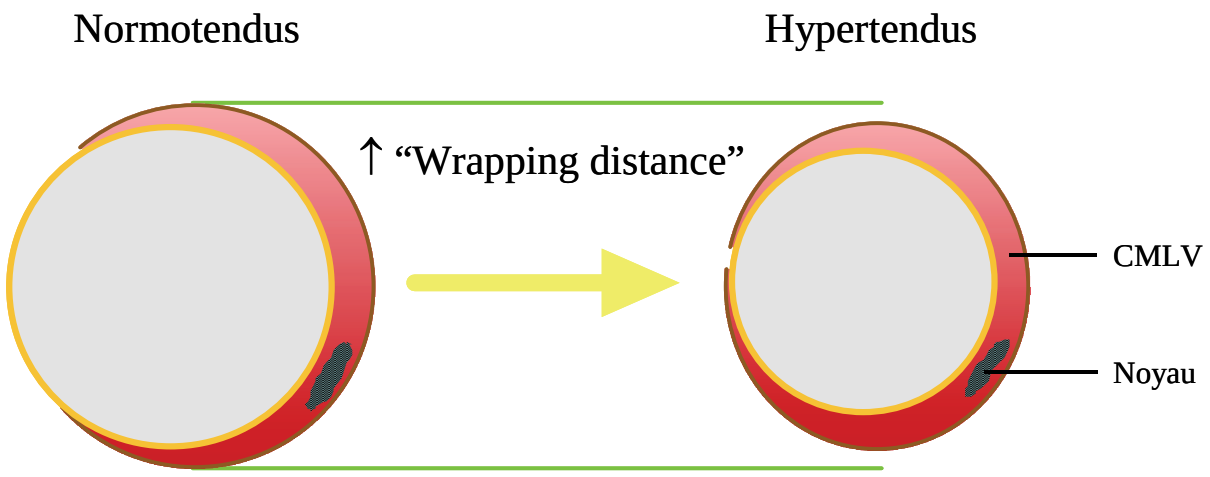


Figure 31 : Représentation sur une coupe transversale d'artère de l'augmentation de la distance sur laquelle les cellules musculaires lisses s'enroulent autour du vaisseau (« wrapping distance »). CMLV : cellules musculaires lisses vasculaires. D'après Baumbach (communication personnelle, 2000).

Pour pouvoir vérifier cette hypothèse et savoir laquelle de ces deux possibilités pourrait intervenir, il faut pouvoir disposer d'une méthode d'étude histologique ne détériorant pas la structure intrinsèque de la paroi artériolaire. Selon Baumbach et Ghoneim, la microscopie laser confocale est une technique envisageable pour atteindre ce but (Baumbach et Ghoneim, 1993). En effet, cette technique ne nécessite pas de déshydratation préalable des tissus (qui provoque un rétrécissement important susceptible d'altérer la structure de l'échantillon) ni de digestion enzymatique ou autres manipulations mécaniques pour visualiser différentes sections de l'artère ou de l'artériole (Baumbach et Ghoneim, 1993).

La première étude réalisée en utilisant cette technique pour décrire le remodelage des artères et artérioles au cours de l'hypertension a été réalisée en 1996 (Arribas, *et al.*, 1996). Les auteurs ont montré que les artères basilaires de rats SHRSP subissent un remodelage eutrophique centripète, et l'utilisation de la microscopie laser confocale a permis de mettre en évidence sur ces artères basilaires de rats SHRSP des zones très localisées de désorganisation des cellules musculaires lisses au niveau de la media (Arribas, *et al.*, 1996). Ces zones de désorganisation, au nombre de 2 ou plus par artère, se caractérisent par une modification de l'orientation des cellules musculaires lisses par rapport à l'axe de l'artère. En effet, chez les rats WKY, les cellules musculaires lisses sont toutes parallèles et orientées perpendiculairement à l'axe du vaisseau (puisque s'enroulant autour de celui-ci, Figure 32). Au niveau des lésions des rats SHRSP, les cellules musculaires lisses semblent être orientées aléatoirement et non plus perpendiculairement à l'axe de l'artère (Figure 32). La présence de ces lésions semble être indépendante de la pression artérielle et de l'âge des animaux (Arribas, *et al.*, 1996). Ces lésions, très localisées au niveau de l'artère basilaire, ne semblent toutefois pas être impliquées dans le remodelage eutrophique centripète. En effet, la même technique de microscopie confocale a été utilisée sur des artères basilaires de rats WKY traités par le L-NAME (Arribas, *et al.*, 1997b). L'hypertension induite par le L-NAME a provoqué un remodelage eutrophique centripète de l'artère basilaire qui n'est pas associé à la présence de lésions semblables à celles des rats SHRSP (Arribas, *et al.*, 1997b). La présence de ces altérations de l'organisation des cellules musculaires lisses au sein de la media semble donc être plus liée à des facteurs génétiques qu'au développement du remodelage eutrophique centripète.

En revanche, dans cette même étude, les auteurs ont pu mettre en évidence une diminution du nombre de cellules musculaires lisses au niveau de la media, associée à une augmentation du nombre de cellules au niveau de l'adventice (Arribas, *et al.*, 1997b). Selon

les auteurs, ceci pourrait s'expliquer par une migration des cellules musculaires lisses de la media vers l'adventice (Arribas, *et al.*, 1997b). Cette migration cellulaire pourrait jouer un rôle dans le remodelage eutrophique centripète puisque l'augmentation du nombre de cellules au niveau de l'adventice a été observée dans une autre étude réalisée sur des artères mésentériques de rats SHRSP qui développent également un remodelage eutrophique centripète (Arribas, *et al.*, 1997a). Dans cette dernière expérimentation, les auteurs ont par ailleurs mis en évidence la présence de cellules à noyaux « atypiques » au niveau de la media (Arribas, *et al.*, 1997a). Selon les auteurs, ces cellules pourraient être soit des cellules musculaires lisses présentant une orientation particulière ou un phénotype différent, soit des cellules provenant de l'adventice (Arribas, *et al.*, 1997a).

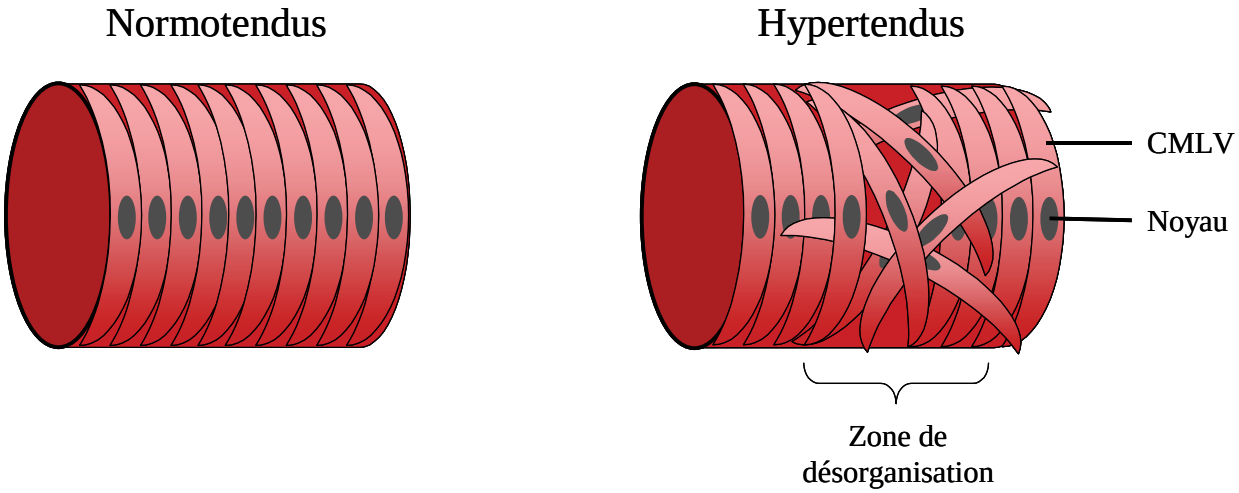


Figure 32 : Représentation de l'organisation et de l'orientation des cellules musculaires lisses de l'artère basilaire chez des rats normotendus et hypertendus. Les zones de désorganisation correspondent à des lésions très localisées où les cellules musculaires lisses ne sont plus orientées perpendiculairement à l'axe de l'artère. CMLV : cellules musculaires lisses vasculaires. D'après Arribas, *et al.*, 1996.

Ainsi, l'adventice et la migration des cellules musculaires lisses pourraient jouer un rôle non négligeable dans le remodelage eutrophique centripète consécutif à l'hypertension. Cependant, aucun des résultats rapportés ci-dessus ne porte sur la longueur des cellules musculaires lisses ou sur leur enroulement autour de l'artère : en effet, dans ces études, la visualisation et l'identification des cellules sont uniquement basées sur la forme de leurs

noyaux. Dans l'état actuel de la littérature, il n'existe pas à notre connaissance d'étude permettant de confirmer ou d'infirmer l'hypothèse de Baumbach et Heistad.

3.1.3. Modification de la matrice extracellulaire

Bakker et coll. ont pu montrer, sur des artérioles de rats Wistar isolées en culture, qu'une vasoconstriction active chronique (produite par l'endothéline 1 ou du sérum de veau fœtal) induit un remodelage eutrophique centripète (Bakker, *et al.*, 2002). La prévention de la constriction par différents agents vasodilatateurs prévient ce remodelage (Bakker, *et al.*, 2002). En revanche, une diminution passive du diamètre artériolaire, obtenue en exposant les artérioles isolées à des pressions très faibles, n'induit pas de remodelage eutrophique (Bakker, *et al.*, 2002). Cette étude suggère que la diminution de diamètre interne des artérioles induite par une vasoconstriction chronique se retrouve « figée » par une modification structurale de la paroi artériolaire (Figure 33). Ceci pourrait être le cas dans l'hypertension artérielle, où la « fixation » de cette vasoconstriction chronique engendrerait le remodelage eutrophique centripète.

Or, la matrice extracellulaire joue en quelque sorte le rôle de ciment qui assure la cohésion de la structure de la paroi. L'hypothèse énoncée ci-dessus suppose donc une évolution de la composition de la matrice extracellulaire mais également une modification de ses interactions avec les cellules, afin de transformer une diminution active du diamètre en modification structurale (Figure 33). Par ailleurs, nous avons évoqué la possibilité que le remodelage eutrophique centripète soit dû à la migration et au réarrangement des cellules musculaires lisses de la paroi. Ces migrations et ces réarrangements de cellules ne peuvent être envisageables que si la matrice extracellulaire, le « ciment » de la paroi, se modifie au cours de l'hypertension : il est nécessaire de « briser » la structure existante pour permettre les mouvements de cellules avant de « figer » à nouveau l'ensemble.

La matrice extracellulaire n'est pas, en effet, une structure figée, mais sa composition et ses caractéristiques peuvent évoluer et s'adapter à différentes conditions hémodynamiques. Ainsi, au cours de l'hypertension, des modifications de la composition et/ou de l'organisation des différents constituants de la matrice extracellulaire ainsi que de leurs interactions avec les cellules pariétales pourraient jouer un rôle primordial dans les altérations structurales des vaisseaux et dans le développement du remodelage eutrophique centripète.

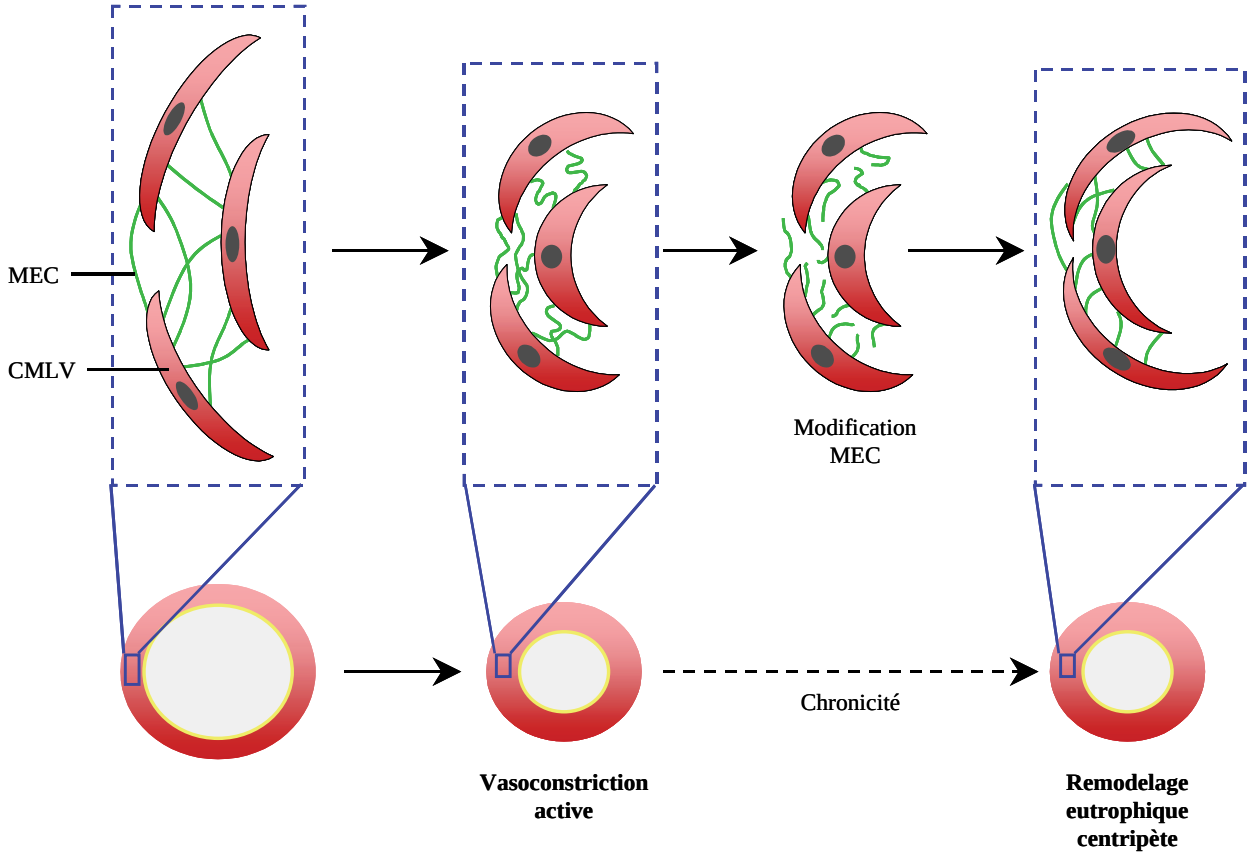


Figure 33 : Schéma du rôle potentiel de la matrice extracellulaire dans le développement du remodelage eutrophique centripète consécutif à une vasoconstriction chronique. MEC : matrice extracellulaire ; CMLV : cellules musculaires lisses vasculaires.

Les principales macromolécules de la matrice extracellulaire sont des polysaccharides (glycosaminoglycanes et protéoglycanes) et des protéines fibreuses de structure (collagènes et élastine) ou d'adhérence (fibronectine et laminine). La synthèse de ces protéines est assurée par les cellules de la paroi vasculaire (cellules musculaires lisses, fibroblastes) qui sécrètent également des MMP, des désintégrines et des inhibiteurs des MMP (TIMP : « Tissue Inhibitor of Metalloproteinase ») (Tyagi, 2000). Les MMP sont des enzymes qui assurent la dégradation du collagène et des autres protéines de la matrice. La production de ces MMP et de leurs inhibiteurs, les TIMP, permet l'évolution et la régulation de la composition et de la structure de la matrice extracellulaire (Tyagi, 2000). Cet aspect dynamique de la composition de la matrice extracellulaire pourrait donc permettre le réarrangement des différents constituants de la paroi au cours de l'hypertension artérielle et donc le remodelage eutrophique centripète.

En effet, l'hypertension artérielle chronique perturbe cette composition de la matrice extracellulaire. Elle induit au niveau de la paroi des artères mésentériques une accumulation de collagène chez les rats SHR (Intengan, *et al.*, 1999) ou de fibronectine chez les rats SHRSP (Kim, *et al.*, 1995 ; Intengan et Schiffrin, 2001) ou dans un modèle d'hypertension systolique induite par l'aldostérone (Pu, *et al.*, 2003). Au niveau des artérioles cérébrales, une augmentation de la quantité de collagène a pu être observée sur des patients hypertendus (Roggendorf, *et al.*, 1988). De même, une accumulation de fibronectine et de collagène au niveau de la paroi des artérioles cérébrales a été mise en évidence au cours d'une hypertension rénovasculaire (modèle 1 rein, 1 clip) chez des rats Wistar femelles (Nag, 1996 ; Nag et Kilty, 1997). Ces modifications des contenus en collagène et fibronectine au cours de l'hypertension pourraient être liées à des altérations de l'activité de différentes MMP. En effet, les activités enzymatiques des MMP-1 (Intengan et Schiffrin, 1999), MMP-2 (Intengan et Schiffrin, 1999) et MMP-3 (Hein, *et al.*, 1996 ; Castro, *et al.*, 1999) semblent diminuées au niveau des artères mésentériques des rats SHR. Une étude récente montre que, sur des artères carotides en culture, une pression élevée augmente l'activité de la MMP-9, ce qui jouerait un rôle dans le remodelage vasculaire (Lehoux, *et al.*, 2004). Enfin, l'activité de la MMP-2 est augmentée de façon transitoire chez les rats traités par le L-NAME, bien que cela ne semble pas avoir d'influence sur le remodelage eutrophique centripète (Bouvet, *et al.*, 2005).

Rôle des intégrines

De plus, à côté de ces altérations de la composition de la matrice extracellulaire, l'hypertension artérielle chronique perturbe également l'expression des intégrines. Les intégrines sont une famille de récepteurs cellulaires qui jouent un rôle primordial dans les interactions entre les cellules et la matrice extracellulaire. Elles assurent la connexion entre la matrice extracellulaire et le cytosquelette et exercent donc un rôle privilégié dans l'ancrage et dans la migration des cellules pariétales, ainsi que dans la transduction des signaux mécaniques telles que pression transmurale ou forces de cisaillement (Martinez-Lemus, *et al.*, 2003). Le collagène et la fibronectine sont, parmi d'autres protéines de la matrice extracellulaire, leurs principaux ligands (Akiyama, 1996). Les intégrines jouent également un rôle dans la production des protéines de la matrice extracellulaire et des MMP (Martinez-Lemus, *et al.*, 2003).

Ainsi, la fixation de fragment de collagène I sur des intégrines β_3 induit l'activation de MAPK, qui aboutit à une augmentation de l'expression de la tenascine-C (Jones, *et al.*,

1999a). Or, la tenascine-C est une protéine de la matrice extracellulaire dont l'expression est augmentée dans les artères subissant un remodelage (Jones et Jones, 2000). Par ailleurs, il a été démontré depuis plusieurs années qu'un étirement cyclique des cellules musculaires lisses vasculaires en culture provoque une augmentation de la synthèse de certaines molécules de la matrice extracellulaire, comme les collagènes de type I et III (Leung, *et al.*, 1976). Or, les intégrines étant impliquées dans la perception des forces mécaniques, elles sont susceptibles de transformer ces signaux mécaniques en signaux intracellulaires induisant une augmentation de l'expression des protéines de la matrice extracellulaire (Chiquet, 1999) (Figure 34). Cependant, aucune preuve directe de ce rôle potentiel des intégrines n'a encore été rapportée (Martinez-Lemus, *et al.*, 2003). En plus de ce rôle dans la stimulation de la production des protéines constitutives de la matrice extracellulaire, les intégrines participent également au contrôle de la production de différentes MMP (Figure 34). Ainsi, la production de MMP-2 et MMP-9 est stimulée par liaison du collagène de type VIII aux intégrines $\alpha_1\beta_1$ et $\alpha_2\beta_1$ (Hou, *et al.*, 2000), de même que par la liaison de l'ostéopontine et de la tenascine-C aux intégrines $\alpha_V\beta_3$ (Bendeck, *et al.*, 2000 ; Jian, *et al.*, 2001). Comme nous l'avons déjà précisé, cette production de MMP induite par les intégrines pourrait permettre la migration et le réarrangement des cellules de la paroi artérielle (Figure 34). Nous avons également évoqué que les intégrines jouent un rôle direct dans la migration des cellules de par la formation des complexes d'adhésion focale (cf. PARTIE 1 : I. 2.1.1.), structures moléculaires complexes associant les intégrines aux protéines du cytosquelette par l'intermiédiaire de protéines à activité tyrosine kinase (Figure 34).

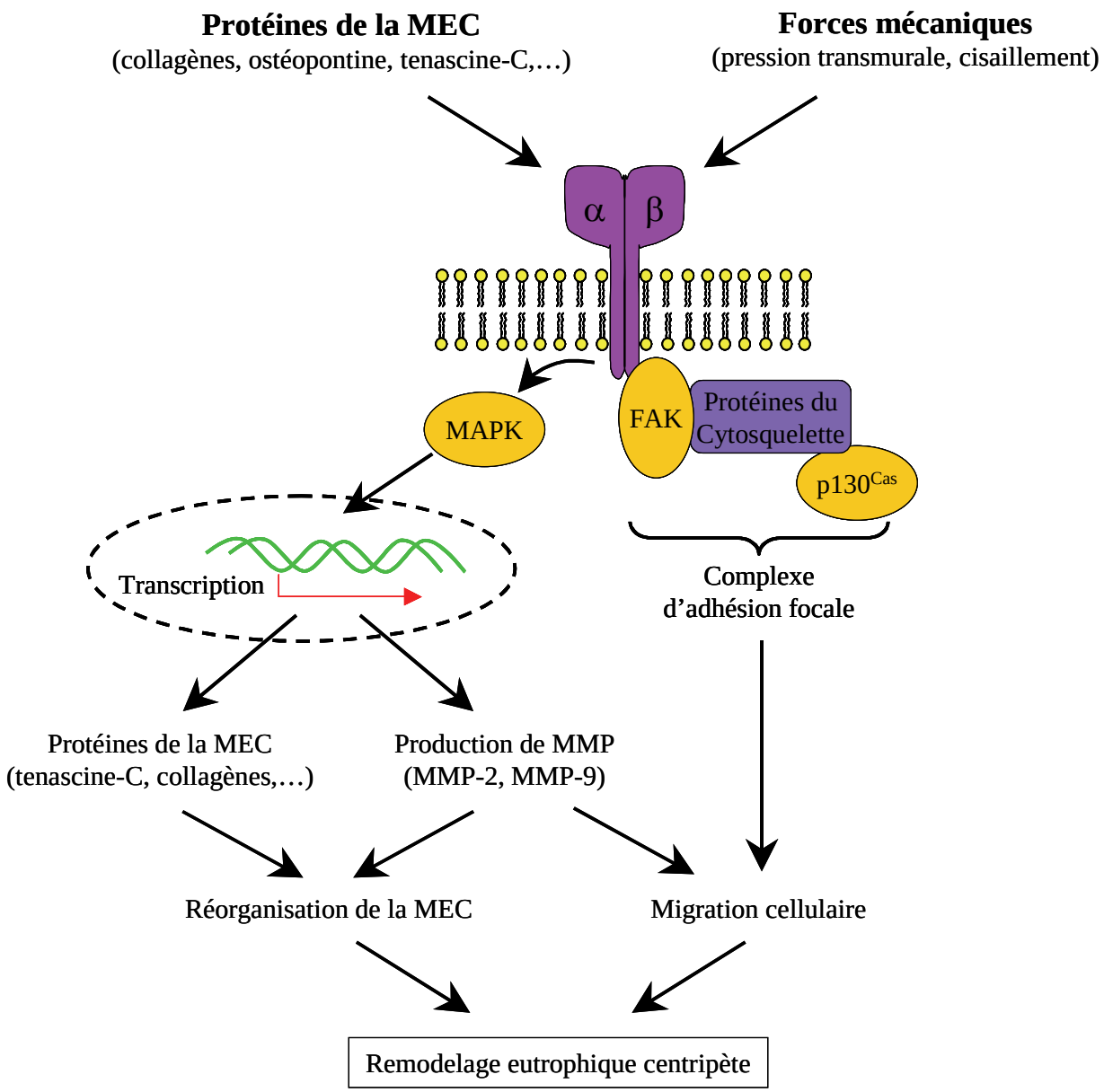


Figure 34 : Schéma du rôle potentiel des intégrines dans le développement du remodelage eutrophique centripète. MEC : matrice extracellulaire ; αβ : intégrines ; FAK : kinases des complexes d'adhésion focale (« focal adhesion kinases ») ; MAPK : « mitogen activated protein kinase » ; MMP : métalloprotéinases matricielles.

Ces intégrines pourraient donc jouer un rôle central dans le développement du remodelage eutrophique centripète (Intengan et Schiffrin, 2000, 2001) (Figure 34). En effet, au niveau des artérioles mésentériques de rats SHR, l'expression des intégrines $\alpha_5\beta_1$ et $\alpha_V\beta_3$ augmente avec l'âge, ce qui n'est pas le cas chez leurs témoins normotendus (Intengan, *et al.*, 1999). Dans une étude plus récente, réalisée sur le modèle de remodelage *in vitro* décrit par Bakker et coll. (Bakker, *et al.*, 2000 ; Bakker, *et al.*, 2002), les auteurs ont pu montrer que les

intégrines, notamment les intégrines contenant la sous-unité β_3, peuvent atténuer le développement du remodelage eutrophique centripète (Bakker, *et al.*, 2004). En effet, l'utilisation d'un anticorps dirigé spécifiquement contre cette sous-unité β_3 augmente le remodelage eutrophique centripète (Bakker, *et al.*, 2004). Ces résultats suggèrent que les intégrines β_3 interviendraient dans un mécanisme de compensation limitant le remodelage eutrophique centripète. L'augmentation de l'expression de l'intégrine $\alpha_V\beta_3$ avec l'âge chez les rats SHR (Intengan, *et al.*, 1999) pourrait donc contribuée à limiter les altérations structurales observées chez ces animaux. L'ensemble de ces résultats laisse penser que certaines intégrines pourraient jouer un rôle direct dans le développement du remodelage eutrophique centripète au cours de l'hypertension artérielle.

Toutes ces altérations de la composition de la matrice extracellulaire en collagène et/ou en fibronectine, ainsi que les perturbations de l'expression de leurs récepteurs cellulaires, les intégrines, pourraient conduire à une modification quantitative et/ou topographique des interactions entre les cellules musculaires lisses et la matrice, ce qui pourrait aboutir à un réarrangement des cellules et à une paroi vasculaire restructurée (Intengan et Schiffrin, 2000, 2001). Les intégrines pourraient donc jouer un rôle essentiel dans le remodelage eutrophique centripète. Cependant, le rôle précis de ces intégrines n'est pas encore déterminé et nécessite de plus amples investigations.

3.1.4. Inflammation vasculaire

D'autres modifications de la matrice extracellulaire de la paroi des vaisseaux surviennent au cours de l'hypertension artérielle chronique et pourraient également être impliquées dans le développement du remodelage eutrophique centripète. En effet, une inflammation chronique de la paroi vasculaire ainsi qu'une augmentation du stress oxydant sont observées aussi bien chez les animaux que chez les patients hypertendus (Dzau, 2001 ; Alexander, 1995 ; Egashira, 2002). L'inflammation de la paroi vasculaire serait en grande partie due à la production de RLO.

Ainsi, l'administration à des rats SHR d'une SOD recombinante à haute affinité pour l'endothélium vasculaire permet de diminuer leur pression artérielle, tandis que l'administration d'une SOD normale n'a aucun effet (Nakazono, *et al.*, 1991). Cette même SOD recombinante administrée à des rats normotendus n'a pas d'effet sur la pression artérielle (Nakazono, *et al.*, 1991). Cette étude démontre que la production locale de RLO au

niveau de la paroi vasculaire est augmentée au cours de l'hypertension et suggère qu'elle serait impliquée dans la pathogenèse de cette maladie. D'autre part, chez le chat, une hypertension aiguë, provoquée soit par la noradrénaline (Kontos, *et al.*, 1981) soit par une lésion cérébrale (Wei, *et al.*, 1981), induit une augmentation de la production de RLO. Cette augmentation du stress oxydant serait par ailleurs responsable des altérations structurales de l'endothélium et de la media observées sur les artérioles cérébrales de ces animaux (Kontos, *et al.*, 1981 ; Wei, *et al.*, 1981). Ces résultats ont été reproduits plus récemment chez le rat (Zhang et Ellis, 1991).

Les RLO pouvant réagir avec le NO, l'augmentation du stress oxydant au cours de l'hypertension entraînerait une augmentation du catabolisme du NO produit par les cellules endothéliales (Dzau, 2001). Or, au niveau des cellules endothéliales humaines, le NO inhibe l'expression du gène NF-κB (Peng, *et al.*, 1995), considéré comme jouant un rôle majeur dans le processus inflammatoire de la paroi vasculaire (Virdis et Schiffrin, 2003). Ainsi, l'inhibition de la synthèse de NO augmente l'expression de ce gène au niveau des cellules endothéliales des artérioles et capillaires cérébraux de rats (Blais et Rivest, 2001) (Figure 35). Par ailleurs, le NO inhibe également la production par les cellules endothéliales de cytokines pro-inflammatoires, telles que l'interleukine-6 ou l'interleukine-8, ainsi que l'expression des molécules d'adhésion cellulaire telles que VCAM-1 ou ICAM-1, indispensables au recrutement des leucocytes lors d'une réaction inflammatoire (De Caterina, *et al.*, 1995) (Figure 35). En effet, l'hypertension induite chez les rats par un blocage chronique de la synthèse de NO induit une activation et un recrutement des monocytes au niveau de la paroi vasculaire (Koyanagi, *et al.*, 2000). Ces monocytes activés semblent jouer un rôle central dans l'inflammation et le remodelage de la paroi artérielle induits par l'hypertension (Ishibashi, *et al.*, 2004). Enfin, comme nous l'avons déjà évoqué (cf. PARTIE 1 : I. 2.1.1.), les RLO sont susceptibles d'augmenter l'activité des MMP mais également d'activer les MAPK ou certaines protéines à activité tyrosine kinase susceptibles de conduire à l'apoptose ou la prolifération cellulaire (Touyz, *et al.*, 2003) (Figure 35). L'inflammation chronique et la production de RLO pourraient donc contribuer au réarrangement et au changement de composition de la matrice extracellulaire.

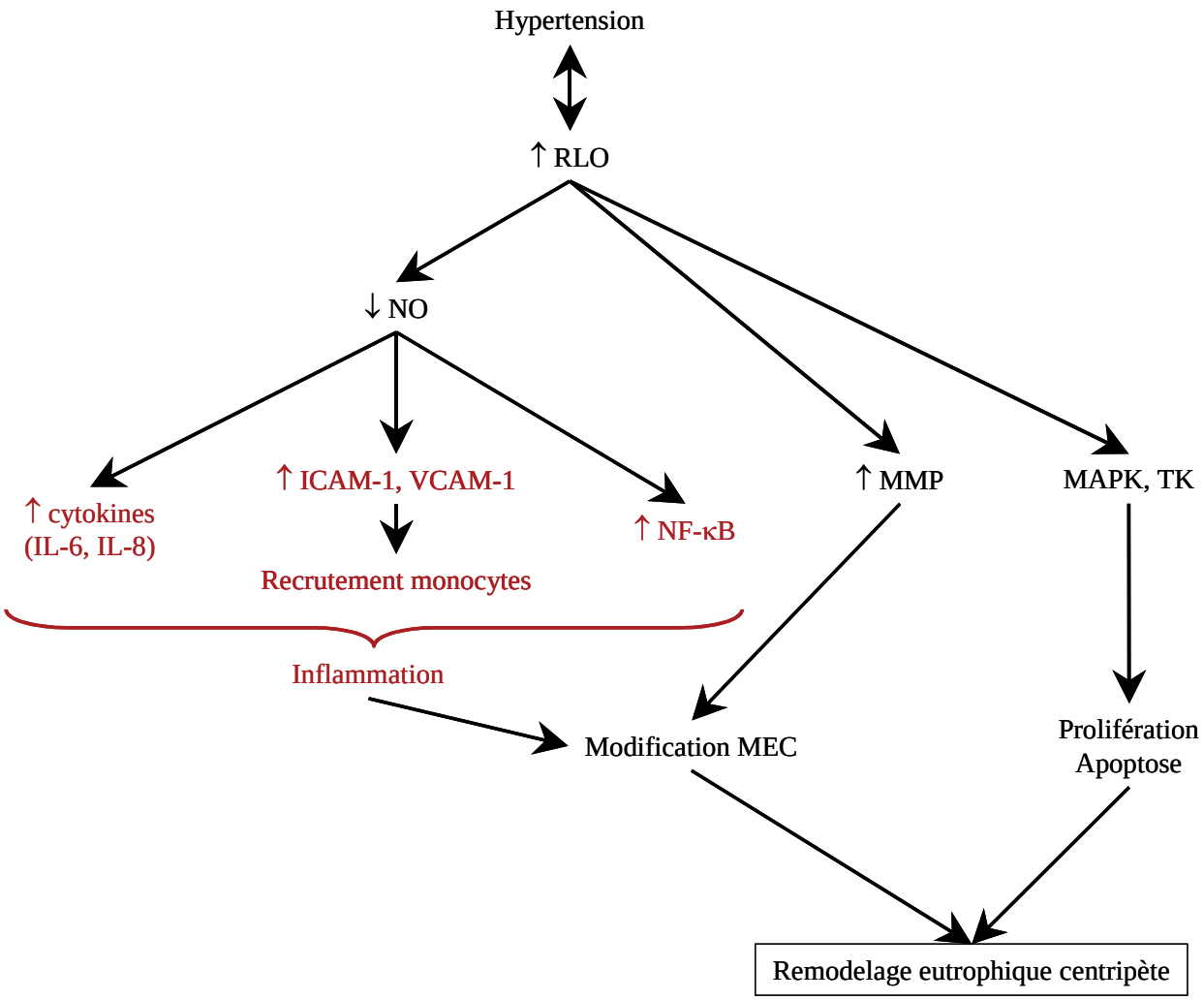


Figure 35 : Schéma du rôle potentiel du stress oxydant et de l'inflammation dans le développement du remodelage eutrophique centripète. RLO : radicaux libres oxygénés ; NO : oxyde nitrique ; IL : interleukine ; ICAM-1 : « intercellular cell adhesion molecule-1 » ; VCAM-1 : « vascular cell adhesion molecule-1 » ; MMP : métalloprotéinases matricielles ; MEC : matrice extracellulaire ; MAPK : « mitogen activated protein kinase » ; TK : enzymes à activité tyrosine kinase.

Ainsi, la dégradation du NO par les RLO serait donc susceptible d'induire et d'entretenir une réaction inflammatoire au niveau de la paroi vasculaire. Cette inflammation chronique pourrait contribuer au remodelage des artérioles cérébrales notamment en modifiant la composition de la matrice extracellulaire et l'expression des intégrines ou d'autres molécules d'adhésion cellulaire (Intengan et Schiffrin, 2001), mais également en participant à l'apoptose et à la prolifération des cellules musculaires lisses (Suematsu, *et al.*, 2002).

3.1.5. Conclusion

Les mécanismes impliqués dans le remodelage eutrophique centripète des artères et artérioles de résistance ne sont donc pas encore entièrement élucidés.

Les différents processus que nous venons d'envisager interviennent probablement de concert. Ainsi, les variations de composition de la matrice extracellulaire induites par les intégrines et l'inflammation chronique de la paroi pourraient permettre une réorganisation de ses différents constituants, en autorisant notamment la migration et le réarrangement des cellules. L'apoptose combinée à la croissance pourrait également intervenir et favoriser la réduction chronique de diamètre externe des artères et artérioles de résistance. Parmi les différents facteurs envisagés, les intégrines seraient un des maillons essentiels du remodelage eutrophique centripète de par leur rôle primordial dans la transmission des informations entre la matrice et les cellules constitutives de la paroi.

3.2. Déterminants du remodelage eutrophique centripète

Les seules augmentations de pressions artérielles ou artériolaires ne semblent pas suffisantes pour induire le remodelage eutrophique centripète puisque certains modèles non génétiques d'hypertension artérielle chronique comme les rats Sprague-Dawley 1 rein, 1 clip ne développent pas ce type de remodelage (Baumbach et Hajdu, 1993). De même, les facteurs endothéliaux ne semblent pas non plus impliqués dans la survenue du remodelage eutrophique centripète : d'une part, un traitement chronique par un antagoniste non sélectif des récepteurs de l'endothéline 1 ne permet pas de prévenir l'apparition de ce remodelage eutrophique chez les rats SHRSP (Chillon, *et al.*, 1996), et d'autre part, l'hypertension induite par le L-NAME chez des rats Sprague-Dawley n'engendre pas de remodelage eutrophique au niveau des artérioles cérébrales (Chillon, *et al.*, 1997). Les facteurs responsables du remodelage eutrophique centripète diffèrent donc, du moins en partie, de ceux contribuant au remodelage hypertrophique. Parmi ces facteurs, le plus important semble être le système rénine angiotensine aldostérone, mais des facteurs génétiques pourraient également intervenir (Figure 36).

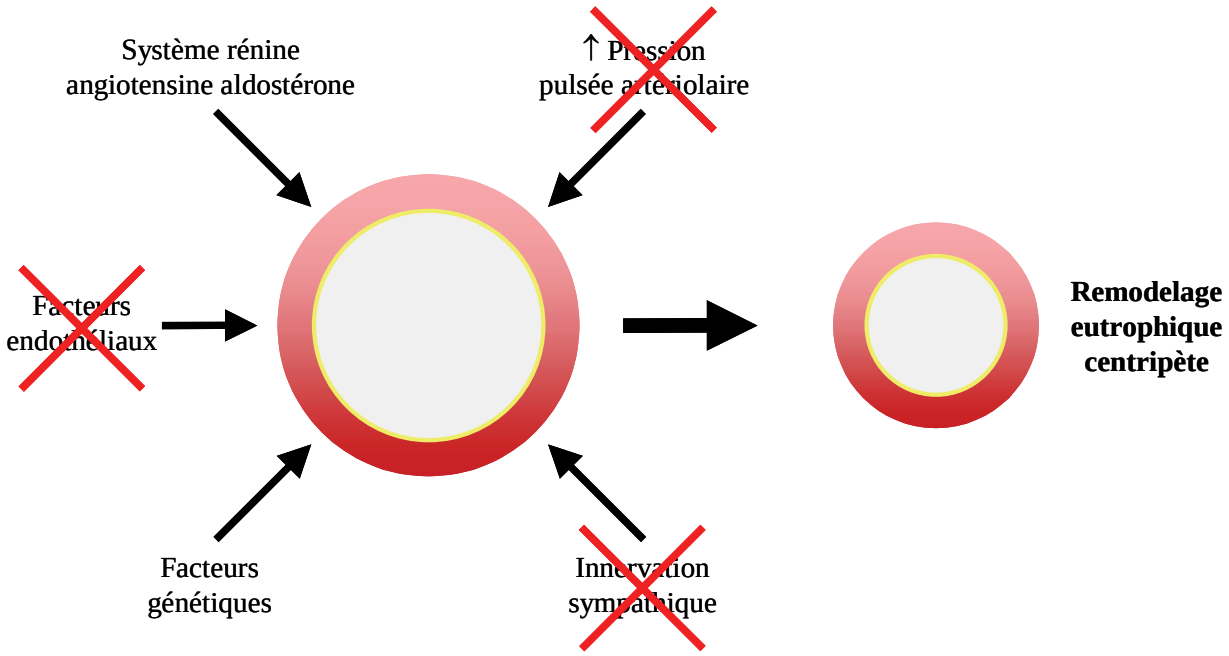


Figure 36 : Principaux déterminants du remodelage eutrophique centripète des artérioles cérébrales (représentées en coupe transversale) au cours de l'hypertension artérielle chronique.

3.2.1. Système rénine angiotensine aldostérone

Implication du système rénine angiotensine aldostérone dans le remodelage eutrophique centripète

Nous avons vu que le remodelage eutrophique centripète est l'altération structurale prépondérante au niveau des artères de resistance chez les patients souffrant d'hypertension artérielle, de même que dans différents modèles expérimentaux d'hypertension chronique (cf. PARTIE 1 : III. 1.2.2.). Or, selon Intengan et Schiffrin, il semble que, d'un point de vue général et quelque soit le lit vasculaire considéré, le remodelage eutrophique soit plus particulièrement important dans les formes expérimentales d'hypertension où le système rénine angiotensine est activé (Intengan et Schiffrin, 2000, 2001).

Ainsi, nous avons vu que les rats SHR, tout comme les rats hypertendus transgéniques Ren2, présentent une activité du système rénine angiotensine aldostérone tissulaire très élevée (cf. PARTIE 1 : I. 3.). Or, les rats SHR développent un remodelage eutrophique centripète dans différents lits vasculaires (mésentérique, cérébral, fémoral ou coronaire) (Thybo, *et al.*, 1994). Ce remodelage eutrophique centripète revêt une importance capitale chez les rats SHR

puisque l'indice de remodelage eutrophique atteint généralement des valeurs égales ou supérieures à 90 % (Deng et Schiffrin, 1992b ; Heagerty, *et al.*, 1993) (Tableau 1). Par ailleurs, des travaux réalisés sur les artères mésentériques des rats transgéniques Ren2 ont mis en évidence la présence d'un remodelage eutrophique centripète, responsable, là aussi, de plus de 90 % de la réduction du diamètre interne (Thybo, *et al.*, 1992 ; Heagerty, *et al.*, 1993) (Tableau 1). Dans ces deux modèles d'hypertension artérielle, l'augmentation de la production locale d'angiotensine I et II par les parois artérielles et artériolaires contribuerait, par un mécanisme paracrine, au développement du remodelage eutrophique centripète.

De plus, une activation du système rénine angiotensine aldostérone plasmatique est également susceptible de participer au développement de ce remodelage eutrophique. Ainsi, deux modèles d'hypertension rénovasculaire ont été développés chez le rat. L'un de ces modèles consiste à poser un clip au niveau d'une artère rénale chez des rats normotendus (modèle Goldblatt 2 reins, 1clip). L'autre modèle consiste à réaliser une néphréctomie unilatérale et à poser un clip sur l'artère rénale du rein subsistant (modèle Goldblatt 1 rein, 1clip). Ces deux modèles produisent une élévation substantielle de la pression artérielle. Cependant, des différences existent entre ces deux modèles. En effet, dans le modèle 2 reins, 1 clip, l'activité du système rénine angiotensine aldostérone plasmatique est plus élevée que chez les témoins normotendus, ce qui n'est pas le cas du modèle 1 rein, 1 clip (Leenen, *et al.*, 1975 ; Douglas, *et al.*, 1975). Or, si ces deux modèles développent un remodelage eutrophique centripète au niveau des artères mésentériques, les valeurs d'indice de remodelage eutrophique atteignent 90 % dans le modèle 2 reins, 1 clip (Deng et Schiffrin, 1991 ; Heagerty, *et al.*, 1993 ; Li, *et al.*, 1996) alors qu'elles ne dépassent pas 70 % dans le modèle 1 rein, 1 clip (Korsgaard et Mulvany, 1988 ; Heagerty, *et al.*, 1993) (Tableau 1). Ces résultats laissent supposer qu'une augmentation de l'activité plasmatique du système rénine angiotensine aldostérone induit un remodelage eutrophique plus important au niveau des artères de résistance.

Ainsi, les trois exemples cités ci-dessus (rats hypertendus transgéniques, SHR et rats 2 reins, 1 clip) confirment le postulat d'Intengan et Schiffrin énoncé au début de ce chapitre, et semblent montrer qu'une élévation de l'activité du système rénine angiotensine aldostérone, qu'elle soit tissulaire (notamment au niveau de la paroi artérielle chez les rats SHR ou transgéniques) ou systémique (rats 2 reins, 1 clip), joue un rôle important dans le développement du remodelage eutrophique centripète.

Au niveau des artérioles cérébrales, la première indication que le système rénine angiotensine aldostérone est impliqué dans le développement du remodelage eutrophique centripète vient de l'expérimentation de Hajdu et coll. dans laquelle des rats SHRSP ont été traités soit par l'hydralazine, soit par le cilazapril, un IEC (Hajdu, *et al.*, 1991). Dans cette étude, le cilazapril s'est révélé beaucoup plus efficace que l'hydralazine pour atténuer le remodelage eutrophique centripète. Cependant, le cilazapril était également plus efficace que l'hydralazine pour réduire la pression des rats hypertendus (Hajdu, *et al.*, 1991). Pour permettre de différencier les effets pression-dépendants des effets pression-indépendants, une autre étude a été conduite par le même groupe en utilisant cette fois deux doses d'un autre IEC, le perindopril : une forte dose normalisant la pression artérielle et une faible dose ayant un impact minimal sur celle-ci. Les effets du perindopril ont été comparés aux effets du propranolol, un bêta-bloquant, dont la dose était ajustée pour obtenir le même effet sur la pression que la forte dose de perindopril. Un dernier groupe de rats SHRSP a été traité par une combinaison du propranolol et de la faible dose de perindopril (Chillon et Baumbach, 1999). Les résultats de cette étude ont montré que le remodelage eutrophique centripète des artérioles cérébrales est fortement atténué par le perindopril, que la dose employée ait ou non un impact sur la pression artériolaire. Le propranolol utilisé seul n'a pas d'impact sur le remodelage eutrophique, malgré la réduction de pression observée. Enfin, l'ajout de propranolol à la dose faible de perindopril normalise les pressions artériolaires mais n'a pas plus d'effet sur le remodelage eutrophique centripète que la dose faible de perindopril seule (Chillon et Baumbach, 1999). Cette étude démontre donc que le remodelage eutrophique centripète des artérioles cérébrales n'est pas dépendant de la pression artériolaire, mais aussi que le système rénine angiotensine aldostérone est fortement impliqué dans le développement et/ou le maintien de ce remodelage eutrophique.

Plus récemment, le même groupe a utilisé des modèles de souris transgéniques pour mettre en évidence l'implication de ce système dans le développement du remodelage eutrophique centripète. Dans cette étude, les auteurs ont utilisé deux modèles de souris hypertendues : des souris spontanément hypertendues de souches BPH-2 et des souris transgéniques (R+/A+) surexprimant les gènes humains de la rénine et de l'angiotensinogène (Baumbach, *et al.*, 2003). Les souris BPH-2 représentent un modèle d'hypertension artérielle chronique dans lequel le système rénine angiotensine aldostérone semble ne pas être plus activé que chez des souris normotendues (Iwao, *et al.*, 1984). En revanche, les souris R+/A+ présentent une activité rénine plasmatique et un taux plasmatique d'angiotensine II beaucoup

plus élevés que les souris normotendues (Merrill, *et al.*, 1996). La comparaison de la structure et de la distensibilité des artérioles cérébrales de ces deux modèles avec des souris contrôles normotendues a permis de montrer que les souris R+/A+ développent un remodelage eutrophique centripète, mais pas les souris BPH-2 (Baumbach, *et al.*, 2003) (Tableau 1). Cette étude démontre une fois de plus que la seule élévation de pression ne suffit pas à engendrer le remodelage eutrophique centripète des artérioles cérébrales, mais aussi et surtout que le système rénine angiotensine est fortement impliqué dans le développement de ce dernier. L'ensemble des résultats que nous venons d'exposer permet de penser que le système rénine angiotensine aldostérone constitue bien l'un des principaux déterminants du remodelage eutrophique centripète, notamment au niveau des artérioles cérébrales.

Cependant, quelques expériences semblent contester ce rôle potentiel du système rénine angiotensine aldostérone dans le remodelage eutrophique. D'une part, une étude comparant les modifications structurales des artères de résistance de patients hypertendus a montré que l'indice de remodelage eutrophique est plus faible chez les patients souffrant d'hypertension rénovasculaire (environ 70 %, Tableau 1) que chez les patients souffrant d'hypertension essentielle ou d'autres formes d'hypertension secondaires (90 % ou plus) (Rizzoni, *et al.*, 1996). Or, l'hypertension rénovasculaire est une forme d'hypertension artérielle due à une augmentation de l'activité du système rénine angiotensine aldostérone. Cependant, dans cette même étude, les artères de résistance de patients souffrant d'hyperaldostéronisme primaire présentent un indice de remodelage eutrophique centripète de 90 % (Tableau 1), laissant supposer que l'aldostérone puisse être impliquée dans le développement du remodelage eutrophique centripète (Rizzoni, *et al.*, 1996). Ces résultats semblent donc partiellement en contradiction avec les résultats obtenus dans des modèles expérimentaux d'hypertension. D'autre part, une étude portant sur des rats recevant une perfusion chronique d'angiotensine II tend également à exclure un rôle significatif du système rénine angiotensine dans le remodelage eutrophique des artères mésentériques (Griffin, *et al.*, 1991). La perfusion chronique d'une dose faible d'angiotensine II entraîne chez les rats Sprague-Dawley une élévation lente et progressive de la pression artérielle. L'analyse de la structure des artères mésentériques des animaux perfusés montre une augmentation du rapport épaisseur pariétale/diamètre interne ainsi qu'une augmentation la SCT de leur paroi, témoin d'une hypertrophie pariétale (Griffin, *et al.*, 1991). En revanche, le remodelage eutrophique centripète est quasiment inexistant, l'indice de remodelage eutrophique calculé pour ces animaux n'étant que de 7 % (Griffin, *et al.*, 1991 ; Heagerty, *et al.*, 1993) (Tableau 1). Ainsi,

une augmentation du taux plasmatique d'angiotensine II associée à une élévation de la pression artérielle ne permettent pas d'induire un remodelage eutrophique chez les rats Sprague-Dawley. Ceci semble une fois encore en contradiction avec toutes les études citées précédemment qui tendent à prouver un rôle du système rénine angiotensine aldostérone dans la survenue et/ou le maintien du remodelage eutrophique centripète. Cependant, comme nous le verrons par la suite, les résultats de cette dernière étude pourraient s'expliquer par l'influence des facteurs génétiques (cf. PARTIE 1 : III. 3.2.2.).

Tableau 1 : Indices de remodelage eutrophique centripète (REC) d'artérioles issues de de différents modèles d'hypertension artérielle (HTA) présentant ou non une activation du système rénine angiotensine aldostérone (SRAA). Ren2 : rats transgéniques exprimant le gène Ren2 de la rénine de souris ; 2R1C : 2 reins 1 clip ; 1R1C : 1 rein 1 clip ; Ang II : angiotensine II ; R+/A+ : souris transgéniques surexprimant les gènes humains de la rénine et de l'angiotensinogène ; BPH-2 : souris hypertendues sans activation du système rénine angiotensine aldostérone. D'après Heagerty, *et al.*, 1993 ; Rizzoni, *et al.*, 1996 ; Baumbach, *et al.*, 2003.

Espèce	**Modèle**	**Activation SRAA**	**Artérioles**	**Indice de REC**	**Référence**
Rat	SHR	Tissulaire	Mésentériques	96 %	Deng et Schiffrin, 1992b
	Ren2	Tissulaire	Mésentériques	93 %	Thybo, *et al.*, 1992
	SHRSP	Plasmatique	Cérébrales	72 %	Baumbach et Heistad, 1989
	Goldblatt 2R1C	Plasmatique	Mésentériques	87 %	Deng et Schiffrin, 1991
	Goldblatt 1R1C	Non	Mésentériques	68 %	Korsgaard et Mulvany, 1988
	Sprague-Dawley Ang II	Plasmatique	Mésentériques	7 %	Griffin, *et al.*, 1991
Souris	R+/A+	Plasmatique	Cérébrales	87 %	Baumbach, *et al.*, 2003
	BPH-2	Non	Cérébrales	0 %	Baumbach, *et al.*, 2003
Homme	HTA rénovasculaire	Plasmatique	Sous-cutanées	70 %	Rizzoni, *et al.*, 1996
	Hyperaldostéronisme	Plasmatique	Sous-cutanées	90 %	Rizzoni, *et al.*, 1996

Ainsi, malgré quelques résultats discordants, un grand nombre de preuves se sont accumulées depuis plusieurs années qui tendent à démontrer que le système rénine angiotensine aldostérone joue un rôle primordial dans le développement du remodelage eutrophique centripète des artères et artérioles de résistance au cours de l'hypertension artérielle.

Mécanismes potentiels du SRAA sur le remodelage eutrophique centripète

Nous venons de montrer que le système rénine angiotensine aldostérone est vraisemblablement impliqué dans le développement du remodelage eutrophique centripète au cours de l'hypertension artérielle. Nous allons maintenant tenté d'explorer les mécanismes par lesquels les différents éléments de ce système pourraient générer un remodelage eutrophique centripète.

Système rénine angiotensine aldostérone et apoptose

Comme nous l'avons déjà évoqué, une combinaison de croissance et d'apoptose pourrait être à l'origine du remodelage eutrophique centripète (cf. PARTIE 1 : III. 3.1.1.). Nous avons vu que l'angiotensine II et l'aldostérone étaient susceptibles d'induire une hypertrophie et/ou une hyperplasie des cellules musculaires lisses, notamment par une stimulation des récepteurs AT1 (cf. PARTIE 1 : I. 2.1.1.). Or, un nombre croissant de publications s'intéresse aux effets du système rénine angiotensine aldostérone sur l'apoptose.

En effet, Yamada a démontré que la stimulation des récepteurs AT_2 de l'angiotensine II est susceptible de conduire à l'apoptose (Yamada, *et al.*, 1996). Cette étude a été réalisée sur deux souches cellulaires différentes exprimant de façon abondante les récepteurs AT_2, mais pas les récepteurs AT_1 (Yamada, *et al.*, 1996). Sur ces cellules, l'angiotensine II induit de façon dose-dépendante des modifications caractéristiques de l'apoptose (condensation du noyau, fragmentation de l'ADN, etc…). Les mécanismes intracellulaires de cette apoptose induite par les récepteurs AT_2 impliquent la déphosphorylation des MAPK par des tyrosyl-phosphatase, incluant la MPK-1 (Yamada, *et al.*, 1996). Les récepteurs AT_2 sont également capables d'induire une apoptose sur des cultures de cellules musculaires lisses aortiques de rats WKY dans lesquelles le gène codant pour ce récepteur a été transfecté (Yamada, *et al.*, 1998). Ces résultats ont par la suite été confirmés *in vivo*. Une étude portant sur des rats Wistar, recevant une perfusion chronique d'angiotensine II et un traitement par un antagoniste

des récepteurs AT_1 ou un antagoniste des récepteurs AT_2, a permis de montrer que l'activation chronique des récepteurs AT_2 induit une apoptose des cellules musculaires lisses aortiques (Diep, *et al.*, 1999). De même, chez les rats SHR, les récepteurs AT_2 induisent une diminution de la masse pariétale de l'aorte en stimulant l'apoptose des cellules musculaires lisses (Tea, *et al.*, 2000). En effet, l'induction de l'apoptose a pu être observée chez les SHR traités par un antagoniste des récepteurs AT_1, mais pas chez les SHR traités par un IEC (Tea, *et al.*, 2000). Or, les antagonistes des récepteurs AT_1 sont susceptibles de provoquer une augmentation des taux plasmatiques d'angiotensine II pouvant conduire à une stimulation plus importante des récepteurs AT_2, ce qui n'est pas le cas avec les IEC (Campbell, *et al.*, 1995).

Cependant, la stimulation des seuls récepteurs AT_1 pourrait également provoquer l'apoptose des cellules musculaires lisses. En effet, dans l'étude réalisée par Diep, la stimulation chronique des récepteurs AT_1 chez les rats Wistar traités par l'angiotensine II et par un antagoniste AT_2 entraîne également une apoptose des cellules musculaires lisses (Diep, *et al.*, 1999). Selon les auteurs, celle-ci pourrait être un mécanisme de régulation permettant de limiter la prolifération des cellules musculaires lisses induite par ces mêmes récepteurs AT_1 (Diep, *et al.*, 1999). Plus récemment, Bascands a pu montrer que la stimulation des récepteurs AT_1 sur des cellules musculaires lisses épithélioïdes en culture induit une apoptose par un mécanisme dépendant du calcium (Bascands, *et al.*, 2001).

Enfin, une étude récente montre également que l'aldostérone est capable d'induire directement l'apoptose par activation de ses récepteurs membranaires (Mano, *et al.*, 2004). En effet, l'incubation de myocytes de rats en culture en présence d'aldostérone provoque une apoptose dose-dépendante de ces cellules (Mano, *et al.*, 2004). La stimulation des récepteurs de l'aldostérone, couplés à la phospholipase C, induit l'activation de la calcineurine et la déphosphorylation de la protéine Bad, deux protéines impliquées dans les mécanismes intracellulaires de l'apoptose (Mano, *et al.*, 2004). A ce jour, aucune étude ne montre d'effet de l'aldostérone sur l'apoptose des cellules musculaires lisses vasculaires. Cependant, Mano montre dans son étude que les récepteurs membranaires de l'aldostérone présents sur les myocytes sont similaires à ceux présents au niveaux des cellules musculaires lisses vasculaires (Mano, *et al.*, 2004 ; Duprez, *et al.*, 2000). On peut donc émettre l'hypothèse que l'aldostérone est également susceptible d'induire l'apoptose des cellules musculaires lisses par l'activation de ces mêmes récepteurs membranaires.

Ainsi, le système rénine angiotensine aldostérone, par le biais des récepteurs AT_2 et AT_1 de l'angiotensine II, mais également par les récepteurs membranaires de l'aldostérone, est susceptible d'induire l'apoptose des cellules musculaires lisses. Couplées à l'action de ce système sur la prolifération cellulaire, ces propriétés pro-apoptotiques pourraient contribuer au développement du remodelage eutrophique centripète, conformément à l'hypothèse exposée précédemment (cf. PARTIE 1 : III. 3.1.1.).

Système rénine angiotensine aldostérone et migration des cellules musculaires lisses

Nous avons évoqué que le remodelage eutrophique centripète pourrait être consécutif à une migration et une réorganisation des cellules musculaires lisses de la media (cf. PARTIE 1 : III. 3.1.2.). Or, plusieurs études semblent prouver que le système rénine angiotensine aldostérone, et plus particulièrement l'angiotensine II, est impliqué dans la migration des cellules musculaires lisses.

Ainsi, Bell a démontré que l'angiotensine II induit une augmentation importante de la migration de cellules aortiques de bovin en culture (Bell et Madri, 1990). Cet effet de l'angiotensine II a par la suite était confirmé *in vivo* au niveau des artères carotides de rats Sprague-Dawley (Prescott, *et al.*, 1991). En effet, l'utilisation d'un antagoniste spécifique des récepteurs AT_1 de l'angiotensine II permet de prévenir la migration des cellules musculaires lisses de la media des artères carotides normalement observée après une lésion induite par un ballonnet (Prescott, *et al.*, 1991). De plus, l'angiotensine II stimule la migration des cellules musculaires lisses de façon dose-dépendante, *via* les récepteurs AT_1, et le NO permet de prévenir cette migration par un mécanisme dépendant du GMPc (Dubey, *et al.*, 1995).

Ainsi, le système rénine angiotensine aldostérone pourrait contribuer au développement du remodelage eutrophique centripète, notamment par l'action de l'angiotensine II sur la migration des cellules musculaires lisses.

Système rénine angiotensine aldostérone et matrice extracellulaire

Le système rénine angiotensine aldostérone pourrait jouer un rôle important dans la régulation de la composition de la matrice extracellulaire. En effet, il a été démontré que l'angiotensine II induit une production accrue de collagène et de fibronectine par les cellules musculaires lisses vasculaires de rats en culture (Kato, *et al.*, 1991). Cette augmentation du collagène au niveau de la matrice extracellulaire induite par l'angiotensine II peut être

attribuée à une augmentation de l'expression du PAI-1 (inhibiteur 1 de l'activateur du plasminogène) (Kim, *et al.*, 1997). Le PAI-1 est l'inhibiteur physiologique principal du tPA. Or, la plasmine est une enzyme qui non seulement dégrade les composants de la matrice extracellulaire, mais qui active également les MMP (Kagami, *et al.*, 1997). En augmentant l'expression du PAI-1, l'angiotensine II diminuerait l'activité de la plasmine et des MMP et favoriserait donc l'accumulation de collagène (Figure 37). Ces effets de l'angiotensine II sur le turnover de la matrice extracellulaire seraient dus notamment à la stimulation des récepteurs AT_1 (Figure 37) comme le suggèrent les résultats obtenus sur des cultures de cellules musculaires lisses ou endothéliales de rats (van Leeuwen, *et al.*, 1994 ; Nishimura, *et al.*, 1997) ou sur des cellules musculaires lisses d'origine humaine (Papakonstantinou, *et al.*, 2001), et pourraient faire intervenir le TGF-β_1 (Jesmin, *et al.*, 2003). Par ailleurs, l'angiotensine II, *via* ses récepteurs AT_1, induit une augmentation de l'expression des intégrines par des fibroblastes cardiaques de rats (Kawano, *et al.*, 2000). L'augmentation de l'expression des intégrines par l'angiotensine II pourrait participer au développement du remodelage eutrophique centripète (Figure 37).

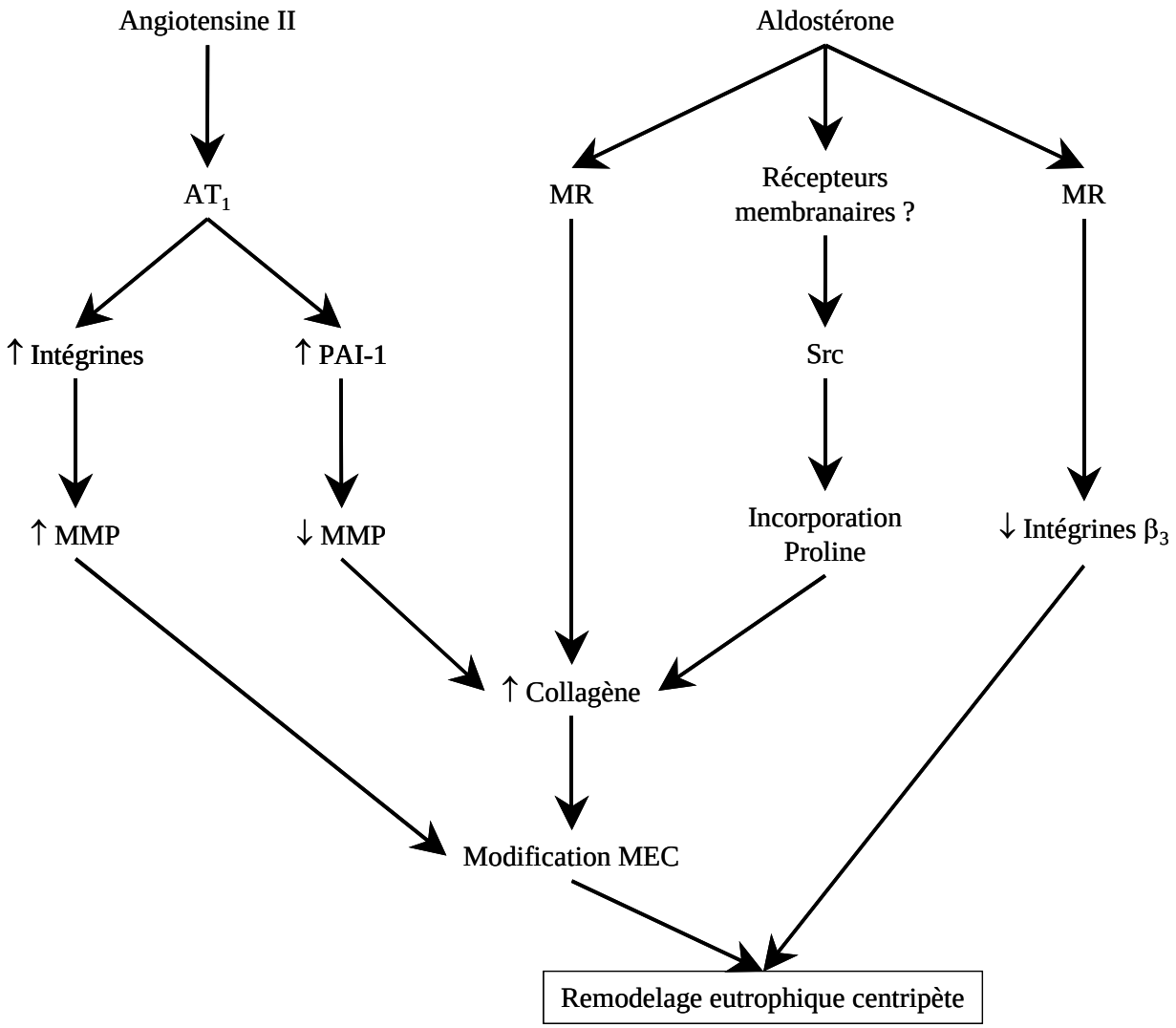


Figure 37 : Schéma des mécanismes par lesquels l'angiotensine II et l'aldostérone peuvent modifier la composition de la matrice extracellulaire et leur implication dans le développement du remodelage eutrophique centripète. PAI-1 : inhibiteur 1 de l'activateur du plasminogène ; MMP : métalloprotéinases matricielles ; MR : récepteurs des minéralocorticoïdes ; MEC : matrice extracellulaire.

L'aldostérone pourrait également participer à la régulation de la composition de la matrice extracellulaire. Ainsi, l'aldostérone augmente la production de collagène par des fibroblastes cardiaques de rats en culture (Brilla, *et al.*, 1994). Nous avons vu précédemment que l'aldostérone est susceptible d'induire la production de collagène par l'activation du récepteur MR (Mangelsdorf, *et al.*, 1995 ; Duprez, *et al.*, 2000) (Figure 37). De plus, au niveau des cellules musculaires lisses vasculaires, l'activation des voies non génomiques rapides de signalisation de l'aldostérone est susceptible d'activer la protéine Src (Callera, *et al.*, 2005). Cette activation de la Src participerait à la synthèse de collagène induite par

l'aldostérone en favorisant l'incorporation cellulaire de la proline, le principal acide aminé constitutif du collagène (Callera, *et al.*, 2005) (Figure 37). Enfin, il a été démontré récemment que l'expression du gène des intégrines β_3 pouvait être régulée par le récepteur MR (Chun, *et al.*, 2002). En effet, la spironolactone, un antagoniste des MR, augmente l'expression de ce gène, effet qui est annulé par l'aldostérone (Chun, *et al.*, 2002). Nous avons vu que les intégrines $\alpha_V\beta_3$ pouvait permettre de limiter le remodelage eutrophique centripète (Bakker, *et al.*, 2004). L'aldostérone, en limitant l'expression des intégrines β_3 pourrait donc participer au développement du remodelage eutrophique centripète (Figure 37).

Ainsi, le système rénine angiotensine aldostérone pourrait contribuer au remodelage eutrophique centripète en altérant la composition de la matrice extracellulaire, mais également en modifiant le profil d'expression des intégrines au niveau des cellules de la paroi artérielle.

Système rénine angiotensine aldostérone et inflammation

Une littérature abondante décrit les effets pro-inflammatoires du système rénine angiotensine aldostérone (Suzuki, *et al.*, 2003). Cette activité pro-inflammatoire se retrouve notamment au niveau de la paroi vasculaire (Brasier, *et al.*, 2002).

L'angiotensine II est tout d'abord capable, notamment par l'activation des récepteurs AT_1, d'augmenter l'expression des molécules d'adhésion cellulaire ICAM-1 et VCAM-1, permettant le recrutement des leucocytes, au niveau des cellules endothéliales et des cellules musculaires lisses (Suzuki, *et al.*, 2003). L'angiotensine II induit également la production de protéines à activité chimiotactique comme la MCP-1 (Hernandez-Presa, *et al.*, 1997) ou de cytokines à activité pro-inflammatoire telles que l'interleukine-6 (Han, *et al.*, 1999) ou le TNF-α (Kranzhöfer, *et al.*, 1999). De plus, nous avons vu que l'angiotensine II augmente la production de RLO par les cellules musculaires lisses en culture en activant la NAD(P)H oxydase (Griendling et Ushio-Fukai, 2000 ; Touyz, *et al.*, 2003). Par ailleurs, les effets pro-inflammatoires de l'angiotensine II passent par l'activation du facteur de transcription NF-κB, dont nous avons vu qu'il joue un rôle central dans la réaction inflammatoire (Han, *et al.*, 1999 ; Brasier, *et al.*, 2002). La plupart de ces effets pro-inflammatoires de l'angiotensine II semble être due à une stimulation des récepteurs AT_1 (Brasier, *et al.*, 2002), puisque l'utilisation d'antagonistes de ces récepteurs diminue l'inflammation normalement observée au niveau des artères et des microvaisseaux du cerveau (Ando, *et al.*, 2004b ; Ando, *et al.*, 2004a). Cependant, les récepteurs AT_2 pourraient également participer aux processus

inflammatoires (Skurk, *et al.*, 2004 ; Esteban, *et al.*, 2004). Tous ces résultats suggèrent que l'angiotensine II pourrait engendrer le remodelage eutrophique centripète en induisant une réaction inflammatoire au niveau de la paroi artérielle, conformément à l'hypothèse explicitée précédemment.

En plus de l'angiotensine II, l'aldostérone serait également capable de provoquer et/ou d'entretenir une réaction inflammatoire au niveau de la paroi artérielle. En effet, le traitement de rats Sprague-Dawley par un régime hypersalé et une perfusion chronique d'aldostérone entraîne une inflammation des artères coronaires de ces animaux (Rocha, *et al.*, 2002a). Cette inflammation de la paroi artérielle se caractérise par une infiltration de monocytes et de macrophages et par une augmentation de l'expression de la cyclo-oxygénase 2 (COX-2), de la MCP-1 et de l'ostéopontine, trois protéines impliquées dans le processus inflammatoire (Rocha, *et al.*, 2002a). Un traitement concomittant par l'éplérenone, un antagoniste de l'aldostérone, atténue fortement l'expression de ces molécules pro-inflammatoires ainsi que les lésions vasculaires observées (Rocha, *et al.*, 2002a). L'inflammation vasculaire induite par l'angiotensine II pourrait même, du moins en partie, être dépendante de l'aldostérone. En effet, le traitement de rats Wistar par un régime hypersodé et une perfusion chronique d'angiotensine II provoque également une inflammation des artères coronaires semblable à celle décrite dans l'expérience précédente (Rocha, *et al.*, 2002b). Cette inflammation peut également être prévenue par un traitement par l'éplérenone (Rocha, *et al.*, 2002b). L'adjonction d'une administration chronique d'aldostérone aux rats traités par l'éplérenone empêche l'action de cette dernière et restaure les lésions inflammatoires de la paroi des artères coronaires (Rocha, *et al.*, 2002b). Par ailleurs, l'administration d'aldostérone à des rats Sprague-Dawley induit un stress oxydant associé à des altérations structurales des artères mésentériques (Pu, *et al.*, 2003). Enfin, la spironolactone, un autre antagoniste de l'aldostérone, permet de prévenir le stress oxydant et le remodelage eutrophique des artères mésentériques induits par l'angiotensine II chez des rats Sprague-Dawley (Virdis, *et al.*, 2002). L'ensemble de ces résultats montre que l'aldostérone est capable de produire une réaction inflammatoire au niveau de la paroi artérielle, *via* l'activation de ses récepteurs mis en évidence au niveau des cellules musculaires lisses vasculaires (Funder, 2004).

Ainsi, le système rénine angiotensine aldostérone serait responsable d'une inflammation locale de la paroi artérielle par l'action de l'angiotensine II sur ses récepteurs AT_1 et/ou AT_2 et/ou par l'action de l'aldostérone. Cette inflammation vasculaire pourrait contribuer au développement du remodelage eutrophique centripète.

Conclusion

Nous venons de voir que de nombreuses expériences démontrent qu'une activation du système rénine angiotensine aldostérone, qu'elle soit tissulaire ou plasmatique, est associée au développement du remodelage eutrophique centripète, notamment au niveau des artérioles cérébrales. En effet, les deux principaux effecteurs de ce système, l'angiotensine II et l'aldostérone, sont capables de jouer un rôle dans les différents processus susceptibles d'expliquer l'apparition d'un tel remodelage. L'angiotensine II et l'aldostérone peuvent en effet induire une migration et un réarrangement des cellules pariétales, mais également une réaction inflammatoire ou une modification de la composition de la matrice extracellulaire. Ces deux hormones semblent également jouer un rôle dans les phénomènes d'hyperplasie et d'apoptose.

3.2.2. Facteurs génétiques

Les facteurs génétiques pourraient également intervenir dans le développement du remodelage eutrophique centripète au cours de l'hypertension artérielle. En effet, les différences génétiques existant entre les différentes souches de rats pourraient contribuer à expliquer certains résultats apparemment contradictoires.

Nous avons décrit un certain nombre d'expériences ayant été réalisées chez des rats SHR. Cette souche de rats spontanément hypertendus a été développée dans les années 1960 à partir d'une souche de rats normotendus, les Wistar/Kyoto (WKY). Elle a été obtenue en croisant entre eux des animaux légèrement hypertendus et en sélectionnant parmi leur descendance les animaux développant une hypertension plus marquée (Yamori, 1984). Les rats WKY sont donc toujours utilisés comme témoins dans les études impliquant les SHR et partagent avec ceux-ci un patrimoine génétique commun. Une étude a cependant montré que les rats SHR et WKY pourraient n'avoir qu'environ 50 % de leur génome en commun (St Lezin, *et al.*, 1992). La souche de rats Sprague-Dawley est également couramment utilisée dans les expérimentations que nous avons décrites jusqu'alors, notamment dans les modèles d'hypertension rénovasculaire. Or la souche Sprague-Dawley n'a, à priori, aucun patrimoine génétique commun avec les rats SHR et/ou WKY, puisque ces souches ne sont pas dérivées l'une de l'autre. Ces différences génétiques entre WKY/SHR d'un côté et Sprague-Dawley de l'autre, pourraient intervenir dans le développement du remodelage eutrophique centripète et expliquer les différences parfois observées entre ces deux souches.

En effet, dans une expérience conduite chez des rats Sprague-Dawley, un traitement chronique par le L-NAME entraîne une augmentation de la pression artérielle mais pas de remodelage eutrophique centripète au niveau des artérioles cérébrales (Chillon, *et al.*, 1997). Au contraire, les artérioles cérébrales de ces rats traités par le L-NAME présentent une augmentation de leur diamètre interne associée à une hypertrophie pariétale, ce qui correspond à un remodelage hypertrophique centrifuge (Chillon, *et al.*, 1997). La même expérience a été reconduite sur des rats WKY et les résultats obtenus ont été totalement différents puisque, chez les WKY, le traitement par le L-NAME a engendré un remodelage eutrophique centripète au niveau des artérioles cérébrales (Chillon et Baumbach, 2004). Ces résultats contradictoires ont amené les auteurs de ces articles à conclure que des facteurs génétiques présents chez les WKY et SHR, mais absents chez les Sprague-Dawley, pourraient contribuer au développement du remodelage eutrophique centripète.

Cette différence génétique entre les souches pourraient également expliquer les résultats obtenus par Griffin et coll. lors de la perfusion chronique d'angiotensine II à des rats Sprague-Dawley (Griffin, *et al.*, 1991). Nous avons vu que dans cette étude, l'indice de remodelage eutrophique des artères mésentériques n'était que de 7 %, le remodelage eutrophique centripète étant donc quasiment inexistant (Griffin, *et al.*, 1991 ; Heagerty, *et al.*, 1993). Cette absence de remodelage eutrophique malgré une élévation chronique du taux plasmatique d'angiotensine II pourrait s'expliquer par l'absence de facteurs génétiques prédisposant au remodelage eutrophique dans cette souche Sprague-Dawley. Cependant, les facteurs génétiques ne peuvent expliquer à eux seuls ces résultats puisque nous avons vu que dans des modèles non génétiques d'hypertension artérielle chez ces mêmes rats Sprague-Dawley (modèles 2 reins, 1 clip et 1 rein, 1 clip), les artères de résistance mésentériques développent un remodelage eutrophique (Deng et Schiffrin, 1991 ; Korsgaard et Mulvany, 1988 ; Heagerty, *et al.*, 1993).

Ainsi, des facteurs génétiques pourraient intervenir dans le développement du remodelage eutrophique centripète. Ces facteurs génétiques, présents chez les SHR et les WKY, pourraient notamment moduler l'action du système rénine angiotensine aldostérone et par là même favoriser ou accélérer le remodelage eutrophique centripète en cas d'augmentation chronique de la pression artérielle.

3.2.3. Système adrénergique

D'autres facteurs seraient impliqués dans le développement du remodelage eutrophique centripète, et notamment le système adrénergique. En effet, une étude récente conduite sur des souris a montré qu'un remodelage eutrophique centripète peut-être observé après une stimulation prolongée des récepteurs α par la noradrénaline ou la phényléphrine (Vecchione, *et al.*, 2002). La même administration prolongée de noradrénaline ou de phényléphrine (*via* l'implantation d'une minipompe osmotique) chez des souris transgéniques dépourvues du gène codant pour le récepteur α_{1b} n'a pas entraîné de remodelage eutrophique (Vecchione, *et al.*, 2002). Ces résultats suggèrent que la stimulation des récepteurs adrénergiques joue un rôle important dans le développement du remodelage eutrophique centripète, bien que les effets d'une vasoconstriction prolongée, indépendamment du type d'activation, ne puissent être exclus (cf. PARTIE 1 : III. 3.1.3.). Ce rôle du système adrénergique a été confirmé chez l'homme, où il a été montré que des patients souffrant d'hypertension secondaire à un phéochromocytome développent un remodelage eutrophique centripète (Porteri, *et al.*, 2003). En effet, les phéochromocytomes sont des tumeurs qui sécrètent des catécholamines qui produisent donc une forme d'hypertension secondaire avec activation du système adrénergique (Williams, 1995). Les patients présentant une telle forme d'hypertension développent un remodelage eutrophique centripète au niveau des artères de résistance sous-cutanées (Porteri, *et al.*, 2003). Toutefois, ce remodelage eutrophique observé semble moins prononcé que chez les patients souffrant d'hypertension essentielle (Porteri, *et al.*, 2003). Ces deux études semblent donc montrer qu'une activation du système adrénergique est susceptible d'entraîner un remodelage eutrophique centripète.

Cependant, une étude réalisée au niveau des artérioles cérébrales de rats WKY et SHRSP, montre des résultats contradictoires avec ceux énoncés ci-dessus. En effet, l'ablation unilatérale du ganglion cervical supérieur, qui assure l'innervation sympathique de la circulation cérébrale, entraîne chez les rats SHRSP une diminution du diamètre interne des artérioles cérébrales associée à une atrophie pariétale (Baumbach, *et al.*, 1989). Chez les rats WKY, la dénervation sympathique n'a pas d'influence sur le diamètre interne mais induit une légère atrophie pariétale (Baumbach, *et al.*, 1989). Ces résultats laissent supposer qu'une diminution de la stimulation sympathique ne permet pas de prévenir le développement du remodelage eutrophique centripète, mais semble, au contraire, l'accentuer chez les rats SHRSP.

L'analyse des études précédentes ne permet donc pas de conclure avec certitude que le système adrénergique joue un rôle fondamental dans le développement du remodelage eutrophique centripète. L'influence de ce système adrénergique pourrait varier selon les modèles utilisés ou les lits vasculaires considérés.

4. Modification de la distensibilité pariétale

L'altération des caractéristiques mécaniques de la paroi artérielle (rigidification ou augmentation de la distensibilité) pourrait avoir une influence sur les capacités de vasodilatation du vaisseau considéré. En effet, on peut supposer que plus un vaisseau est rigide, plus sa capacité à se dilater est amoindrie. Or, la distensibilité des artères et artérioles est profondément altérée au cours de l'hypertension artérielle chronique. Les conséquences de l'hypertension sur la distensibilité pariétale varient énormément en fonction des lits vasculaires et des types de vaisseaux considérés (artères de conductance ou de résistance), pouvant aller d'une rigidification à une plus grande élasticité. Dans ce chapitre, nous nous intéresserons uniquement aux modifications de la distensibilité pariétale observées au niveau des artères et artérioles cérébrales au cours de l'hypertension artérielle chronique. Ces altérations ont principalement été décrites dans les travaux de Baumbach.

4.1. Définitions

La distensibilité de la paroi artérielle correspond à sa capacité à se déformer lorsque la contrainte appliquée sur cette paroi varie. La contrainte pariétale correspond à la force imposée à la paroi par unité de surface, et dépend donc de la pression intra-luminale dans le vaisseau considéré. La distensibilité dépend essentiellement des propriétés élastiques de la paroi, qui elles-mêmes dépendent des caractéristiques mécaniques de ses différents constituants et de leurs interactions.

L'équipe de Baumbach a proposé une méthode pour pouvoir évaluer et comparer la distensibilité pariétale des artérioles cérébrales *in vivo*, en construisant les courbes reliant la contrainte pariétale à la déformation du vaisseau considéré (Baumbach, *et al.*, 1988). Le tonus vasculaire des artérioles cérébrales pouvant modifier leurs caractéristiques mécaniques et modifier leur réponse à l'hypotension, Baumbach a proposé de s'affranchir de ce tonus en désactivant complètement les cellules musculaires lisses de la paroi à l'aide de l'EDTA (acide

éthylène diamine tétra-acétique) (Baumbach, *et al.*, 1988). En effet, l'EDTA est un chélateur du calcium, qui va donc empêcher toute contraction musculaire et entraîner une relaxation complète et donc une vasodilatation maximale de l'artériole. Une fois les artérioles désactivées, leur diamètre interne varie passivement avec la pression artériolaire : une diminution de la pression entraîne une diminution du diamètre et inversement. Il est alors possible, à partir des valeurs de pression artériolaire et de diamètre interne, de calculer les valeurs de contrainte pariétale et de déformation en fonction des différentes conditions de pression (Baumbach, *et al.*, 1988). Ceci permet d'établir la courbe des relations contrainte-déformation (Figure 38). Ainsi, pour une contrainte équivalente, les vaisseaux rigides présentent une déformation moins importante que des vaisseaux plus distensibles. Cette méthode a permis de déterminer les conséquences de l'hypertension artérielle chronique sur la distensibilité des artérioles cérébrales.

4.2. Conséquences de l'hypertension sur la distensibilité des artères et artérioles cérébrales.

Des études réalisées *in vitro* ont permis de montrer que l'hypertension artérielle chronique est associée à une augmentation de la rigidité des artères cérébrales. En effet, les artères basilaires des rats SHRSP (Toda, *et al.*, 1982) et des rats SHR (Winquist et Bohr, 1983), de même que les branches issues des artères cérébrales postérieures de rats SHR (Brayden, *et al.*, 1983), sont moins distensibles que celles de leurs témoins normotendus WKY. Cependant, les conséquences de l'hypertension artérielle sur la distensibilité des artérioles cérébrales sont totalement différentes.

Dans l'expérience décrivant la méthode d'étude *in vivo* de la distensibilité des artérioles cérébrales, *via* la technique de la fenêtre crânienne, Baumbach a pu montrer que les artérioles cérébrales des rats SHRSP sont plus distensibles que celles des WKY (Baumbach, *et al.*, 1988). Cette augmentation de la distensibilité se manifeste par un décalage vers la droite de la courbe des relations contrainte-déformation, et se retrouve chez des rats âgés de 3 à 4 mois comme chez des rats âgés de 6 à 8 mois (Figure 38) (Baumbach, *et al.*, 1988). Ces résultats ont par la suite été confirmés dans différents modèles d'hypertension : rats SHR et rats Goldblatt 1 rein 1 clip (Baumbach et Hajdu, 1993), hypertension induite par le L-NAME chez les WKY (Chillon et Baumbach, 2004), souris BPH-2 et souris transgéniques (R+/A+) surexprimant les gènes humains de la rénine et de l'angiotensinogène (Baumbach, *et al.*,

2003) ou encore souris transgéniques « knock-out » pour le gène de la eNOS (Baumbach, *et al.*, 2004).

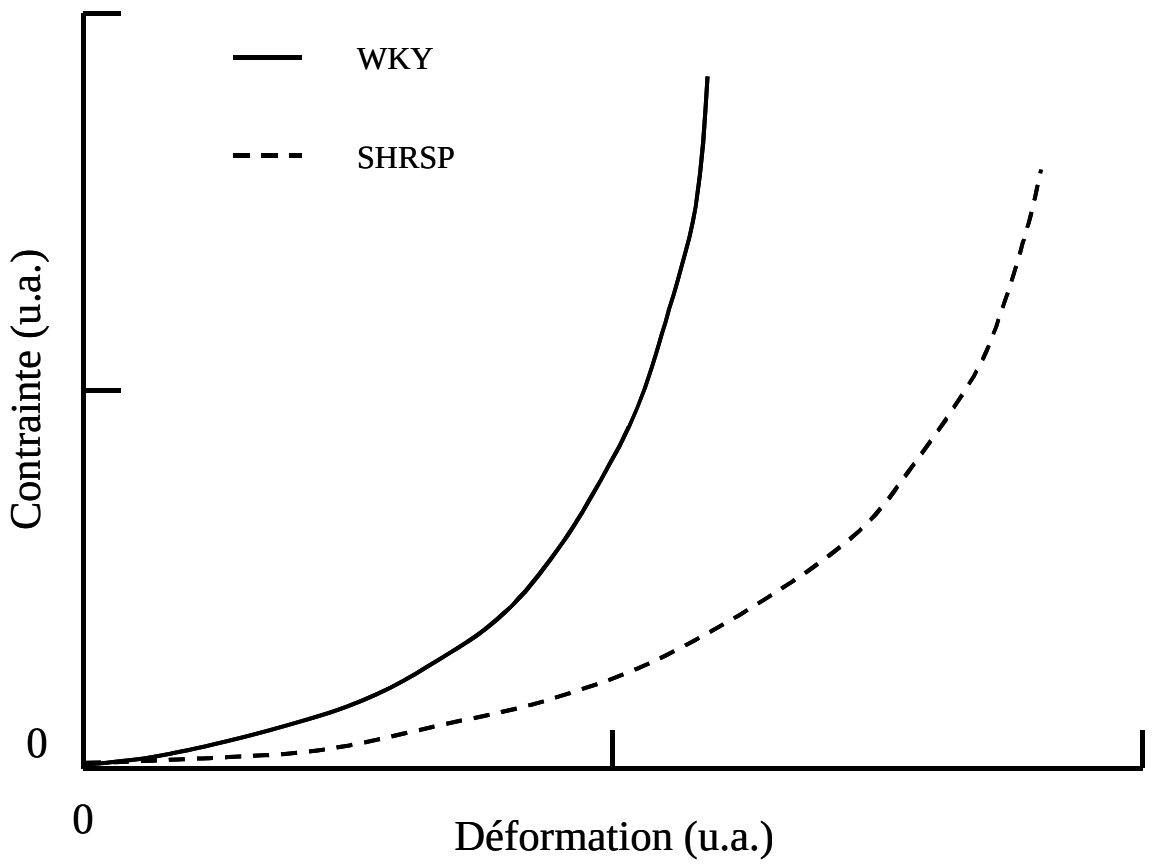


Figure 38 : Représentation des courbes des relations contrainte-déformation obtenues au niveau des artérioles cérébrales désactivées de rats normotendus (WKY) et hypertendus (SHRSP). D'après Baumbach, *et al.*, 1988.

Ces résultats semblent donc en complète contradiction avec ceux obtenus pour les artères cérébrales de plus gros calibres. Plusieurs possibilités pourraient expliquer cette différence. Une première explication est que les artères de différentes parties du cerveau puissent répondre différemment à l'hypertension artérielle. En effet, l'autorégulation du DSC semble plus efficace au niveau du tronc cérébral qu'au niveau du cerveau lors d'épisodes hypo- ou hypertensifs aigus (Mueller, *et al.*, 1977 ; Baumbach et Heistad, 1985). De plus les lésions du système nerveux central consécutives à l'hypertension chronique sont plus fréquentes au niveau du cerveau qu'au niveau du tronc cérébral (Sadoshima, *et al.*, 1981 ; Tamaki, *et al.*, 1984). Les effets de l'hypertension chronique sur l'artère basilaire pourraient

donc être différents de ses effets sur des artérioles issues de l'artère cérébrale moyenne (celles étudiées par Baumbach).

Une deuxième explication possible est que les études effectuées sur les larges artères cérébrales ont été réalisées *in vitro*, tandis que les études concernant les artérioles cérébrales ont été menées *in vivo*. Cependant, cette possibilité a été infirmée par une étude comparant *in vitro* et avec la même technique la distensibilité d'artérioles cérébrales de différents diamètres de rats SHRSP et WKY (Hajdu et Baumbach, 1994). Cette étude a montré que la distensibilité des artérioles cérébrales de gros diamètre des rats SHRSP (artérioles de deuxième ordre issues de l'artère cérébrale postérieure, 150 µm de diamètre interne) est diminuée, tandis qu'elle est augmentée au niveau des artérioles de plus petit diamètre (artérioles de troisième ordre issues de l'artère cérébrale postérieure, 85 µm de diamètre interne) (Hajdu et Baumbach, 1994).

Une troisième possibilité envisageable pour expliquer les effets différents de l'hypertension sur la distensibilité des artères et des artérioles cérébrales est la différence de taille entre les vaisseaux étudiés. En effet, le diamètre de l'artère basilaire est supérieur à 200µm et son épaisseur pariétale supérieure à 30 µm (Toda, *et al.*, 1982 ; Winquist et Bohr, 1983). Les branches de l'artère cérébrale postérieure étudiées par Brayden ont un diamètre compris entre 150 et 200 µm avec une épaisseur pariétale de 15 à 20 µm (Brayden, *et al.*, 1983). Les artérioles issues de l'artère cérébrale moyenne étudiée par Baumbach ont un diamètre beaucoup plus petit, de l'ordre, lorsqu'elles sont entièrement relaxées, de 100 µm chez le rat, l'épaisseur pariétale étant de 4 à 6 µm (Baumbach, *et al.*, 1988). Or, la composition de la paroi artérielle varie avec la taille du vaisseau considéré et les caractéristiques mécaniques de la paroi artérielle dépendent de sa composition (Milnor, 1989). Par ailleurs, la pression intravasculaire n'est pas aussi élevée au niveau des artérioles qu'au niveau des artères de plus gros calibre. Ainsi, l'hypertension artérielle chronique pourrait avoir des effets différents sur les caractéristiques mécaniques des artères et des artérioles cérébrales selon leurs tailles.

4.3. Déterminant et importance relative des modifications de distensibilité

Dans tous les modèles d'hypertension précédemment cités, où une augmentation de la distensibilité pariétale des artérioles cérébrales a été observée, l'hypertension est également associée à une hypertrophie de la paroi de ces artérioles (cf. PARTIE 1 : III. 2.).

Plusieurs études ont permis de montrer que cette hypertrophie pariétale des artérioles cérébrales est due à une augmentation du volume occupé par les cellules musculaires lisses et l'élastine aux dépens du collagène et de la membrane basale (Baumbach, *et al.*, 1989 ; Baumbach, *et al.*, 1991 ; Baumbach et Hajdu, 1993 ; Baumbach, 1996). Or, la distensibilité de la paroi d'un vaisseau dépend avant tout des caractéristiques mécaniques de ses divers constituants et de leurs interactions (Milnor, 1989). Comme les cellules musculaires lisses et l'élastine sont des constituants distensibles de la paroi artérielle, tandis que le collagène et la membrane basale sont des composants rigides (Milnor, 1989), l'hypertrophie pariétale des artérioles cérébrales est associée à une élévation du rapport composants distensibles/composants rigides (Baumbach et Heistad, 1988). Selon Baumbach, ceci expliquerait que l'hypertension artérielle chronique soit associée à une augmentation de la distensibilité pariétale des artérioles cérébrales au cours de l'hypertension artérielle chronique chez les rats SHR, SHRSP ou 1 rein 1 clip (Baumbach et Heistad, 1988).

Cette augmentation de distensibilité de la paroi des artérioles cérébrales au cours de l'hypertension artérielle chronique a été envisagée comme pouvant être un mécanisme compensateur qui limiterait les effets des remodelages hypertrophique et eutrophique (Baumbach et Heistad, 1992). En effet, les remodelages hypertrophique et eutrophique diminuent le diamètre interne des artérioles cérébrales et réduisent donc leur capacité à se dilater. L'augmentation de la distensibilité pariétale pourrait contribuer à limiter les effets de ces remodelages sur le diamètre interne et les capacités de vasodilatation des artérioles cérébrales. Elle contribuerait donc ainsi à éviter une trop forte élévation de la limite basse de l'autorégulation du DSC. Cette hypothèse reste cependant très spéculative et suppose que des modifications de la distensibilité pariétale puissent entraîner des modifications des capacités de vasodilatation active des artérioles cérébrales. Or, dans une de nos précédentes études, nous avons montré qu'une augmentation de la distensibilité des artérioles cérébrales n'est pas systématiquement associée à une augmentation de la vasodilatation induite par l'hypotension (Dupuis, *et al.*, 2004). Par ailleurs, il n'existe à notre connaissance aucune étude montrant un lien direct entre distensibilité et vasodilatation active.

Ainsi, bien qu'elle soit systématiquement associée à l'hypertension artérielle, l'augmentation de la distensibilité pariétale des artérioles cérébrales ne semble pas revêtir une importance capitale et ne contribue pas à la diminution de diamètre interne de ces vaisseaux.

5. Conclusion

Nous nous sommes intéressés dans ce chapitre aux altérations de la structure et des caractéristiques mécaniques des artérioles cérébrales qui surviennent au cours de l'hypertension artérielle chronique. Toutes ces altérations que nous avons décrites (remodelage hypertrophique centripète, remodelage eutrophique centripète et augmentation de la distensibilité pariétale) sont susceptibles de modifier le diamètre interne des artérioles cérébrales et donc leurs capacités de vasodilatation et d'autorégulation.

Parmi ces altérations, nous avons vu que le remodelage eutrophique centripète est le principal déterminant de la diminution de diamètre interne associée à l'hypertension artérielle chronique. Il pourrait donc représenter le déterminant majeur de l'augmentation de la limite basse de l'autorégulation du DSC. Le système rénine angiotensine aldostérone semble fortement impliqué dans le développement de ce remodelage eutrophique centripète. Dans le chapitre suivant, nous tenterons de voir quels éléments du système rénine angiotensine aldostérone (récepteurs AT_1, aldostérone,…) sont impliqués dans la genèse du remodelage eutrophique centripète.

PARTIE 2 : TRAVAUX PERSONNELS

I. IMPACT D'UN TRAITEMENT CHRONIQUE PAR UN IEC ET IMPACT DU VIEILLISSEMENT SUR LE REMODELAGE DES ARTERIOLES CEREBRALES DU RAT SHR

1. Objectifs

La première expérience de ce travail de thèse a consisté à étudier l'impact d'un traitement chronique par un IEC sur le remodelage eutrophique centripète des artérioles cérébrales dans notre modèle expérimental, le rat SHR.

Nous avons vu dans le chapitre précédent que les rats SHR développent un remodelage eutrophique centripète au niveau de différents lits vasculaires, notamment au niveau mésentérique (Heagerty, *et al.*, 1993). Nous avons vu également que ce remodelage eutrophique revêt une importance majeure chez les rats SHR, puisque l'indice de remodelage eutrophique centripète dans ce modèle est supérieur à 90 % (cf. PARTIE 1 : III. 3.2.1.). Cependant, au niveau de la circulation cérébrale, il n'existe à notre connaissance dans la littérature qu'une seule étude s'intéressant aux altérations structurales et mécaniques des artérioles cérébrales chez le rat SHR (Baumbach et Hajdu, 1993). En effet, la plupart des travaux réalisés dans ce domaine portent sur le modèle SHRSP. Or, l'importance du remodelage eutrophique centripète dans ce dernier modèle semble moindre que chez le rat SHR (indice de remodelage eutrophique centripète de l'ordre de 70 %, cf. PARTIE 1 : III. 3.2.1.). De plus, dans cette étude de Baumbach et Hajdu menée sur des rats SHR, le rôle du système rénine angiotensine aldostérone sur les altérations structurales des artérioles cérébrales n'a pas été étudié. Or, nous avons vu précédemment que ce système semble être l'un des principaux déterminants du remodelage eutrophique centripète.

Nous avons donc voulu vérifier, dans cette première expérience, qu'un blocage chronique du système rénine angiotensine aldostérone par un IEC permettrait d'atténuer le remodelage eutrophique centripète des artérioles cérébrales dans ce modèle expérimental d'hypertension artérielle, le rat SHR. Par ailleurs, le remodelage eutrophique centripète étant le principal responsable de l'élévation des résistances cérébrovasculaires, il pourrait jouer un rôle important dans l'augmentation de la limite basse de l'autorégulation du DSC observée au cours de l'hypertension. L'atténuation du remodelage eutrophique centripète des artérioles

cérébrales par un IEC pourrait donc être associée à une atténuation de l'élévation de la limite basse de l'autorégulation du DSC.

Le premier objectif de ce travail était donc de déterminer l'impact d'un traitement chronique par un IEC sur le remodelage eutrophique centripète des artérioles cérébrales chez le rat SHR ainsi que sur la limite basse de l'autorégulation du DSC.

Nous nous sommes également intéressés au cours de cette étude à l'impact du vieillissement sur les caractéristiques structurales et fonctionnelles des artérioles cérébrales au cours de l'hypertension artérielle chronique. La plupart des études précliniques sur l'hypertension artérielle se font sur des animaux hypertendus relativement jeunes (3 à 6 mois), ce qui ne reflètent pas forcément la situation physiopathologique chez l'homme où la fréquence de l'hypertension artérielle est beaucoup plus élevée chez les individus âgés. Or, le vieillissement induit, au niveau des artérioles cérébrales de rats normotendus, des altérations structurales et mécaniques différentes de l'hypertension. Hajdu a ainsi pu montrer que les artérioles cérébrales de rats normotendus subissent au cours du vieillissement une atrophie pariétale (Figure 39) qui s'accompagne d'une diminution de la distensibilité de leur paroi (Hajdu, *et al.*, 1990) (Figure 39). Cette situation est donc totalement opposée aux conséquences de l'hypertension artérielle qui, comme nous l'avons vu (cf. PARTIE 1 : III. 2. et PARTIE 1 : III. 4.2.), induit une hypertrophie pariétale associée à une augmentation de la distensibilité des artérioles cérébrales. Nous nous sommes donc intéressés dans cette étude à l'impact du vieillissement sur les remodelages hypertrophique et eutrophique centripètes et sur l'augmentation de la distensibilité des artérioles cérébrales au cours de l'hypertension artérielle chronique.

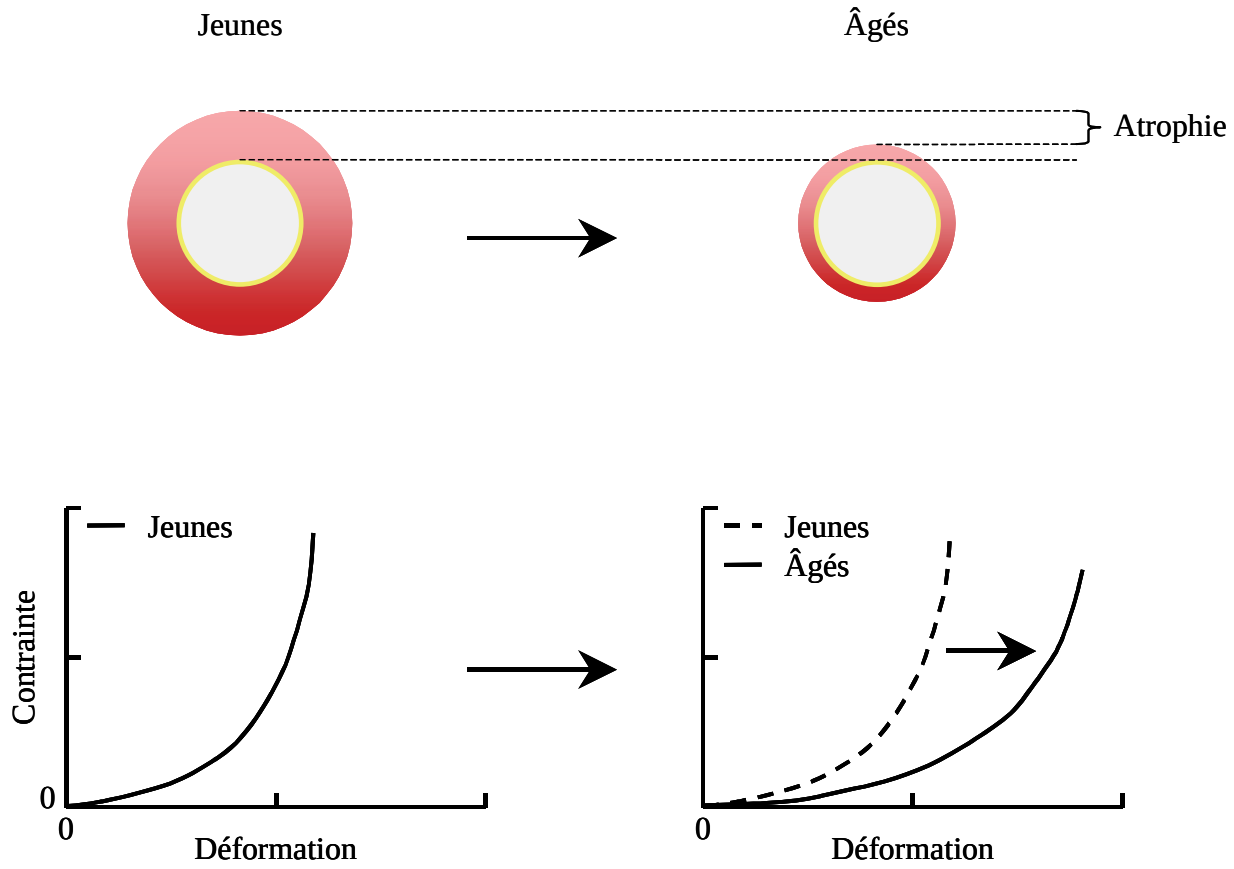


Figure 39 : Schéma des conséquences du vieillissement sur les caractéristiques structurales et mécaniques des artérioles cérébrales de rats normotendus.

Par ailleurs, le vieillissement s'accompagne également d'une élévation de la limite basse de l'autorégulation du DSC (Hoffman, *et al.*, 1981 ; Lartaud, *et al.*, 1993). Le remodelage eutrophique centripète, s'il est présent, pourrait donc contribuer à augmenter encore plus cette limite basse chez les animaux âgés et hypertendus. Nous avons donc également tenté de déterminer si un traitement par un IEC pourrait, en atténuant le remodelage eutrophique centripète, permettre de limiter l'élévation de la limite basse de l'autorégulation du DSC chez les animaux hypertendus âgés.

Le deuxième objectif de cette étude était donc de déterminer l'impact du vieillissement sur les altérations structurales, mécaniques et fonctionnelles des artérioles cérébrales induites par l'hypertension ainsi que son impact sur l'efficacité d'un traitement par un IEC.

2. Manuscrit

CAPTOPRIL IMPROVES CEREBROVASCULAR STRUCTURE AND FUNCTION IN OLD HYPERTENSIVE RATS.

Br. J. Pharmacol., 144, (3): 349-356, 2005

François Dupuis, Jeffrey Atkinson, Patrick Limiñana & Jean-Marc Chillon

Cardiovascular Research Group, EA 3448,
Faculté de Pharmacie de l'Université Henri Poincaré-Nancy I,
5 rue Albert Lebrun,
54000 Nancy, France.

Author for correspondance : Jeffrey Atkinson, Cardiovascular Research Group, EA 3448, Faculté de Pharmacie de l'Université Henri Poincaré-Nancy I, 5 rue Albert Lebrun, 54000 Nancy, France. Telephone (33) 3-83-68-22-62, Fax (33) 3-83-68-22-66

Email : Jeffrey.Atkinson@pharma.uhp-nancy.fr

Running title : ACE inhibition and the cerebral circulation in old SHR

SUMMARY

1. We examined the effects of an angiotensin-converting enzyme inhibitor (ACEI), captopril, on cerebral arterioles in young and old spontaneously hypertensive rats (SHR).
2. Animals were anesthetized with sodium pentobarbitone (60 $mg.kg^{-1}.day^{-1}$). We measured cerebral blood flow (CBF, arbitrary unit) and cerebral arteriolar internal diameter (ID, µm) prior to and during stepwise hypotension (SH) in 6 (WKY-6) and 15 month-old (WKY-15) Wistar Kyoto rats and in age-matched SHR that were untreated (SHR-6 and SHR-15) or treated for 3 months with captopril (SHR-6C, 105±2 $mg.kg^{-1}.day^{-1}$ and SHR-15C, 94±1 $mg.kg^{-1}.day^{-1}$). ID and cross-sectional area of the vessel wall (CSA) were measured in deactivated (EDTA) cerebral arterioles during a second SH.
3. Captopril decreased the lower limit of CBF autoregulation (61±6 in SHR-6C and 51±2 in SHR-15C *vs* 52±6 in WKY-6 and 62±7 in WKY-15 and 83±14 mmHg in SHR-6 and 120±19 mmHg in SHR-15; $p<0.05$) and CSA (510±21 in SHR-6C and 585±25 in SHR-15C *vs* 529±12 in WKY-6 and 549±20 in WKY-15 and 644±38 mmHg in SHR-6 and 704±38 mmHg in SHR-15; $p<0.05$).
4. Captopril increased cerebral arteriolar external diameter of SHR (105±5 in SHR-6C and 94±4 in SHR-15C *vs* 125±8 in WKY-6 and 108±3 in WKY-15 and 83±2 mmHg in SHR-6 and 80±2 mmHg in SHR-15 for a pial arteriolar pressure step of 35-39 mmHg; $p<0.05$). Captopril attenuated increases in cerebral arteriolar distensibility in young SHR.
5. Thus ACEIs attenuate eutrophic and hypertrophic inward remodeling of cerebral arterioles in young and old SHR, thus decreasing the lower limit of CBF autoregulation.

***Key Words**:* hypertension, eutrophic remodeling, hypertrophic remodeling, vascular distensibility, aging, lower limit of cerebral blood flow autoregulation.

Abbreviations: ACEI: angiotensin converting enzyme inhibitor; CBF: cerebral blood flow; CSA: cross-sectional area; CSF: cerebrospinal fluid; ε: circumferential strain; ID: internal diameter; SH: stepwise hypotension; SHR: spontaneously hypertensive rats; SHRSP: stroke-prone spontaneously hypertensive rats; σ: circumferential stress; WKY: Wistar Kyoto rats; WT: wall thickness; WT/ID: wall thickness to lumen ratio.

INTRODUCTION

Chronic hypertension in young rat models, such as spontaneously hypertensive rats (SHR) and stroke prone SHR (SHRSP), induces adaptive remodeling of cerebral arterioles with reorganization of wall material leading to a reduction in internal diameter (eutrophic inward remodeling) (Baumbach & Heistad, 1989; Baumbach & Hajdu, 1993). This increases cerebrovascular resistance so maintaining baseline cerebral blood flow (CBF) but at the price of a shift in the lower limit of CBF autoregulation to a higher systemic mean pressure level. As in chronic hypertension both systemic mean pressure and the lower limit of CBF autoregulation increase, the security margin, which indicates the degree to which mean arterial pressure may fall before CBF starts to decrease (Lartaud *et al.*, 1993), remains the same. Thus, the cerebral circulation adapts to a higher input pressure. Problems could arise when hypertension is treated if the treatment normalizes blood pressure but fails to decrease the lower limit of CBF autoregulation at the same time. This would render the brain prone to hypotensive hypoperfusion and ischemia; this may damage the brain leading to cognitive impairment (Atkinson, 2001). In this respect angiotensin I converting enzyme inhibitors (ACEIs) may be the antihypertensive drugs of choice as they restore the hypertension-induced decrease in cerebral arteriolar diameter (Hajdu *et al.*, 1991; Chillon & Baumbach, 1999; Chillon & Baumbach, 2001) and reverse the increase in the lower limit of CBF autoregulation either after acute (Barry *et al.*, 1984a; Barry *et al.*, 1984b; Paulson *et al.*, 1988) or chronic administration (Muller *et al.*, 1990; Toyoda *et al.*, 1998).

The above hypothesis is based on work in relatively young rats (3-6 months old SHR or SHRSP) which may not be an adequate model for the human situation. Chronic systemic arterial hypertension is a disease of the middle-aged and elderly. However, the impact of chronic hypertension treatment with ACEIs on CBF autoregulation and arteriolar diameter in old animals has, to our knowledge, not been studied. Here, the lower limit of CBF autoregulation was determined following hypotensive hemorrhage in old (15 months) SHR chronically treated or not with the ACEI, captopril. Results were compared to those obtained with captopril treatment of young SHR (6 months). Arteriolar diameter and wall stiffness were also measured. It has previously been reported that one of the main age–related (as opposed to hypertension-related) effects on the arteriolar wall is an increase in stiffness (Hajdu *et al.*, 1990; Dupuis *et al.*, 2004).

METHODS

Animals and operative procedures

The experiments were conducted on male Wistar Kyoto (WKY) and Spontaneously Hypertensive (SHR) rats (Iffa-Credo, l'Arbresle, France). SHR were divided into 4 groups: 6-month-old SHR that were untreated (SHR-6mo, 384 ± 8 g, n=13) or treated from 3 to 6 months of age with captopril (SHR-6moC, 105 ± 2 $mg.kg^{-1}.day^{-1}$ in the drinking water, 371 ± 2 g, n=13) and 15-month-old SHR that were untreated (SHR-15mo, 430 ± 10 g, n=9) or treated from 12 to 15 months of age with captopril (SHR-15moC, 94 ± 1 $mg.kg^{-1}.day^{-1}$ in the drinking water, 423 ± 3 g, n=12). Untreated 6-month-old (WKY-6mo, 399 ± 10 g, n=11) and 15-month-old (WKY-15mo, 459 ± 8 g, n=15) WKY served as normotensive controls. "Old", defined as being close to the median life span, is 15 months in SHR as there is substantial mortality in untreated SHRs beyond 15 months such that there are no survivors at 18 months (Giummelly *et al.*, 1999). We used age-matched WKY as normotensive controls acknowledging that 15 months-old normotensive rats are more "mature" than "old" animals (Lartaud *et al.*, 1993; Lartaud *et al.*, 1994; Dupuis *et al.*, 2004).

Animals were housed at 24°C, exposed to 12 hours of light (lights on at 6 AM and off at 6 PM) and allowed free access to food and fluid.

After 3 months' treatment, we evaluated CBF autoregulation and the structure and function of cerebral arterioles. Animals were anesthetized with sodium pentobarbitone (60 $mg.kg^{-1}$, i.p.). We used sodium pentobarbitone anesthesia which provokes less depression of the cardiovascular and respiratory system than some anesthetic agents (urethane(Fluckiger *et al.*, 1985)), but more than others (chloralose (Fluckiger *et al.*, 1985), ketamine-xylazine(Wixson *et al.*, 1987). Albeit, although to our knowledge there has been no extensive study on the effect of different anesthetic agents on CBF autoregulation, some reports indicate that barbiturates attenuate less (certain) cardiovascular reflexes such as the baroreflex (Fluckiger *et al.*, 1985). Furthermore, the blood pressure lowering effect of captopril is independent of barbiturate anesthesia as it is observed in non anesthetized rats (Chillon *et al.*, 1992) and in pithed rats (Atkinson *et al.*, 1987). Finally, as the sensitivity to barbiturates increases with age (Stijnen *et al.*, 1992), this may interfere with the effect of age on the lower limit of CBF autoregulation. However, the phenomenon of the shift in the lower limit of CBF autoregulation with age in the normotensive rats is observed using barbiturates (Dupuis *et al.*,

2004) and in non anesthetized rats (Lartaud *et al.*, 1993). The general conclusion on the use of anesthesia is that there is no reason to believe that this will fundamentally alter our observations and that the choice between the use or not of anesthesia is dictated by the humane principles of experimentation on animals.

Animals were intubated and mechanically ventilated with room air (50 strokes per minute, tidal volume 3.0 ml) to maintain blood gases (pH, pCO_2, pO_2, blood gas analyzer 238, Ciba Corning, Cergy Pontoise, France) in the physiological range. A silicone catheter (Sigma Medical, Nanterre, France) was introduced into the right femoral vein and connected to a pump (Bioblock Scientific, Paris, France) for continuous infusion of sodium pentobarbitone (0.25 $ml.h^{-1}$; 20 $mg.kg^{-1}.h^{-1}$) to maintain anaesthesia throughout the surgery and the experiment. The depth of anaesthesia was periodically evaluated by testing the corneal reflex and the rate of the pump infusion adjusted individually for each animal to maintain an adequate depth of anesthesia. A polyethylene cannula (Merck Biotrol, Chennevieres, France) was introduced into the right femoral artery; the cannula was connected to a low volume, strain-gauge transducer (Baxter, Bentley Laboratories, Europe) for measurement of blood pressure and heart rate. A second cannula was introduced into the left femoral artery to obtain blood samples for the measurement of arterial blood gases at baseline and for withdrawal of blood to produce hypotension. Rectal temperature was maintained at 37-38°C with a heating pad. Experiments were performed in accordance with the guidelines of the French Ministry of Agriculture, Paris, France (decree 12001-464, 29th May 2001; permits 54-4 and 03575).

Measurement of cerebral arteriolar pressure and diameter and of cerebral blood flow

We measured pressure and internal diameter of first order pial arterioles through an open skull preparation as previously described (Dupuis *et al.*, 2004). Briefly, the head was placed in an adjustable head holder and a 1 cm skin incision made to expose the skull. A dam of dental acrylic cement was constructed on the exposed skull and ports were placed for inflow and outflow of artificial cerebrospinal fluid (CSF). Craniotomy was performed over the left parietal cortex within the walls of the dam, and the dura was incised to expose the cerebral vessels. The exposed surface was continuously suffused with artificial CSF, warmed to 37-38° C and equilibrated with a gas mixture of 5% CO_2-95% N_2. The composition of the CSF was ($mmol.L^{-1}$) KCl, 3.0; $MgCl_2$, 0.6; $CaCl_2$, 1.5; NaCl, 131.9; $NaHCO_3$, 24.6; urea, 6.7; and glucose, 3.7 in order to mimic as closely as possible the composition of naturally produced CSF (Baumbach *et al.*, 1988a). Cerebral arteriolar pressure was continuously

measured under sodium pentobarbitone anesthesia with a micropipette connected to a servo-null pressure-measuring device (model 5A, Vista Electronics Company, Ramona, California). Pipettes were sharpened to a beveled tip, 3-5 µm in diameter, filled with 1.5 $mmol.L^{-1}$ sodium chloride, and inserted into the lumen of a cerebral arteriole with a micromanipulator (Dupuis *et al.*, 2004). The presence of the pipette tip in the vessel wall had no discernible effect on the diameter of cerebral arterioles. Arteriolar diameter was monitored through a microscope (Stemi 200-C, Carl Zeiss Jena GMBH, Jena, Germany) connected to a closed-circuit video system with a final magnification of 600x. Images were digitized using a video frame grabber and diameter measured using image analysis software (Saisam®, Microvision Instruments, Evry, France). The precision of this video system is 0.6 micron. CBF (arbitrary units, a.u.) was measured by laser Doppler flowmetry using a BLF 21 system (Transonic Systems Inc., Ithaca, NY, USA) equipped with a 1.2 mm diameter needle probe (Fujii *et al.*, 1991).

Experimental protocol

Thirty minutes after completion of surgery, baseline cerebral arteriolar pressure, diameter and CBF were measured. To determine the lower limit of CBF autoregulation, stepwise hypotension (10 mmHg per step to a systemic mean arterial pressure of 20-30 mmHg) was induced by controlled withdrawal of blood. One minute after each stepwise fall in blood pressure, systemic and cerebral arteriolar pressures, arteriolar diameter and CBF were measured. After the final step, blood was re-injected to restore blood pressure.

Wall stiffness was evaluated from arteriolar pressure-diameter relationships obtained in deactivated (EDTA 67 mM (Baumbach *et al.*, 1988a)) cerebral arterioles between mean arteriolar pressures of 40 and 5 mmHg, using hemorrhage to reduce pressure in steps of 5 mmHg. Cerebral arteriolar – not systemic - pressure changes were used in the calculation of distensibility. After the final pressure step, blood was again reinfused to restore pressure to control levels. Arterioles were fixed by suffusion with glutaraldehyde (2.25% v/v in 0.10 $mol.L^{-1}$ cacodylate buffer) as previously described (Baumbach, 1996; Baumbach *et al.*, 2002; Baumbach *et al.*, 2003; Dupuis *et al.*, 2004).

Animals were sacrificed with sodium pentobarbital (250 $mg.kg^{-1}$, *i.v.*) and the arteriolar segment removed. The cross-sectional area (CSA) of the wall was measured in 7 µm sections using a video image analyzing system (Dupuis *et al.*, 2004).

Calculations

The lower limit of CBF autoregulation is defined as the value of mean arterial pressure below which CBF significantly falls upon further reduction in pressure. It was determined individually by a best fit method for 2 linear regression slopes relating CBF to systemic mean pressure. The first slope was for the autoregulatory plateau and the second for the passive decrease in CBF with pressure below the lower limit of CBF. The lower limit of CBF was defined as the intersection of the two slopes.

The security margin (%), which indicates the degree to which mean arterial pressure may fall before CBF starts to decrease, was defined as [(baseline mean arterial blood pressure - lower limit of cerebral blood flow autoregulation)/baseline mean arterial blood pressure]x100 (Lartaud *et al.*, 1993).

Eutrophic inward remodeling was evaluated by comparison of external diameters (ED) between the different groups of animals. ED was calculated using ID and wall thickness (WT) as: ED=ID+2WT. WT was calculated from CSA and ID: $WT=[(4CSA/\pi+ID^2)^{1/2}-ID]/2$. Wall thickness to lumen ratio (WT/ID) was calculated from WT and ID.

The passive distensibility of cerebral arterioles was evaluated using the stress-strain relationship of deactivated cerebral arterioles. Circumferential stress (σ) at each pressure step was calculated from cerebral mean arteriolar pressure (AP_m), internal diameter of the cerebral arterioles (ID), and wall thickness (WT): $\sigma=(AP_m \times ID)/(2WT)$. Mean pressure was converted from millimeters of mercury to newtons per square meter (1 mmHg = 1.334×10^2 $N.m^{-2}$). The circumferential strain (ε) was calculated as: $\varepsilon=(ID-ID_o)/ID_o$ where ID_o is the "original" internal diameter defined as the diameter at 5-10 mmHg. To obtain tangential elastic modulus, the stress-strain data from each animal were fitted to an exponential curve ($y = ae^{bx}$) using least squares analysis: $\sigma=\sigma_o e^{\beta\varepsilon}$, where σ_o is stress at original diameter and β is a constant that is related to the rate of increase of the stress-strain curve. Tangential elastic modulus (E_T) was calculated at several different values of stress from the derivative of the exponential curve: $E_T=d\sigma/d\varepsilon=\beta\sigma_o e^{be}$.

The eutrophic inward remodeling index evaluates the contribution of rearrangement of wall material to the decrease in internal diameter. This index is calculated by evaluating the ID that cerebral arterioles of SHR would have if there had been no hypertrophic inward

remodeling, *i.e.* by calculating the ID using the values of ED of SHR and the CSA of WKY: $ID_{cal}=(ED_{SHR}^2-4CSA_{WKY}/\pi)^{1/2}$. The eutrophic inward remodeling index is thus determined as: $100x(ID_{WKY}-ID_{cal})/(ID_{WKY}-ID_{SHR})$ (Baumbach & Heistad, 1989).

The hypertrophic inward remodeling index evaluates the contribution of wall hypertrophy to the decrease in internal diameter. This index is calculated by evaluating the ID that cerebral arterioles of SHR would have if there had been no eutrophic inward remodeling, *i.e.* by calculating the ID using the values of ED of WKY and the CSA of SHR: $ID_{cal}=(ED_{WKY}^2-4CSA_{SHR}/\pi)^{1/2}$. The hypertrophic inward remodeling index is thus determined as: $100x(ID_{WKY}-ID_{cal})/(ID_{WKY}-ID_{SHR})$ (Baumbach & Heistad, 1989).

Eutrophic and hypertrophic inward remodeling indices were calculated *versus* aged-matched WKY for SHR and *versus* aged-matched SHR for the captopril treated rats.

Substances used

Captopril, glutaraldehyde and cacodylate sodique were purchased from Sigma Chemical Company (St Louis, MO, USA), nitrogen and carbon dioxide from Air Liquide (Nancy, France) and sodium pentobarbital from Sanofi Santé Animale (Libourne, France).

Statistical analysis

Results are expressed as means ± s.e.mean. The experimental protocol was designed for the use of a one-way ANOVA with the variable "group" (SHR-6mo, SHR-6moC, SHR-15mo, SHR-15moC, WKY-6mo, WKY-15mo). It should be noted that two way ANOVA (age-hypertension) was not used as we did not treat WKY with captopril. Chronic treatment of normotensive rats with ACEIs exposes them to chronic hypotension which may have interesting effects on the structure and function of the cerebral circulation but these are not within the framework examined here. We have previously reported on the impact of chronic ACEI treatment on the cerebral circulation of the normotensive rats of different ages (Lartaud *et al.*, 1994). Significant differences between means were determined using the Bonferroni test. The probability level chosen was $P \leq 0.05$.

RESULTS

Pressures

Captopril lowered systemic mean arterial pressure in a similar fashion in both young and old SHR to a level that remained significantly higher (+22 and +24% respectively) than that of WKY (Figure 1). Captopril normalized cerebral arteriolar mean and pulse pressures in young SHR (Figure 1). In contrast in old SHR, although captopril normalized cerebral arteriolar pulse pressure, mean pressure remained at a level significantly higher (+20%) than in age-matched WKY (Figure 1).

Arteriolar dilatation and cerebral blood flow autoregulation

Baseline and maximal active as well as passive (EDTA) internal diameters were significantly reduced in young and old SHR compared to age-matched WKY (Table 1 and Figure 2). Captopril significantly increased diameters in young and old SHR but to a level that remained significantly lower than in WKY (Table 1 and figure 2).

The lower limit of CBF autoregulation was significantly increased in both young and old SHR compared to age-matched WKY (Figure 2). Captopril decreased the lower limit of CBF autoregulation in both young and old SHR, but this decrease was statistically significant in old hypertensive rats only (Figure 2).

The security margin was similar in SHR and age-matched WKY (Figure 2). Captopril had no effect on security margin in young treated SHR, but significantly increased the margin in old SHR, to a value greater than that of old WKY (Figure 2).

Arteriolar structure

WT and WT/ID increased in hypertensive rats. Captopril lowered WT and WT/ID in young and old SHR. However, captopril was more efficient in young SHR as WT and WT/ID in old treated SHR remained higher than those of age-matched WKY (Figure 3).

CSA was significantly increased and external diameter, after deactivation with EDTA, was significantly smaller in SHR compared to WKY, regardless of age (Figure 3). Captopril treatment decreased CSA and increased external diameter in SHR regardless of age (Figure 3). The increase in external diameter produced by captopril was smaller in old SHR (Figure

3). Remodeling indices show that the decrease in cerebrovascular resistance produced by captopril is due to its effects on inward eutrophic remodeling (Table 1).

Arteriolar mechanics

The stress-strain relationship curves in deactivated cerebral arterioles were shifted to the right in SHR compared to age-matched WKY (Figure 4). Treatment with captopril shifted the stress-strain relationship curve to the left in young but not in old SHR (Figure 4). Thus, captopril prevented the increase in passive distensibility in young but not in old SHR.

DISCUSSION

One of the main results of this paper is that the lower limit of CBF autoregulation increases with hypertension and that this hypertension-induced shift in the lower limit of CBF autoregulation is amplified by age. Chronic treatment with the ACEI, captopril, lowers the lower limit of CBF autoregulation in young and old SHR as it partially reverses the hypertension-induced reduction in arteriolar diameter (with and without tonus) and restores arteriolar autoregulatory dilator capacity. This shift in the lower limit of CBF autoregulation to a lower pressure level following chronic ACEI treatment confirms published reports on this subject (Muller *et al.*, 1990; Toyoda *et al.*, 1998). However, it can be argued that what is important in terms of prevention of cerebral ischemia is the relative shift in the lower limit of CBF autoregulation compared to the fall in input blood pressure, *i.e.*, the security margin. In young (6 months) SHR, as the increase in the lower limit of CBF autoregulation and in mean arterial blood pressure are similar, the security margin remains unchanged compared to normotensive controls. In contrast, in old (15 months) SHR, as the increase in the lower limit of CBF autoregulation is greater than that in blood pressure, the security margin is reduced. In old SHR as the effect of captopril on the lower limit of CBF autoregulation (58% reduction) far exceeds its effect on systemic mean blood pressure (26% decrease), there is a substantial increase in the security margin which more than doubles.

Several factors may explain the improvement in security margin following ACE inhibition in old SHR. First, the improvement in security margin following chronic ACE inhibition in old SHR could be due to a specific change in arteriolar remodeling in this group. Concerning vascular remodeling, the structural alterations of arterioles during chronic hypertension were first described in the extensive work of Folkow who showed encroachment of the lumen by the vascular wall (Folkow *et al.*, 1958). At the time this was attributed to vascular wall hypertrophy and the latter term is often taken as synonymous of wall remodeling. The term “vascular wall remodeling” as introduced in the late eighties by Baumbach and Heistad to describe the structural alterations observed in cerebral arterioles of hypertensive rats (Baumbach & Heistad, 1989), was defined as a reduction in external diameter of fully dilated cerebral arterioles that could not be attributed to a decrease in distensibility. In other words the reduction in internal diameter was due to a rearrangement of existing wall material without *de novo* synthesis of wall material (*i.e.* hypertrophy). Thus, in hypertensive subjects, a decrease in internal diameter observed in arterioles may be due to

either vascular wall hypertrophy or vascular wall remodeling. A concensus letter to the editor (Mulvany *et al.*, 1996) clarified the different terms: “hypertrophic inward remodeling” was proposed for vascular wall hypertrophy and “eutrophic inward remodeling” for rearrangement of wall material. Results obtained in the present experiment show that cerebral arterioles underwent both hypertrophic inward remodeling (as shown by the increase in CSA) and eutrophic inward remodeling (as shown by the reduction in external diameter) in young and old hypertensive rats. Furthermore, values of eutrophic inward remodeling indices in young and old SHR show that 98% and 94% of the increase in cerebrovascular resistance can be accounted for by inward eutrophic remodeling. We have previously proposed that impaired responses of cerebral arterioles to stimuli such as acute decrease in pressure may be linked to vascular remodeling (Chillon & Baumbach, 2001). Thus in the present experiment, vascular remodeling may decrease both maximal and autoregulatory dilatation and captopril may improve the security margin in old SHR following the reversal of such changes. However, one argument against this is that changes in internal diameter measured under EDTA are similar at both ages (6 and 15 months) but the effect of captopril on the lower limit of CBF autoregulation is far greater at 15 months (-58% *versus* –27%). Factors other than a change in the geometry of cerebral arterioles have to be considered to fully explain the effects of captopril on the security margin in old SHR.

Considering firstly wall stiffness, the rightward shift of the stress-strain relationship curves of both young and old SHR indicates that arteriolar wall stiffness decreases in SHR compared to age-matched WKY regardless of age. An increase in passive compliance would be expected to affect arterioles more during dilatation and result in increased diameter when vessels are dilated in response to reduced pressure (Chillon & Baumbach, 2002). The fact that following captopril in old rats distensibility remains high (whereas it is reduced by captopril in young SHR) may be an additional factor in the greater shift in the lower limit of CBF autoregulation produced by captopril in old SHR. We have to remain cautious, however, as we did not observe any differences in the maximal autoregulatory dilatation between young and old SHR.

Finally, the improvement in security margin following ACE inhibition in old SHR could also be due to an effect on arteriolar functional dilator capacity following potentiation of a cerebrovascular bradykinin-NO system (Takada *et al.*, 2001) or blockade of an angiotensin II-AT_1 vasoconstrictor pathway (Nishimura *et al.*, 2000; Estrup *et al.*, 2001; Ito *et*

al., 2002) or a decrease in angiotensin II-induced generation of superoxide by NADPH-oxidase (van der Giet *et al.*, 2002). These aspects were not investigated.

Another main result of this paper, as mentioned earlier, is that captopril treatment reverses the hypertension-provoked increase in cerebral arteriolar distensibility in young but not in old hypertensive rats. It has been proposed that the increase in distensibility may be consecutive to vascular wall hypertrophy and an increase in the proportion of compliant (smooth muscle cells, elastin, endothelial cells) to stiff (collagen, basement membrane) components of the vessel wall (Baumbach *et al.*, 1988b). The increase in the smooth muscle component may improve vasodilatory capacity. An argument against this hypothesis is that captopril treatment reduced CSA in both young and old SHR and yet did not normalize passive distensibility in old SHR. This suggests that factors other than the relative composition of the vessel wall, such as modification of the connections between the different components of the wall, may be important in old SHR.

In conclusion, the main result of this paper is that in SHR some, but not all, age-related changes are reversed by chronic captopril treatment. Indeed, chronic ACE inhibition with captopril failed to restore passive distensibility in old SHR. Furthermore, captopril lowers blood pressure and – to a much greater extent – the lower limit of CBF autoregulation, so more than doubling the cerebrovascular security margin in old SHR. Were this to be the case in man, this observations would have marked clinical importance in terms of prevention of iatrogenic cerebral hypoperfusion during antihypertensive treatment of the elderly.

ACKNOLEDGEMENTS

This study was funded by grants from the French Ministry of Education, Research and Technology (EA3448, Paris, France), the Lorraine Regional Development Committee (Metz, France), the Greater Nancy Urban Council (Nancy, France) and Henri Poincaré University (Nancy, France)and the Pharmacolor Association, Nancy.

REFERENCES

ATKINSON, J. (2001). Cerebrovascular structure and dementia: new drug targets. *Trends Pharmacol. Sci.*, **22**, 630-635.

ATKINSON, J., SONNAY, M., SAUTEL, M. & FOUDA, A.K. (1987). Chronic treatment of the spontaneously hypertensive rat with captopril attenuates responses to noradrenaline *in vivo* but not *in vitro*. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, **335**, 624-628.

BARRY, D.I., JARDEN, J.O., PAULSON, O.B., GRAHAM, D.I. & STRANDGAARD, S. (1984a). Cerebrovascular aspects of converting-enzyme inhibition I: Effects of intravenous captopril in spontaneously hypertensive and normotensive rats. *J. Hypertens.*, **2**, 589-597.

BARRY, D.I., PAULSON, O.B., JARDEN, J.O., JUHLER, M., GRAHAM, D.I. & STRANDGAARD, S. (1984b). Effects of captopril on cerebral blood flow in normotensive and hypertensive rats. *Am. J. Med.*, **76**, 79-85.

BAUMBACH, G.L. (1996). Effects of increased pulse pressure on cerebral arterioles. *Hypertension*, **27**, 159-167.

BAUMBACH, G.L., DOBRIN, P.B., HART, M.N. & HEISTAD, D.D. (1988a). Mechanics of cerebral arterioles in hypertensive rats. *Circ. Res.*, **62**, 56-64.

BAUMBACH, G.L. & HAJDU, M.A. (1993). Mechanics and composition of cerebral arterioles in renal and spontaneously hypertensive rats. *Hypertension*, **21**, 816-826.

BAUMBACH, G.L. & HEISTAD, D.D. (1989). Remodeling of cerebral arterioles in chronic hypertension. *Hypertension*, **13**, 968-972.

BAUMBACH, G.L., SIGMUND, C.D., BOTTIGLIERI, T. & LENTZ, S.R. (2002). Structure of cerebral arterioles in cystathionine beta-synthase-deficient mice. *Circ. Res.*, **91**, 931-937.

BAUMBACH, G.L., SIGMUND, C.D. & FARACI, F.M. (2003). Cerebral arteriolar structure in mice overexpressing human renin and angiotensinogen. *Hypertension*, **41**, 50-55.

BAUMBACH, G.L., WALMSLEY, J.G. & HART, M.N. (1988b). Composition and mechanics of cerebral arterioles in hypertensive rats. *Am. J. Pathol.*, **133**, 464-471.

CHILLON, J.M. & BAUMBACH, G.L. (1999). Effects of an angiotensin-converting enzyme inhibitor and a ß-blocker on cerebral arterioles in rats. *Hypertension*, **33**, 856-861.

CHILLON, J.M. & BAUMBACH, G.L. (2001). Effects of an angiotensin-converting enzyme inhibitors and a ß-blocker on cerebral arteriolar dilatation in hypertensive rats. *Hypertension*, **37**, 1388-1393.

CHILLON, J.M. & BAUMBACH, G.L. (2002). Autoregulation: arterial and intracranial pressure. In *Cerebral Blood Flow and Metabolism, Second Edition.* ed. Edvinsson, L. & Krause, D.N. pp. 395-412. New York: Lippincott Williams & Wilkins.

CHILLON, J.M., CAPDEVILLE-ATKINSON, C., LARTAUD, I., GUILLOU, J., MERTES, P.M. & ATKINSON, J. (1992). Chronic antihypertensive treatment with captopril plus hydrochlorothiazide improves aortic distensibility in the spontaneously hypertensive rat. *Br. J. Pharmacol.*, **107**, 710-714.

DUPUIS, F., REGRIGNY, O., ATKINSON, J., LIMINANA, P., DELAGRANGE, P., SCALBERT, E. & CHILLON, J.M. (2004). Impact of treatment with melatonin on cerebral circulation in old rats. *Br. J. Pharmacol.*, **141**, 399-406.

ESTRUP, T.M., PAULSON, O.B. & STRANDGAARD, S. (2001). No effect of angiotensin II AT2-receptor antagonist PD123319 on cerebral blood flow autoregulation. *J. Renin Angiotensin Aldosterone Syst.*, **2**, 188-192.

FLUCKIGER, J.P., SONNAY, M., BOILLAT, N. & ATKINSON, J. (1985). Attenuation of the baroreceptor reflex by general anesthetic agents in the normotensive rat. *Eur. J. Pharmacol.*, **109**, 105-109.

FOLKOW, B., GRIMBY, G. & THULESIUS, O. (1958). Adaptative structural changes of the vascular walls in hypertension and their relation to the control of the peripheral resistance. *Acta Physiol. Scand.*, **44**, 255-272.

FUJII, K., HEISTAD, D.D. & FARACI, F.M. (1991). Role of the basilar artery in the regulation of blood flow to the brain stem in rats. *Stroke*, **22**, 763-767.

GIUMMELLY, P., LARTAUD-IDJOUADIENE, I., NIEDERHOFFER, N., CHILLON, J.M., CAPDEVILLE-ATKINSON, C. & ATKINSON, J. (1999). Antihypertensive treatment and aortic internal diameter in SHR. *Hypertension*, **34**, 207-211.

HAJDU, M.A., HEISTAD, D.D. & BAUMBACH, G.L. (1991). Effects of antihypertensive therapy on mechanics of cerebral arterioles in rats. *Hypertension*, **17**, 308-316.

HAJDU, M.A., HEISTAD, D.D., SIEMS, J.E. & BAUMBACH, G.L. (1990). Effects of aging on mechanics and composition of cerebral arterioles in rats. *Circ. Res.*, **66**, 1747-1754.

ITO, T., YAMAKAWA, H., BREGONZIO, C., TERRON, J.A., FALCON-NERI, A. & SAAVEDRA, J.M. (2002). Protection against ischemia and improvement of cerebral blood flow in genetically hypertensive rats by chronic pretreatment with an angiotensin II AT1 antagonist. *Stroke*, **33**, 2297-2303.

LARTAUD, I., BRAY-DES-BOSCS, L., CHILLON, J.M., ATKINSON, J. & CAPDEVILLE-ATKINSON, C. (1993). In vivo cerebrovascular reactivity in Wistar and Fischer 344 rat strains during aging. *Am. J. Physiol.*, **264**, H851-H858.

LARTAUD, I., MAKKI, T., BRAY-DES BOSCS, L., NIEDERHOFFER, N., ATKINSON, J., CORMAN, B. & CAPDEVILLE-ATKINSON, C. (1994). Effect of chronic ANG I-converting enzyme inhibition on aging processes. IV. Cerebral blood flow autoregulation. *Am. J. Physiol.*, **267**, R687-R694.

MULLER, F., LARTAUD, I., BRAY, L., ATKINSON, J., JANIAN, P., BURLET, C. & CAPDEVILLE, C. (1990). Chronic treatment with the angiotensin I converting enzyme inhibitor, perindopril, restores the lower limit of autoregulation of cerebral blood flow in the awake renovascular hypertensive rat. *J. Hypertens.*, **8**, 1037-1042.

MULVANY, M.J., BAUMBACH, G.L., AALKJAER, C., HEAGERTY, A.M., KORSGAARD, N., SCHIFFRIN, E.L. & HEISTAD, D.D. (1996). Vascular remodeling: Letter to the editor. *Hypertension*, **28**, 505-506.

NISHIMURA, Y., ITO, T. & SAAVEDRA, J.M. (2000). Angiotensin II AT1 blockade normalizes cerebrovascular autoregulation and reduces cerebral ischemia in spontaneously hypertensive rats. *Stroke*, **31**, 2478-2486.

PAULSON, O.B., WALDEMAR, G., ANDERSEN, A.R., BARRY, D.I., PEDERSEN, E.V., SCHMIDT, J.F. & VORSTRUP, S. (1988). Role of angiotensin in autoregulation of cerebral blood flow. *Circulation*, **77**, I-55-I-58.

STIJNEN, A.M., DANHOF, M. & VAN BEZOOIJEN, C.F. (1992). Increased sensitivity to anesthetic effect of phenobarbital in aging BN/BiRij rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **261**, 81-87.

TAKADA, J., IBAYASHI, S., NAGAO, T., OOBOSHI, H., KITAZONO, T. & FUJISHIMA, M. (2001). Bradykinin mediates the acute effect of an angiotensin-converting enzyme inhibitor on cerebral autoregulation in rats. *Stroke*, **32**, 1216-1219.

TOYODA, K., FUJII, K., IBAYASHI, S., KITAZONO, T., NAGAO, T., TAKABA, H. & FUJISHIMA, M. (1998). Attenuation and recovery of brain stem autoregulation in spontaneously hypertensive rats. *J. Cerebr. Blood F. Met.*, **18**, 305-310.

VAN DER GIET, M., ERINOLA, M., ZIDEK, W. & TEPEL, M. (2002). Captopril and quinalapril reduce reactive oxygen species. *Eur. J. Clin. Invest.*, **32**, 732-737.

WIXSON, S.K., WHITE, W.G., HUGHES, H.C.J., LANG, C.M. & MARSHALL, W.K. (1987). The effects of pentobarbital, fentanyl-droperidol, ketamine-xylazine and ketamine-diazepam on arterial blood pH, blood gases, mean arterial blood pressure and heart rate in adult male rats. *Lab. Anim. Sci.*, **37**, 736-742.

Table 1: Baseline values for cerebral arterioles after deactivation (EDTA) in WKY and SHR of different ages treated or not with captopril.

Parameters	WKY	SHR	WKY	SHR	SHR	SHR
Age (months)	6	6	15	15	6	15
Captopril ($mg.kg^{-1}.day^{-1}$)	No	No	No	No	105±2	94±1
n	10	10	15	8	13	11
Baseline ID (µm)	65±4	40±1*	59±3	40±2*	51±2†	51±3†
EIR Index	NA	98	NA	94	95	92
HIR Index	NA	2	NA	4	4	10

Eutrophic inward remodeling (EIR) and hypertrophic inward remodeling (HIR) indices were calculated as previously described (Baumbach & Heistad, 1989). *: $P \leq 0.05$ vs. age-matched WKY. †: $P \leq 0.05$ vs. age-matched SHR.

LEGEND OF FIGURES

Figure 1: Effect of chronic treatment with the ACEI, captopril (100 $mg.kg^{-1}.day^{-1}$, full columns) on systemic (left) and cerebral arteriolar (right) mean (top) and pulse (bottom) pressures in young (6 months) and old (15 months) SHR compared to age-matched normotensive WKY. *: $P \leq 0.05$ vs. age-matched WKY. †: $P \leq 0.05$ vs. age-matched SHR.

Figure 2: Effect of chronic treatment with the ACEI, captopril (100 $mg.kg^{-1}.day^{-1}$, full columns) on the lower limit of CBF autoregulation (LLCBF), the security margin, maximal hypotension-induced dilatation (maximal ID) and maximal vasodilatation induced by EDTA (EDTA ID) in young (6 months) and old (15 months) SHR compared to age-matched normotensive WKY. Maximal vasodilatation induced by EDTA was measured for a pressure steps of 30-35 mmHg. *: $P \leq 0.05$ vs. age-matched WKY. †: $P \leq 0.05$ vs. age-matched SHR.

Figure 3: Effect of chronic treatment with the ACEI, captopril (100 $mg.kg^{-1}.day^{-1}$, full columns) on cross-sectional area of the vessel wall (CSA), external diameter (ED), wall thickness (WT) and wall thickness to lumen ratio (WT/ID) in young (6 months) and old (15 months) SHR compared to age-matched normotensive WKY. External diameter was measured in maximally dilated cerebral arterioles (EDTA) for a pressure steps of 30-35 mmHg. WT and WT/ID were calculated from values of CSA and ID measured in maximally dilated cerebral arterioles (EDTA) for a pressure steps of 30-35 mmHg. *: $P \leq 0.05$ vs. age-matched WKY. †: $P \leq 0.05$ vs. age-matched SHR.

Figure 4: Effect of chronic treatment with the ACEI, captopril (100 $mg.kg^{-1}.day^{-1}$, SHR-CAP) on the stress-strain relationships in young (6 months, left) and old (15 months, right) SHR compared to age-matched normotensive WKY. Values are means ± SEM. ID, internal diameter of cerebral arterioles for mean cerebral arteriolar pressure steps of 5 mmHg (35-39 to 5-9 mmHg); ID_o, internal diameter at the lowest pressure step.

Figure 1:

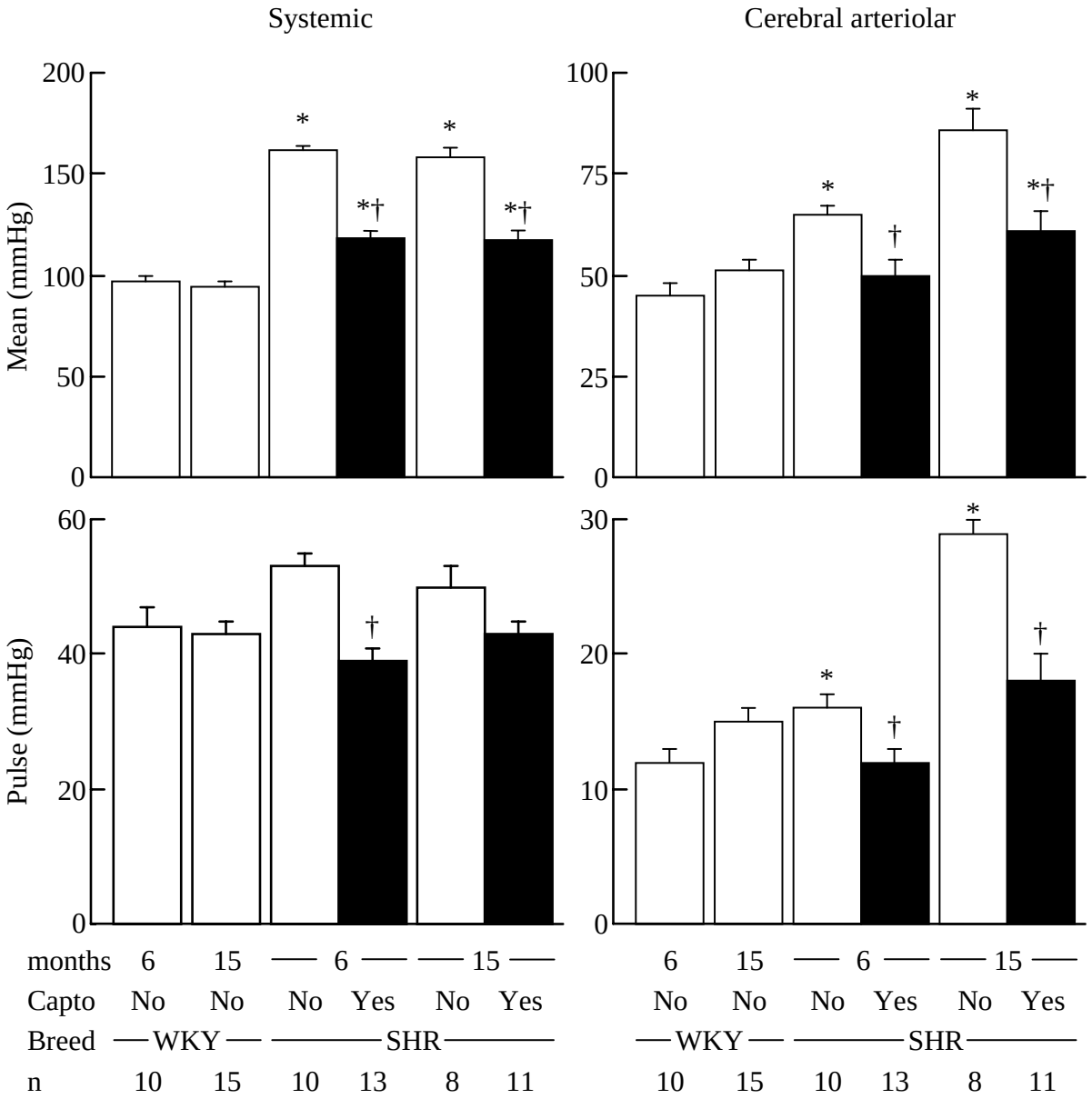

Systemic
Cerebral arteriolar
Mean (mmHg)
Pulse (mmHg)
200
150
100
50
0
100
75
50
25
0
60
40
20
0
30
20
10
0
*
*†
†
months 6 15 6 15
Capto No No No Yes No Yes
Breed WKY SHR
n 10 15 10 13 8 11

Figure 2:

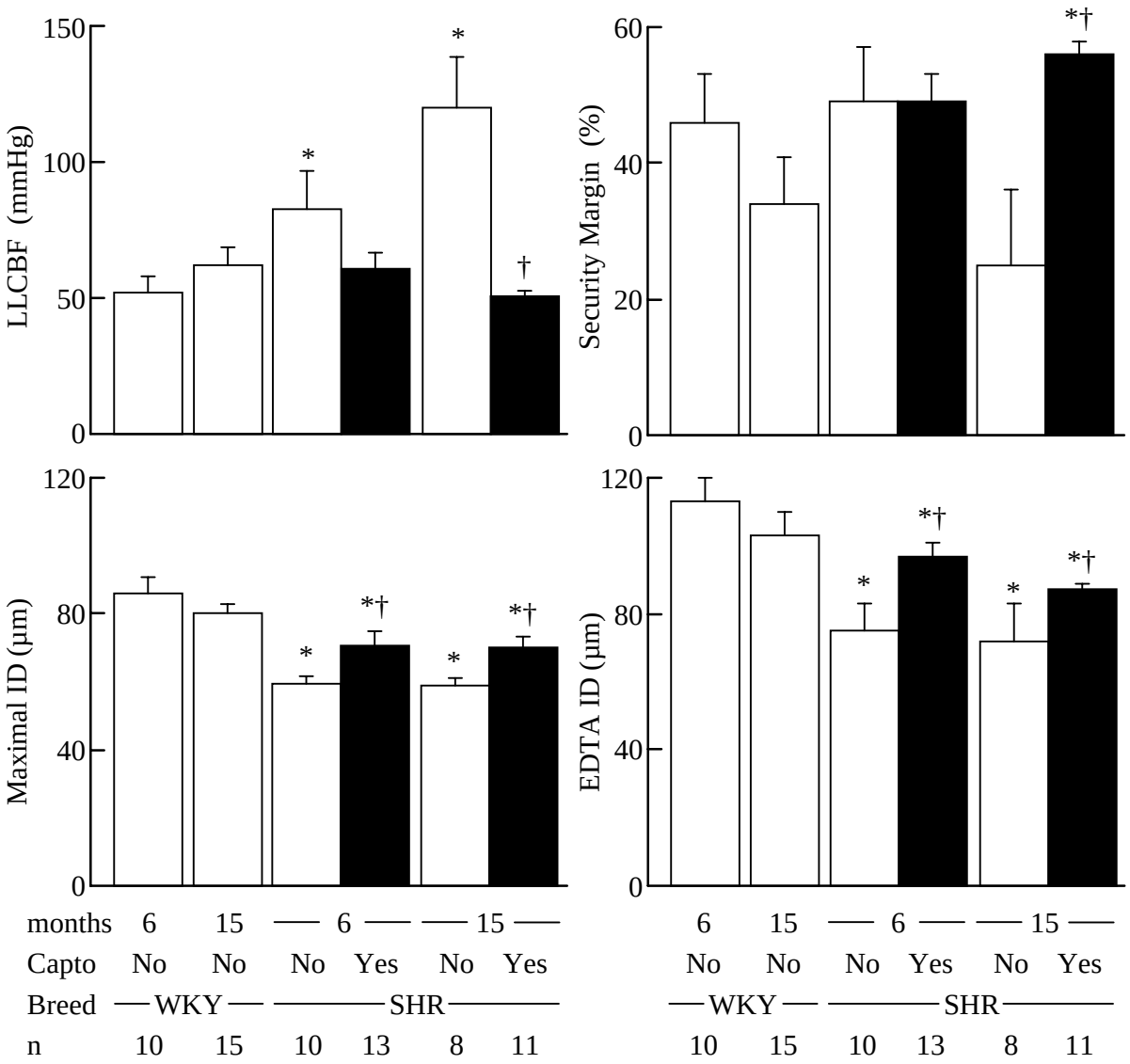

LLCBF (mmHg)
150
100
50
0
*
*
†
Security Margin (%)
60
40
20
0
*†
Maximal ID (µm)
120
80
40
0
*
*†
*
*†
EDTA ID (µm)
120
80
40
0
*
*†
*
*†
months 6 15 6 15
Capto No No No Yes No Yes
Breed WKY SHR
n 10 15 10 13 8 11
6 15 6 15
No No No Yes No Yes
WKY SHR
10 15 10 13 8 11

Figure 3:

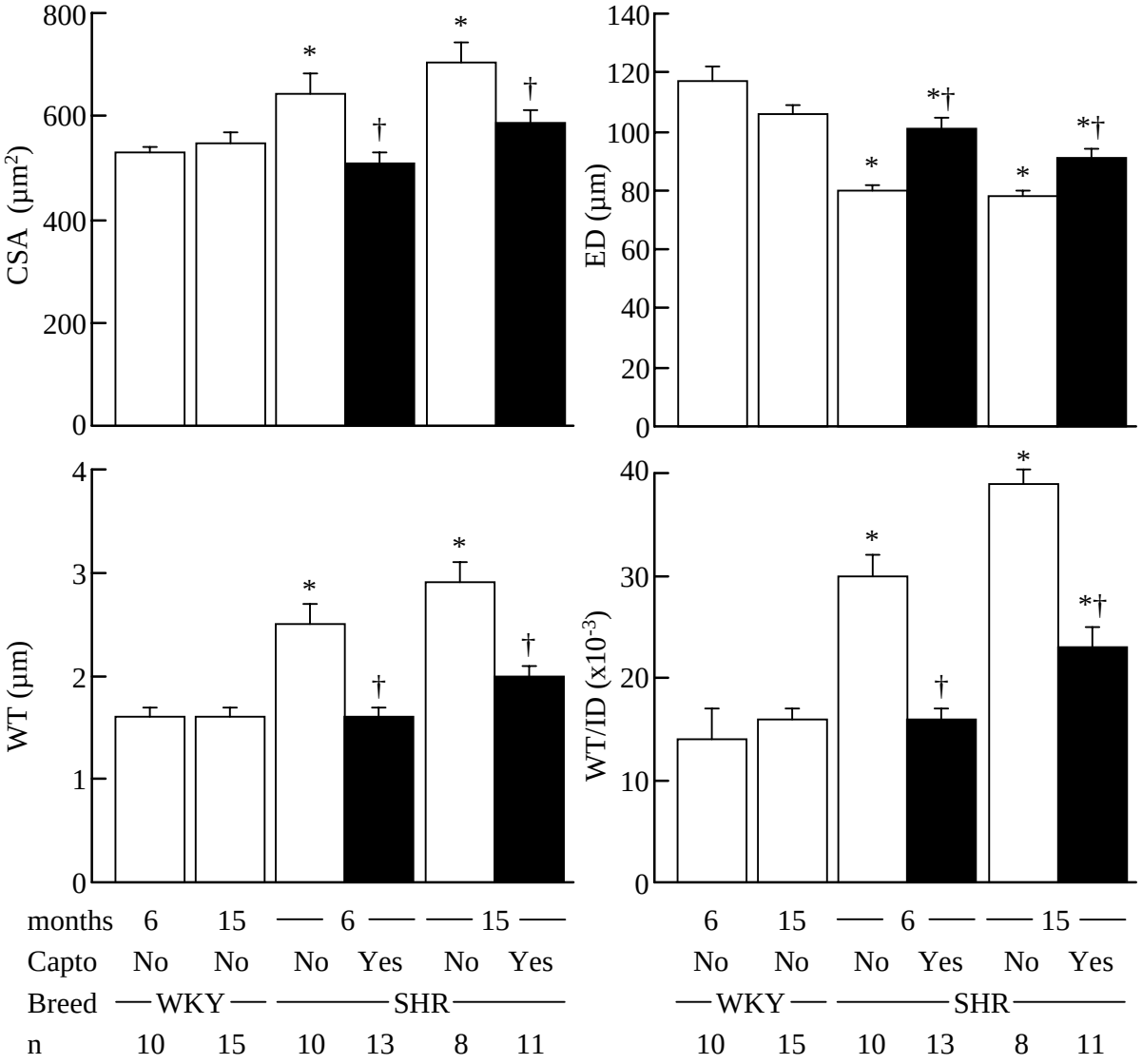
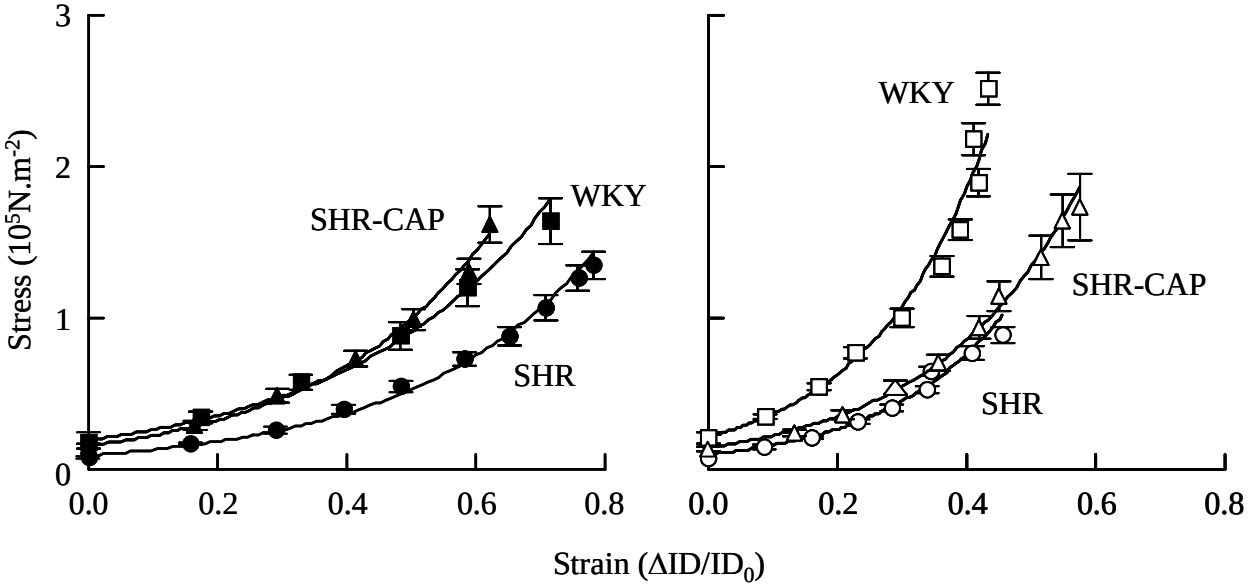

CSA (µm²)
800
600
400
200
0
ED (µm)
140
120
100
80
60
40
20
0
WT (µm)
4
3
2
1
0
WT/ID (x10⁻³)
40
30
20
10
0
months 6 15 6 15
Capto No No No Yes No Yes
Breed WKY SHR
n 10 15 10 13 8 11

Figure 4:


3
2
1
0
Stress (10^5N.m^{-2})
SHR-CAP
WKY
SHR
WKY
SHR-CAP
SHR
0.0
0.2
0.4
0.6
0.8
0.0
0.2
0.4
0.6
0.8
Strain ($\Delta ID/ID_0$)

3. Résumé des résultats

Cette première étude nous a permis de montrer que les artérioles cérébrales des rats SHR subissent un remodelage hypertrophique et eutrophique centripète associé à une augmentation de la distensibilité pariétale par rapport à leurs contrôles normotendus WKY de même âge. Ces altérations structurales et mécaniques sont donc qualitativement semblables à celles observées sur les artérioles cérébrales des rats SHRSP (Baumbach et Heistad, 1989). Cependant, d'un point de vue quantitatif, le remodelage eutrophique centripète semble encore plus prépondérant chez le rat SHR puisqu'il contribue pour plus de 90 % à la diminution du diamètre interne des artérioles cérébrales, et donc à l'augmentation des résistances cérébrovasculaires (indice de remodelage eutrophique de 98 % et 94 % chez les SHR jeunes et âgés, respectivement), alors que l'indice de remodelage eutrophique des artérioles cérébrales des rats SHRSP n'est « que » de 70 %. Ces résultats confirment ce que nous avons vu précédemment au niveau d'autres lits vasculaires tels que le lit mésentérique (cf. PARTIE 1 : III. 1.2.2.). De plus, nous avons montré au cours de cette étude qu'un traitement de ces rats SHR par un IEC, le captopril, permet d'atténuer la diminution du diamètre interne des artérioles cérébrales et donc de diminuer les résistances cérébrovasculaires. Cet effet du captopril se retrouve chez les SHR jeunes comme chez les SHR âgés, et est principalement du à l'atténuation du remodelage eutrophique centripète (95 % de l'augmentation du diamètre interne est due à l'atténuation du remodelage eutrophique chez les SHR jeunes traités et 92 % chez les SHR âgés). Enfin, cette atténuation du remodelage eutrophique centripète induite par le captopril est associée à une diminution de la limite basse de l'autorégulation du DSC chez les rats SHR jeunes comme chez les rats SHR âgés.

D'un point de vue hypertension artérielle chronique, ce premier aspect des résultats nous permet donc de confirmer que le remodelage eutrophique centripète est le principal déterminant de la diminution du diamètre interne des artérioles cérébrales chez le rat SHR (qu'il soit jeune ou sénescent) et qu'un traitement chronique par un IEC permet d'atténuer le développement de ce remodelage eutrophique et d'améliorer les capacités d'autorégulation du DSC.

En ce qui concerne le vieillissement, nous avons pu observer au cours de cette étude qu'il n'a pas eu d'impact sur la SCT de la paroi des artérioles cérébrales chez les rats WKY et

SHR, contrairement à la diminution de SCT qu'avait rapportée Hajdu chez les rats Fischer 344 (Hajdu, *et al.*, 1990). Ces résultats, couplés à ceux d'une de nos études antérieures (Dupuis, *et al.*, 2004), suggèrent que la survenue d'une atrophie pariétale au cours du vieillissement puisse dépendre de la souche des rats étudiée. De plus, nos résultats montrent que le vieillissement n'a pas non plus eu d'impact sur le remodelage eutrophique centripète des artérioles cérébrales. En revanche, et conformément à ce qu'avait montré Hajdu, nous avons pu mettre en évidence une diminution de la distensibilité pariétale au cours du vieillissement aussi bien chez les WKY que chez les SHR.

Enfin, le vieillissement n'a pas eu d'impact sur l'efficacité du captopril pour prévenir ou atténuer les remodelages hypertrophique et eutrophique chez les rats SHR. Cependant, l'effet du captopril sur la distensibilité est différent selon l'âge des rats : chez les SHR jeunes, le captopril a permis de prévenir l'augmentation de la distensibilité consécutive à l'hypertension alors qu'il n'a eu aucun impact sur ce même paramètre chez les SHR âgés. Au contraire, le traitement par le captopril apparaît plus efficace chez les SHR âgés que chez les SHR jeunes pour diminuer la limite basse de l'autorégulation du DSC et augmenter la marge de sécurité cérébrovasculaire.

II. ROLE DES RECEPTEURS AT_1

1. Objectif

Nous avons démontré dans notre première étude que le remodelage eutrophique centripète est le déterminant majeur de la diminution du diamètre interne des artérioles cérébrales chez les rats SHR, et qu'un traitement chronique par un IEC permet d'atténuer ce remodelage eutrophique et d'améliorer les capacités d'autorégulation du DSC.

L'efficacité des IEC, observée dans cette étude comme dans de nombreuses autres (cf. PARTIE 1 : III. 3.2.1.), pour atténuer le remodelage eutrophique tend à démontrer l'implication du système rénine angiotensine dans son développement. Cependant, l'enzyme de conversion de l'angiotensine n'est pas totalement spécifique du système rénine angiotensine aldostérone puisqu'elle assure également la dégradation de différentes substances telles que la bradykinine ou la substance P. Ainsi, l'efficacité des IEC pourrait être due à un blocage du système rénine angiotensine aldostérone, à une stimulation de différents autres systèmes (bradykinine,…) ou encore à une combinaison de ces effets. Dans cette deuxième étude, nous voulions donc déterminer si un blocage plus en aval et plus spécifique du système rénine angiotensine aldostérone pouvait reproduire les effets des IEC sur les caractéristiques structurales et mécaniques des artérioles cérébrales ainsi que sur la limite basse de l'autorégulation du DSC. De nouveaux médicaments bloquant le système rénine angiotensine aldostérone, les antagonistes spécifiques des récepteurs AT_1 de l'angiotensine II, semblent offrir une meilleure protection que les IEC contre les complications cérébrovasculaires (Fournier, *et al.*, 2004). Nous avons donc utilisé dans cette étude un antagoniste des récepteurs AT_1 afin de déterminer le rôle de ces récepteurs dans le développement du remodelage eutrophique centripète et dans l'élévation de la limite basse du DSC observés au cours de l'hypertension artérielle chronique.

L'objectif de cette deuxième étude était donc de comparer les effets d'un traitement par un antagoniste des récepteurs AT_1 à ceux d'un IEC sur les caractéristiques structurales et mécaniques des artérioles cérébrales ainsi que sur l'autorégulation du DSC chez le rat SHR.

2. Manuscrit

COMPARATIVE EFFECTS OF THE ANGIOTENSIN II RECEPTOR BLOCKER, TELMISARTAN, AND THE ANGIOTENSIN CONVERTING ENZYME INHIBITOR, RAMIPRIL, ON CEREBROVASCULAR STRUCTURE IN SHR.

J. Hypertens., 23, (5): 1061-1066, 2005

François Dupuis, Jeffrey Atkinson, Patrick Limiñana & Jean-Marc Chillon

Cardiovascular Research Group, INSERM U684, Faculté de Pharmacie
Université Henri Poincaré-Nancy I, 5 rue Albert Lebrun,
54000 Nancy, France.

Part of this work was presented at the 8th Annual Congress of the French Pharmacological Society (Fund. Clin. Pharmacol., 18, 221, 2004) and the 5th Joint Meeting of the French and Chinese Pharmacological Societies (Beijing, 21-22 October 2004).

Sources of support: Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co. KG, the French Ministry of Education, Research and Technology (EA3448, Paris, France), the Lorraine Regional Development Committee (Metz, France), the Greater Nancy Urban Council (Nancy, France), Henri Poincaré University (Nancy, France) and the Pharmacolor Association (Nancy, France).

Conflict of interest: none

Author for correspondance : Jeffrey Atkinson, Cardiovascular Research Group, INSERM U684, Faculté de Pharmacie, Université Henri Poincaré-Nancy I, 5 rue Albert Lebrun, 54000 Nancy, France. Telephone (33) 3-83-68-22-62, Fax (33) 3-83-68-23-01.

Email : Jeffrey.Atkinson@pharma.uhp-nancy.fr

SUMMARY

***Objective*:** Antihypertensive treatment with angiotensin converting enzyme inhibitors (ACEIs) reverses cerebral arteriolar remodeling thus restoring dilatation and hence the lower limit of cerebral blood flow (CBF) autoregulation (LLCBF). The objective of this study was to determine whether angiotensin II receptor AT_1 blockers (ARBs) produce the same effect.

***Design*:** We examined the effects of treatment with an ARB (telmisartan, 1.93±0.04 $mg.kg^{-1}.day^{-1}$, TEL) or an ACEI (ramipril, 1.00±0.02 $mg.kg^{-1}.day^{-1}$, RAM) on the cerebral circulation in spontaneously hypertensive rats (SHR).

***Methods*:** Arteriolar pressure and diameter (cranial window), wall cross-sectional area (CSA, histology) and CBF (laser Doppler) were measured during stepwise hypotensive hemorrhage, before and after deactivation (EDTA), in untreated WKY and SHR untreated or treated for 3 months with TEL or RAM in the drinking water.

***Results*:** Treatment normalized arteriolar internal diameter (SHR 38±3, TEL 52±2, RAM 50±2, WKY 58±4 µm) (essentially by reversing eutrophic inward remodeling) and the LLCBF (SHR 80±11, TEL 60±4, RAM 71±6, WKY 57±5 mmHg).

***Conclusion*:** The fact that the ARB (TEL) is as effective as an ACEI (RAM) in reversing cerebral arteriolar remodeling suggests that the cerebrovascular AT_1 receptor is an underlying mechanism that promotes hypertensive eutrophic inward remodeling.

***Key Words*:** hypertension, vascular remodeling, security margin, lower limit of cerebral blood flow autoregulation.

INTRODUCTION

Chronic hypertension induces vascular remodeling of cerebral arterioles in spontaneously hypertensive rats (SHR) and stroke-prone SHR (SHRSP); this involves reorganization of the material of the vascular wall around a smaller internal diameter (eutrophic inward remodeling) and an increase in the amount of material (hypertrophic inward remodeling) [1, 2]. The resulting decrease in internal diameter (ID) and increase in cerebrovascular resistance contributes to the rightward shift of the lower limit of cerebral blood flow (CBF) autoregulation (LLCBF) observed in hypertension [3, 4].

During antihypertensive treatment, in order to avoid iatrogenic cerebral hypoperfusion (and neuronal dysfunction) caused by the inability of the cerebral circulation to remodel and adapt to the treatment-induced reduction in blood pressure, it is essential that the antihypertensive effect of a drug be accompanied by reversal of cerebrovascular remodeling. In this respect, blockade of the renin angiotensin aldosterone system (RAAS) may be the means of choice. Angiotensin converting enzyme inhibitors (ACEIs) reverse eutrophic inward remodeling in SHRSP [5, 6] and thus restore cerebral vasodilator capacity [3]. It has been suggested that a new class of drugs which block the RAAS – the angiotensin II receptor blockers (ARBs) - may afford better protection than do ACEIs against cerebrovascular complications [7].

In the light of the above, the goal of the present work was to compare the effects of chronic treatment with the ARB, telmisartan (TEL), and the ACEI, ramipril (RAM), on cerebral arteriolar structure, mechanics, autoregulatory dilatation and on the LLCBF in SHR.

METHODS

Animals and operative procedures.

The experiments were conducted on 6 month-old male normotensive Wistar Kyoto (WKY, n = 16) and SHR (Iffa-Credo, l'Arbresle, France). At 3 months of age, SHR were divided into 3 groups: a group treated with the ARB, telmisartan in the drinking water (SHR-TEL, 1.93 ± 0.04 mg. $kg^{-1}.day^{-1}$, n = 21), a group treated with the ACEI ramipril in the drinking water (SHR-RAM, 1.00 ± 0.02 $mg.kg^{-1}.day^{-1}$, n = 15) and an untreated group (n = 16). Doses chosen produced similar antihypertensive effects in preliminary experiments (data not shown).

After 3 months' treatment, we evaluated CBF autoregulation and the structure and function of cerebral arterioles as previously described [8]. Experiments were performed in accordance with the guidelines of the French Ministry of Agriculture, Paris, France (permits 54-4 and 03575).

Measurement of cerebral arteriolar pressure and diameter, and of cerebral blood flow.

We measured pressure and internal diameter of first order pial arterioles (40-60 µm internal diameter) using an open skull preparation as previously described [8]. Cerebral arteriolar pressure was continuously measured with a micropipette connected to a servo-null pressure-measuring device (model 5A, Vista Electronics Company, Ramona, California). Arteriolar internal diameter (ID) was monitored through a microscope (Stemi 200-C, Carl Zeiss Jena GMBH, Jena, Germany) connected to a video system with a final magnification of 600x. Images were digitalized using a video frame grabber and diameter measured using image analysis software (Saisam®, Microvision Instruments, Evry, France). CBF (arbitrary units, a.u.) was measured by laser Doppler flowmetry (BLF 21, Transonic Systems Inc., Ithaca, NY, USA) with a 1.2 mm diameter needle probe [9].

Experimental protocol.

Thirty minutes after completion of surgery, baseline cerebral arteriolar pressure, ID and CBF were measured. To determine the lower limit of CBF autoregulation, stepwise hypotension (10 mmHg per step to a systemic mean arterial pressure of 20-30 mmHg) was induced by controlled withdrawal of blood. One minute after each stepwise fall in blood

pressure, systemic and cerebral arteriolar pressures, arteriolar diameter and CBF were measured. After the final step, blood was re-injected to restore blood pressure.

Wall stiffness was evaluated from arteriolar pressure-diameter relationships obtained in deactivated (EDTA 67 mM [10]) cerebral arterioles between mean arteriolar pressures of 45 and 5 mmHg, using hemorrhage to reduce pressure in steps of 5 mmHg. After the final pressure step, blood was again reinfused to restore pressure to control levels. Arterioles were fixed by suffusion with glutaraldehyde (2.25% v/v in 0.10 $mol.L^{-1}$ cacodylate buffer) as previously described [8]. Animals were sacrificed with sodium pentobarbital (250 $mg.kg^{-1}$, *i.v.*) and the arteriolar segment removed. The cross-sectional area (CSA) of the wall was measured in 7 µm sections using a video image analyzing system [8].

Calculations.

The LLCBF, defined as the value of mean arterial pressure below which CBF significantly falls upon further reduction in pressure, was determined individually by a best fit method for 2 linear regression slopes relating CBF to systemic mean pressure as previously described [8]. The security margin (%), which indicates the degree to which mean arterial pressure may fall before CBF starts to decrease, was calculated as previously described [11].

In fully relaxed cerebral arterioles (EDTA), arteriolar external diameter (ED), circumferential stress (σ), circumferential strain (ε), wall thickness (WT), wall thickness to lumen ratio (WT/ID) and tangential elastic modulus (E_T) were calculated for each pressure step using values of ID and CSA [8]. The eutrophic inward remodeling index, which evaluates the contribution of rearrangement of wall material to the decrease in ID, is calculated by evaluating the ID that cerebral arterioles of SHR would have if there had been no hypertrophic inward remodeling, *i.e.* by calculating the ID using the values of ED of SHR and the CSA of WKY [2]. On the same basis, the hypertrophic inward remodeling index evaluates the contribution of wall hypertrophy to the decrease in internal diameter [2]. Eutrophic and hypertrophic inward remodeling indices were calculated *versus* WKY for untreated SHR and *versus* untreated SHR for the treated rats.

Substances used.

TEL was provided by Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co. KG (Ingelheim, Germany) and RAM by Aventis Pharma Deutschland GmbH (Frankfurt, Germany). Glutaraldehyde and cacodylate were purchased from Sigma Chemical Company (St Louis, Missouri, USA) and sodium pentobarbital from Sanofi-Aventis (Libourne, France).

Statistical analysis.

Results are expressed as means ± s.e.mean. The experimental protocol was designed for the use of a one-way ANOVA for the variable "group" (WKY, SHR, SHR-TEL, SHR-RAM). Significant differences between means were determined using the Bonferroni test and the null hypothesis was rejected at a probability level of $P \leq 0.05$.

RESULTS

Pressures.

Diastolic, systolic, mean and pulse arterial and arteriolar pressures were significantly greater in untreated SHR than in WKY (Table 1). TEL and RAM reduced but did not normalize diastolic, systolic, mean and pulse arterial pressures to a similar extent. In contrast, TEL and RAM normalized diastolic, systolic, mean and pulse arteriolar pressures in SHR (Table 1).

Arteriolar structure.

CSA, WT and WT/ID increased in SHR compared to WKY (Table 2). ID (Table 2, Figure 1) and ED (Figure 2) measured after deactivation with EDTA were significantly smaller in SHR compared to untreated WKY. Eutrophic and hypertrophic inward remodeling indices calculated versus untreated WKY were 95 and 5%, respectively.

TEL and RAM normalized CSA, WT, and WT/ID (Table 2) and increased ID (Table 2) and ED (Figure 2). Eutrophic and hypertrophic inward remodeling indices calculated versus untreated SHR were 88 and 14% respectively in SHR-TEL and 91 and 12% respectively in SHR-RAM.

Arteriolar mechanics.

Wall stress was halved in SHR (Table 2) and the stress-strain curve in deactivated arterioles shifted to the right compared to WKY (Figure 3). The slope of the tangential elastic modulus versus stress significantly decreased in SHR (Table 2).

Treatment with TEL or RAM normalized wall stress (Table 2) and shifted the stress-strain curve to the left compared to SHR (Figure 3). However, TEL and RAM failed to normalize the tangential elastic modulus versus stress (Table 2).

Arteriolar dilatation and lower limit of cerebral blood flow autoregulation.

Baseline as well as maximal active (hypotension) internal diameters were significantly reduced in SHR (Table 1). TEL or RAM increased IDs to levels similar to those of WKY (Table 1).

The LLCBF increased in SHR. TEL or RAM decreased LLCBF (Table 1). The security margin was similar in SHR, WKY and SHR-TEL and tended to decrease in SHR-RAM (Table 1).

DISCUSSION

In this paper, blockade of the RAAS of a rat model (SHR) of primary human hypertension with an ARB or an ACEI reversed hypertension-induced inward remodeling of cerebral arterioles, improved arteriolar dilatation and shifted LLCBF back to normal. As shown by the remodeling indices, the effects of the drugs on cerebral arteriolar structure were mainly due to their action on eutrophic inward remodeling.

In general, the present report and other studies [5, 6] show that antihypertensive treatment with RAAS blockade reverses eutrophic inward remodeling whereas treatment with antihypertensive agents which do not act on the RAAS, i.e. hydralazine [5], indapamide [12], propranolol [6] or bosentan [13], does not. This study goes one step further by suggesting that the AT_1 receptor is the underlying mechanism behind hypertensive eutrophic inward remodeling.

We cannot rule out that in TEL-treated SHR AT_2 receptors play a role in the attenuation of eutrophic inward remodeling. It is possible that following blockade of AT_1 receptors, activation of AT_2 receptors - the “beneficial” receptors [14] - is enhanced. However, a corollary of this hypothesis is that AT_2 activation would be enhanced by TEL but diminished by RAM and thus a difference in their effects on remodeling is to be expected. This was not observed. Furthermore, the implication of AT_1 receptors as the central underlying mechanism promoting eutrophic inward remodeling may be somewhat reinforced by the finding that cerebrovascular AT_1 expression is increased in SHR [15].

Although inhibition of the RAAS with TEL or RAM counteracted hypertension-induced arteriolar wall hypertrophy, this had little effect on internal diameter. This may be linked to the rat model used. Hypertrophic inward remodeling is of major importance in some rat models of severe hypertension (DOCA-salt) but not in rat models of mild hypertension such as [16]. The relevance of this to the clinical situation is important as eutrophic inward remodeling predominates in small arterioles in human hypertension, at least in its milder form [17].

Although TEL and RAM normalized wall stress, they did not fully normalize wall stiffness. The fall in wall stiffness in SHR may be a compensatory reaction increasing dilator capacity and so blunting the impact of the reduction of internal diameter on the shift in the

LLCBF [18]. The fact that treatment normalizes wall stress but not wall stiffness suggests that the latter is dependent on wall composition and not only on wall geometry. It has been suggested that wall stiffness falls in chronic hypertension following a relative decrease in "stiff" (collagen and basement membrane) wall components [1, 10, 19-21]. Apparently this process is not fully reversed by RAAS blockade in SHR in contrast to what was previously reported in SHRSP [5, 6].

We cannot rule out that angiotensin II remodels the cerebral arteriole, at least partially, via an indirect action. Angiotensin II has a sympathoexcitatory action which is blocked by ACEI treatment [22]. However, although sympathetic tone contributes to hypertrophic inward remodeling, this is less likely to be the case for eutrophic inward remodeling [20]. Similarly, it has been reported that hypertrophic inward remodeling and increases in cerebral arteriolar pulse pressure are closely related [21, 23]. Thus, the normalization of CSA following RAAS inhibition may be partially linked to the decrease in pial arteriolar pulse pressure.

The parallel increase in systemic pressure and the LLCBF in hypertension is of clinical importance: as both increase, the security margin is maintained. During the treatment-induced fall in systemic pressure, it is essential that the LLCBF falls to a similar degree. This is the case with TEL, but with RAM the security margin tends to fall. We have previously observed a similar phenomenon with another ACEI (perindopril) [24]. This crucial points merits further investigation.

In conclusion, AT_1 receptors are the underlying mechanism in the development of cerebral arteriolar eutrophic inward remodeling during chronic hypertension in SHR. The molecular mechanism is at present unknown but may be linked to the differential activation of growth signaling related protein kinases in SHR compared to WKY [25].

As treatment with the ARB, TEL, lowers pressure, attenuates eutrophic inward remodeling and simultaneously restores cerebral vasodilator capacity to prehypertensive levels, it should prevent cerebral hypoperfusion. This suggests that ARBs represent safe antihypertensive drugs for the cerebral circulation.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was funded by grants from Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co. KG (Ingelheim, Germany), the French Ministry of Education, Research and Technology (EA3448, Paris, France), the Lorraine Regional Development Committee (Metz, France), the Greater Nancy Urban Council (Nancy, France), Henri Poincaré University (Nancy, France) and the Pharmacolor Association (Nancy, France).

REFERENCES

1. Baumbach GL, Hajdu MA. Mechanics and composition of cerebral arterioles in renal and spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 1993; **21**:816-826.

2. Baumbach GL, Heistad DD. Remodeling of cerebral arterioles in chronic hypertension. *Hypertension* 1989; **13**:968-972.

3. Chillon JM, Baumbach GL. Effects of an angiotensin-converting enzyme inhibitors and a ß-blocker on cerebral arteriolar dilatation in hypertensive rats. *Hypertension* 2001; **37**:1388-1393.

4. Strandgaard S, Olesen J, Skinhoj E, Lassen NA. Autoregulation of brain circulation in severe arterial hypertension. *Br Med J* 1973; **1**:507-510.

5. Hajdu MA, Heistad DD, Baumbach GL. Effects of antihypertensive therapy on mechanics of cerebral arterioles in rats. *Hypertension* 1991; **17**:308-316.

6. Chillon JM, Baumbach GL. Effects of an angiotensin-converting enzyme inhibitor and a ß-blocker on cerebral arterioles in rats. *Hypertension* 1999; **33**:856-861.

7. Fournier A, Achard JM, Boutitie F, Mazouz H, Mansour J, Oprisiu R, Fernandez L, Messerli F. Is the Angiotensin II Type 2 Receptor Cerebroprotective? *Curr Hypertens Rep* 2004; **6**:182-189.

8. Dupuis F, Régrigny O, Atkinson J, Liminana P, Delagrange P, Scalbert E, Chillon JM. Impact of treatment with melatonin on cerebral circulation in old rats. *Br J Pharmacol* 2004; **141**:399-406.

9. Fujii K, Heistad DD, Faraci FM. Role of the basilar artery in the regulation of blood flow to the brain stem in rats. *Stroke* 1991; **22**:763-767.

10. Baumbach GL, Dobrin PB, Hart MN, Heistad DD. Mechanics of cerebral arterioles in hypertensive rats. *Circ Res* 1988; **62**:56-64.

11. Lartaud I, Bray-des-Boscs L, Chillon JM, Atkinson J, Capdeville-Atkinson C. In vivo cerebrovascular reactivity in Wistar and Fischer 344 rat strains during aging. *Am J Physiol* 1993; **264**:H851-H858.

12. Chillon JM, Baumbach GL. Effects of indapamide, a thiazide-like diuretic, on structure of cerebral arterioles in hypertensive rats. *Hypertension* 2004; **43**:1092-1097.

13. Chillon JM, Heistad DD, Baumbach GL. Effects of endothelin receptor inhibition on cerebral arterioles in hypertensive rats. *Hypertension* 1996; **27**:794-798.

14. van Zwieten PA. The role of angiotensin II receptors and their antagonists in hypertension. *Ann Ital Med Int* 2000; **15**:85-91.

15. Ando H, Zhou J, Macova M, Imboden H, Saavedra JM. Angiotensin II AT1 receptor blockade reverses pathological hypertrophy and inflammation in brain microvessels of spontaneously hypertensive rats. *Stroke* 2004; **35**:1726-1731.

16. Intengan HD, Schiffrin EL. Structure and mechanical properties of resistance arteries in hypertension: role of adhesion molecules and extracellular matrix determinants. *Hypertension* 2000; **36**:312-318.

17. Schiffrin EL. Effect of antihypertensive treatment on small artery remodeling in hypertension. *Can J Physiol Pharmacol* 2003; **81**:168-176.

18. Chillon JM, Baumbach GL. Autoregulation: arterial and intracranial pressure. In: Edvinsson L, Krause DN (Edvinsson L, Krause DNs): *Cerebral Blood Flow and Metabolism, Second Edition*. New York: Lippincott Williams & Wilkins; 2002, pp. 395-412.

19. Baumbach GL, Walmsley JG, Hart MN. Composition and mechanics of cerebral arterioles in hypertensive rats. *Am J Pathol* 1988; **133**:464-471.

20. Baumbach GL, Heistad DD, Siems JE. Effect of sympathetic nerves on composition and distensibility of cerebral arterioles in rats. *J Physiol (Lond)* 1989; **416**:123-140.

21. Baumbach GL, Siems JE, Heistad DD. Effects of local reduction in pressure on distensibility and composition of cerebral arterioles. *Circ Res* 1991; **68**:338-351.

22. Atkinson J, Sonnay M, Sautel M, Fouda AK. Chronic treatment of the spontaneously hypertensive rat with captopril attenuates responses to noradrenaline in vivo but not in vitro. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1987; **335**:624-628.

23. Baumbach GL. Effects of increased pulse pressure on cerebral arterioles. *Hypertension* 1996; **27**:159-167.

24. Lartaud I, Makki T, Bray-des Boscs L, Niederhoffer N, Atkinson J, Corman B, Capdeville-Atkinson C. Effect of chronic ANG I-converting enzyme inhibition on aging processes. IV. Cerebral blood flow autoregulation. *Am J Physiol* 1994; **267**:R687-R694.

25. Touyz RM, He G, El Mabrouk M, Diep QN, Mardigyan V, Schiffrin EL. Differential activation of extracellular signal-regulated protein kinase 1/2 and p38 mitogen activated-protein kinase by AT1 receptors in vascular smooth muscle cells from Wistar-Kyoto rats and spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 2001; **19**:553-559.

Table 1: Baseline values in WKY, SHR and SHR treated with telmisartan (SHR-TEL) or ramipril (SHR-RAM).

Parameters	WKY	SHR	SHR-TEL	SHR-RAM
N	16	14	21	15
Body weight	392±11	373±8	361±5*	380±9
Systemic arterial pressure (mmHg)				
Systolic	127±3	202±3*	137±2*†	135±3*†
Diastolic	84±2	148±2*	98±2*†	96±3*†
Mean	100±2	172±3*	113±2*†	112±3*†
Pulse	42±2	53±2*	39±1†	39±1†
Cerebral arteriolar pressure (mmHg)				
Systolic	52±2	72±4*	48±3†	51±2†
Diastolic	38±1	54±3*	36±2†	39±2†
Mean	45±2	63±3*	42±2†	45±2†
Pulse	13±1	17±2	11±1†	12±1†
LLCBF (mmHg)	57±5	80±11	60±4	71±6
Security margin (%)	43±5	53±6	47±4	36±5
Cerebral arterioles before deactivation				
Baseline ID (µm)	58±4	38±3*	52±2†	50±2
Hypotension ID (µm)	75±4	53±3*	72±3†	69±3†

LLCBF : lower limit of cerebral blood flow autoregulation. Measurements of baseline internal diameter (ID) were obtained at prevailing non-hypotensive levels of arterial pressure. Hypotension ID: maximal values of internal diameter observed during the hypotensive hemorrhage prior to arteriolar deactivation. Values are means ± SEM in untreated WKY and SHR that were untreated or treated for 3 months with the angiotensin II receptor (AT1) blocker, telmisartan in the drinking water (SHR-TEL, 1.93 ± 0.04 $mg.kg^{-1}.day^{-1}$) or with the angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitor ramipril in the drinking water (SHR-RAM, 1.00 ± 0.02 $mg.kg^{-1}.day^{-1}$). * $P \leq 0.05$ vs. WKY. † $P \leq 0.05$ vs. untreated SHR.

Table 2: Structural and mechanical parameters of cerebral arterioles in WKY, SHR and SHR treated with telmisartan (SHR-TEL) or ramipril (SHR-RAM).

Parameters	WKY	SHR	SHR-TEL	SHR-RAM
N	16	14	21	15
Cerebral arterioles after deactivation				
CSA (µm²)	414±17	575±19*	369±11†	401±14†
WT (µm)	1.30±0.05	2.23±0.06*	1.25±0.04†	1.33±0.04†
WT/ID (x 10^{-3})	13±1	28±1*	14±1†	14±1†
EDTA ID (µm)	101±5	80±3*	95±3	95±4
Wall stress (10^5 N.m^{-2})	1.71±0.13	0.78±0,04*	1.69±0.11†	1.56±0.09†
E_T *vs.* stress	5.3±0.6	3.5±0.4*	3.8±0.2	3.7±0.3

Values of wall thickness (WT), wall thickness to lumen ratio (WT/ID) and wall stress were calculated after deactivation of smooth muscle cells (EDTA) from measurements of ID at 30-34 mmHg and histological measurement of cross-sectionnal area (CSA) of the vessel wall. Remodeling and hypertrophic indices were calculated as previously described [2]. ET vs. stress, slope of tangential elastic modulus versus stress. Values are means ± SEM. * P ≤ 0.05 vs. WKY. † P ≤ 0.05 vs. untreated SHR.

NA: not applicable.

LEGEND OF FIGURES

Figure 1: Representative examples of pictures of deactivated (EDTA) cerebral arterioles in WKY (top left) and SHR that were untreated (top right) or treated with the ARB, telmisartan (SHR-TEL, bottom left) or the ACEI, ramipril (SHR-RAM, bottom right), at an arteriolar mean pressure of 30-35 mmHg. The width of the red blood cell column was used as an evaluation of internal diameter (ID).

A: arteriole; V: vein; P: micropipette.

Figure 2: Effect of chronic treatment with the ARB, telmisartan (SHR-TEL, 1.93 ± 0.04 $mg.kg^{-1}.day^{-1}$, n = 21) and the ACEI, ramipril (SHR-RAM, 1.00 ± 0.02 $mg.kg^{-1}.day^{-1}$, n = 15) on external diameter (ED)-mean arteriolar pressure relationships in SHR compared to untreated SHR (n = 16) and untreated WKY (n = 16). ED was calculated from values for ID for each pressure step and CSA. Values are means ± SEM.

*: $P \leq 0.05$ vs. WKY. †: $P \leq 0.05$ vs. untreated SHR.

Figure 3: Effect of chronic treatment with the ARB, telmisartan (SHR-TEL) and the ACEI, ramipril (SHR-RAM) on arteriolar stress-strain relationships in deactivated cerebral arterioles (EDTA) of SHR compared to untreated SHR (n = 16) and untreated WKY (n = 16). Values are means ± SEM.

ID, internal diameter; ID_o, internal diameter at the lowest pressure step (5-9 mmHg).

Figure 1:

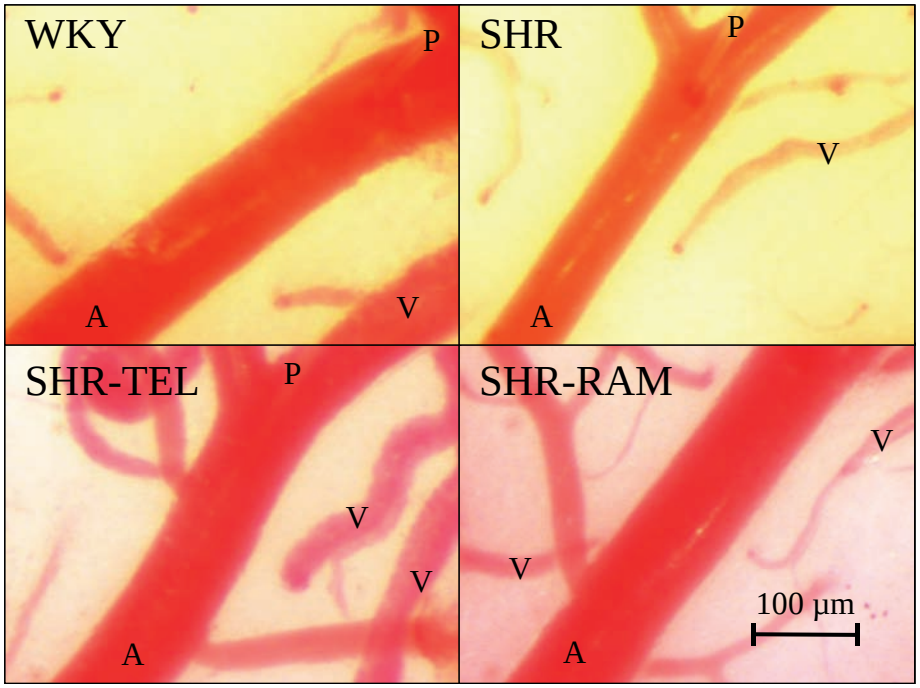


Figure 2:

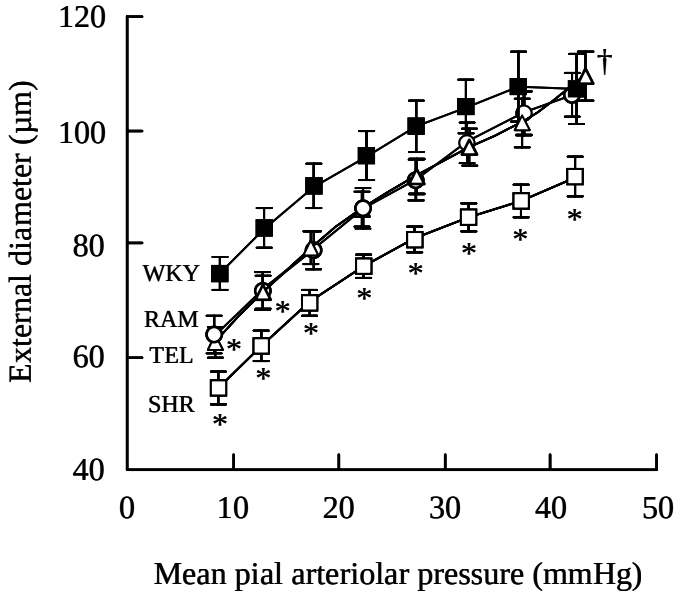
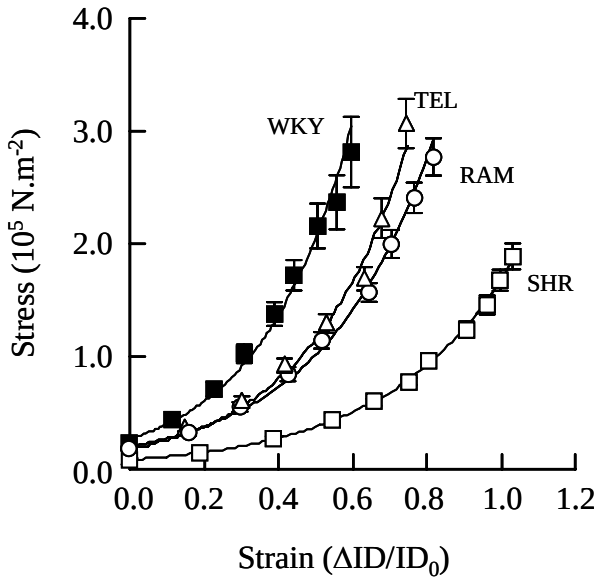

120
100
80
60
40
External diameter (µm)
0
10
20
30
40
50
Mean pial arteriolar pressure (mmHg)
WKY
RAM
TEL
SHR
*
†

Figure 3:


4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
Stress (10^5 N.m^{-2})
WKY
TEL
RAM
SHR
0.0
0.2
0.4
0.6
0.8
1.0
1.2
Strain ($\Delta ID/ID_0$)

3. Résumé des résultats

Nous avons montré dans cette étude qu'un traitement par un antagoniste des récepteurs AT_1, le telmisartan, a rigoureusement le même impact qu'un traitement par un IEC, le ramipril, sur les remodelages hypertrophique et eutrophique centripètes ainsi que sur la distensibilité pariétale des artérioles cérébrales de rats SHR. L'effet de ces deux traitements sur le diamètre interne des artérioles cérébrales est encore une fois principalement dû à l'atténuation du remodelage eutrophique centripète (88 % de l'augmentation du diamètre interne est due à l'atténuation du remodelage eutrophique chez les SHR traités par le telmisartan et 91 % chez les SHR traités par le ramipril). Ces deux traitements ont également induit une diminution similaire de la limite basse de l'autorégulation du DSC.

Ces résultats nous permettent d'affirmer que ces effets bénéfiques des IEC sont bien liés au seul blocage du système rénine angiotensine aldostérone et non à une stimulation d'autres systèmes (comme le système bradykinine) auquel cas le traitement par IEC aurait dû montré une efficacité plus importante que le traitement par l'antagoniste AT_1. De plus, ces résultats nous permettent de conclure que le mécanisme par lequel le système rénine angiotensine aldostérone intervient dans le remodelage eutrophique centripète passe par une stimulation des récepteurs AT_1 et ne semble pas lié aux récepteurs AT_2. En effet, un traitement par un antagoniste des récepteurs AT_1 induit une augmentation importante des taux plasmatiques d'angiotensine II, ce qui peut conduire à une augmentation de la stimulation des récepteurs AT_2 (Mazzolai, *et al.*, 1999). Donc, si les récepteurs AT_2 jouaient un rôle quelconque dans le développement du remodelage eutrophique centripète, les effets du traitement par l'antagoniste AT_1 auraient dus être différents des effets du traitement par l'IEC, ce dernier diminuant les taux plasmatiques d'angiotensine II et donc la stimulation des récepteurs AT_1 et AT_2.

Cette étude nous a donc permis de montrer que les récepteurs AT_1 sont impliqués dans le développement du remodelage eutrophique centripète, et que l'administration chronique d'un antagoniste des récepteurs AT_1 permet d'atténuer ce remodelage eutrophique et de restaurer la limite basse de l'autorégulation du DSC.

III. ROLE DE L'ALDOSTERONE

1. Objectif

Dans l'étude précédente, nous avons démontré qu'un traitement par un antagoniste des récepteurs AT_1 de l'angiotensine II présente la même efficacité qu'un IEC pour améliorer les caractéristiques structurales, mécaniques et fonctionnelles des artérioles cérébrales chez les rats SHR, suggérant l'implication de ces récepteurs AT_1 dans le développement du remodelage eutrophique centripète.

Les antagonistes des récepteurs AT_1 pourraient donc prévenir ce remodelage eutrophique centripète par un effet direct sur les cellules de la paroi des artérioles cérébrales. Ils pourraient par exemple empêcher l'activation des voies de signalisation intracellulaire susceptibles de conduire à l'hypertrophie, à l'apoptose, à la migration cellulaire, à l'inflammation ou à des modifications de la matrice extracellulaire. Nous avons vu en effet que l'angiotensine II, *via* ses récepteurs AT_1 est susceptible d'activer de telles voies, potentiellement à l'origine du remodelage eutrophique centripète (cf. PARTIE 1 : I. 2.1.1. et PARTIE 1 : III. 3.2.1.). Cependant, l'effet de ces antagonistes des récepteurs AT_1 sur les artérioles cérébrales pourrait également passer par un mécanisme indirect, notamment par la diminution de la sécrétion d'aldostérone qu'ils induisent. Or, nous avons vu que cette dernière hormone était, à l'instar de l'action de l'angiotensine II sur les récepteurs AT_1, susceptible de participer aux différents mécanismes potentiels de développement du remodelage eutrophique centripète (cf. PARTIE 1 : III. 3.2.1.). Dans la troisième étude de ce travail de thèse, nous nous sommes donc intéressés au rôle que pouvait jouer l'aldostérone dans le développement du remodelage eutrophique centripète et dans les altérations de l'autorégulation du DSC au cours de l'hypertension artérielle chronique.

L'objectif de cette troisième étude était donc de comparer les effets d'un traitement par IEC à ceux d'un traitement par un antagoniste des récepteurs minéralocorticoïdes de l'aldostérone sur les caractéristiques structurales, mécaniques et fonctionnelles des artérioles cérébrales chez le rat SHR. Afin de mieux préciser le rôle de la diminution de la sécrétion d'aldostérone sur les effets bénéfiques des IEC, nous avons également prévu dans cette

expérience un traitement combinant une administration d'IEC à une administration d'aldostérone.

2. Manuscrit

SPIRONOLACTONE REVERSES CEREBRAL ARTERIOLAR REMODELING IN SHR IN A PRESSURE-INDEPENDENT MANNER.

En préparation

François Dupuis, Jeffrey Atkinson, Patrick Limiñana & Jean-Marc Chillon

Cardiovascular Research Group, EA 3448,
Faculté de Pharmacie de l'Université Henri Poincaré-Nancy I,
5 rue Albert Lebrun,
54000 Nancy, France.

Author for correspondance : Jeffrey Atkinson, Cardiovascular Research Group, EA 3448, Faculté de Pharmacie de l'Université Henri Poincaré-Nancy I, 5 rue Albert Lebrun, 54000 Nancy, France. Telephone (33) 3-83-68-22-62, Fax (33) 3-83-68-22-66

Email : Jeffrey.Atkinson@pharma.uhp-nancy.fr

Short title : Spironolactone and cerebral circulation

SUMMARY

In order to investigate the role of aldosterone in cerebrovascular remodeling induced by blockade of the renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS), we compared the effects of 3 months'chronic treatment of adult SHR with the aldosterone antagonist, spironolactone (30 mg/kg per day, po), to those of the angiotensin converting enzyme inhibitor (ACEI), moexipril (11.2±0.2 mg/kg per day, po). We also examined the effects of a combination of aldosterone (subcutaneous pellets, 89±1 µg/kg per day) and moexipril (12.0±0.2 mg/kg per day, po). Both RAAS inhibitors increased baseline arteriolar diameter and hypotension-induced active dilatation. Moexipril normalized femoral arterial and cerebral arteriolar mean and pulse pressures as well as the lower limit of cerebral blood flow (CBF) autoregulation whereas spironolactone had no significant effect. Moexipril normalized the hypertension-induced increase in wall cross-sectional area (CSA) and eutrophic inward remodeling (decrease in external diameter) and increased arteriolar wall stiffness; spironolactone had no effect on CSA but reversed eutrophic inward remodeling and increased arteriolar wall stiffness. Aldosterone attenuated the effects of moexipril on cerebrovascular structure and dilatation. In conclusion, spironolactone produces arteriolar dilatation in the absence of any significant effect on blood pressure or arteriolar wall thickness.

***Key Words*:** hypertension, aldosterone,vascular remodeling, security margin, lower limit of cerebral blood flow autoregulation.

INTRODUCTION

Hypertension induces a decrease in cerebral microvascular diameter by eutrophic and hypertrophic inward remodeling.[1] This is a compensatory mechanism which maintains cerebral blood flow (CBF) constant but at the price of a shift of the lower limit of CBF autoregulation (LLCBF) to a higher systemic mean pressure level. As in chronic hypertension both systemic mean pressure and the LLCBF increase, the security margin, which indicates the degree to which mean arterial pressure may fall before CBF starts to decrease,[2] remains the same. If blood pressure is lowered by antihypertensive treatment and the cerebrovascular network does not adapt by reverse remodeling, then there will exist an increased risk of cerebral hypoperfusion and, possibly, ischemia.[3] Drugs that block the renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS) produce parallel shifts in blood pressure and arteriolar wall remodeling[4,5] and thus restore CBF autoregulation and maintain CBF security margin in spite of the fall in pressure.[5] As angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitors and angiotensin II receptors (AT_1) antagonists produce similar effects,[6] it appears that blockade of the direct or indirect (*via* aldosterone) vascular effects of AT_1 receptor activation is involved. In this paper, we examine the involvement of aldosterone by comparing the effects on the cerebral microvasculature of an aldosterone receptor antagonist (spironolactone) with those of an ACE inhibitor (moexipril) in a rat model (the spontaneously hypertensive rat, SHR) of human essential hypertension. These experiments constitute preclinical evaluation of the concept that aldosterone antagonism may have beneficial vascular effects[7] especially at the cerebrovascular level.[8]

METHODS

Animals and operative procedures.

The experiments were conducted on 6 month-old male normotensive Wistar Kyoto (WKY) and SHR (Iffa-Credo, l'Arbresle, France). WKY (WKY, n = 13) served as normotensive control. At 3 months of age, SHR were divided into 4 groups: untreated controls (SHR, n = 15), aldosterone antagonist spironolactone (SHR+Spiro, n = 11, 30 $mg.kg^{-1}.day^{-1}$, daily gavage), ACE inhibitor, moexipril (SHR+Moex, n = 10, 11.2±0.2 $mg.kg^{-1}.day^{-1}$, drinking water) and a combination of moexipril and aldosterone (subcutaneous sustained time-release pellets, 90-day release, 2,5 mg, Innovative Research of America, Sarasota, USA) (SHR+Moex+Aldo, n = 12, 12.0±0.2 $mg.kg^{-1}.day^{-1}$ and 89±1 $\mu g.kg^{-1}.day^{-1}$, respectively).

After 3 months' treatment, we evaluated CBF autoregulation and the structure and function of cerebral arterioles as previously described.[9] Experiments were performed in accordance with the guidelines of the French Ministry of Agriculture, Paris, France (permits 54-4 and 03575).

Measurement of cerebral arteriolar pressure and diameter, and of cerebral blood flow.

We measured arteriolar pressure and internal diameter (ID) of first order pial arterioles (40-60 µm internal diameter) using an open skull preparation as previously described.[9] Cerebral arteriolar pressure was measured with a micropipette (diameter 3-5 µm) connected to a servo-null pressure-measuring device (model 5A, Vista Electronics Company, Ramona, California). ID was measured with a microscope (Stemi 200-C, Carl Zeiss Jena GMBH, Jena, Germany) connected to a video system (600x) using image analysis software (Saisam®, Microvision Instruments, Evry, France). CBF (arbitrary units, a.u.) was measured by laser Doppler flowmetry (BLF 21, Transonic Systems Inc., Ithaca, NY, USA) with a 1.2 mm diameter needle probe.[10]

Experimental protocol.

Thirty minutes after completion of surgery, baseline cerebral arteriolar pressure, ID and CBF were measured. To determine the LLCBF, stepwise hypotension (10 mmHg per step to a systemic mean arterial pressure of 20-30 mmHg) was induced by controlled withdrawal

of blood. One minute after each stepwise fall in blood pressure, systemic and cerebral arteriolar pressures, ID and CBF were measured. After the final pressure step, blood was re-injected to restore blood pressure.

Wall stiffness was evaluated from the arteriolar pressure-ID relationship obtained in deactivated (EDTA 67 mM[11]) cerebral arterioles between mean arteriolar pressures of 45 and 5 mmHg, using hemorrhage to reduce pressure in steps of 5 mmHg. After the final pressure step, blood was again reinfused to restore arteriolar pressure to control levels. Arterioles were fixed by suffusion with glutaraldehyde (2.25% v/v in 0.10 $mol.L^{-1}$ cacodylate buffer) as previously described.[9] Animals were sacrificed with sodium pentobarbital (250 $mg.kg^{-1}$, *i.v.*) and the arteriolar segment dissected out. The cross-sectional area (CSA) of the wall was measured in 7 µm sections using an image analyzing system.[9]

Calculations.

The LLCBF, defined as the value of mean arterial pressure below which CBF significantly falls upon further reduction in pressure, was determined individually by a best fit method for 2 independent linear regression slopes relating CBF to systemic mean pressure as previously described.[9]

In fully relaxed cerebral arterioles (EDTA), arteriolar external diameter (ED), circumferential stress (σ), circumferential strain (ε), wall thickness (WT), wall thickness to lumen ratio (WT/ID), eutrophic and hypertrophic inward remodeling indices were calculated as previously described.[9]

Substances used.

Moexipril was provided by Schwarz Pharma AG (Monheim, Germany). Aldosterone pellets were purchased from Innovative Research of America (Sarasota, FL, USA). Glutaraldehyde, cacodylate and spironolactone were purchased from Sigma Chemical Company (St Louis, MO, USA) and sodium pentobarbital from Sanofi-Aventis (Libourne, France).

Statistical analysis.

Results are expressed as means ± s.e.mean. The experimental protocol was designed for the use of a one-way ANOVA for the variable "group" (WKY, SHR, SHR+Spiro,

SHR+Moex, SHR+Moex+Aldo). Significant differences between means were determined using the Bonferroni test and the null hypothesis was rejected at a probability level of $P \leq 0.05$.

RESULTS

Pressures.

Mean and pulse arterial and arteriolar pressures were significantly greater in untreated SHR than in WKY (Table 1). Treatment with moexipril normalized pressures whereas spironolactone had no statistically significant effect (Table 1). Aldosterone had no significant effect on the decrease in pressure induced by moexipril (Table 1).

Arteriolar structure (EDTA deactivated).

CSA, WT and WT/ID increased in SHR compared to WKY (Table 2). ID (Table 2) and ED (Figure 1) measured after deactivation with EDTA were significantly smaller in SHR compared to WKY. Eutrophic and hypertrophic inward remodeling indices (calculated *versus* untreated WKY) were 96 and 2%, respectively.

Moexipril normalized CSA, WT, and WT/ID (Table 2) and increased ID and ED. Aldosterone attenuated the effects of moexipril on WT, WT/ID, ID and ED. Spironolactone had no effect on CSA and WT (Table 2) but normalized ID and ED.

Arteriolar mechanics.

The stress-strain curve of deactivated arterioles was shifted to the right in SHR compared to WKY (Figure 2). Treatment of SHR with moexipril or spironolactone shifted the stress-strain curve to the left. Aldosterone abolished the effect of moexipril on the stress-strain curve.

Active arteriolar dilatation and the lower limit of cerebral blood flow autoregulation.

Baseline ID (Table 1) as well as active IDs measured during hypotension (Figure 3) were significantly reduced in SHR. Moexipril and spironolactone increased baseline ID and active IDs measured during hypotension. Aldosterone prevented effects of moexipril on baseline ID and active IDs measured during hypotension.

The LLCBF increased in SHR (Figure 4). Moexipril normalized LLCBF whereas spironolactone had no significant effect (Figure 4). Aldosterone attenuated the effect of moexipril on LLCBF.

DISCUSSION

There are several new findings in this study. Spironolactone fully prevents, in a pressure independent manner, eutrophic inward remodeling in SHR. Furthermore, aldosterone attenuated the reduction in eutrophic inward remodeling in moexipril-treated SHR, again independently of any change in pressure. Spironolactone had no effect on CSA whereas moexipril normalized CSA (and pial arteriolar pressure). Spironolactone normalized maximal active arteriolar dilatation and increased wall stiffness.

Eutrophic inward remodeling is prevented by spironolactone and aldosterone attenuates the reduction in eutrophic inward remodeling induced by moexipril treatment. The RAAS is a major factor in the development of eutrophic inward remodeling during chronic hypertension. ACE inhibitors attenuate eutrophic inward remodeling in SHR[5] and SHRSP[4,12] as does the angiotensin receptor (AT_1) blocker, telmisartan,[6] indicating that the AT_1 receptor is involved. This study shows that the AT_1 receptor contributes to eutrophic inward remodeling *via* the release of aldosterone. Aldosterone could participate in the development of cerebral arteriolar remodeling during hypertension by induction of apoptosis[13] or inflammation[14], mechanisms involved in the development of eutrophic inward remodeling.[15] It should be noted that here, as in other reports,[4,12,16] the effects of the RAAS on eutrophic inward remodeling are independent of changes in blood pressure.

However vascular wall mass (CSA) is related to pial arteriolar pulse pressure[16,17] and antihypertensive treatment reverses hypertrophic inward remodeling *via* a decrease in pial arteriolar pulse pressure.[4,12] Thus, in the present report, the prevention of hypertrophic inward remodeling by the ACE inhibitor, moexipril, can be explained by the reduction in pial arteriolar pulse pressure. Furthermore, the aldosterone antagonist, spironolactone, which had no effect on pial arteriolar pulse pressure, did not reduce hypertrophic inward remodeling.

The ACE inhibitor, moexipril, and the aldosterone receptor blocker, spironolactone, were equally effective in attenuating the increase in passive distensibility in SHR. Furthermore, the effect of moexipril on passive distensibility is related to a decrease in aldosterone release as aldosterone attenuated the shift in the stress-strain curve induced by moexipril. This is paradoxical as wall stiffness falls in chronic hypertension following a reduction in the proportion of “stiff” (collagen and basement membrane) to compliant (smooth muscle, elastin and endothelium) components of the arteriolar wall in cerebral

arterioles,[11,16,18-20] and spironolactone prevents arterial fibrosis.[21] Albeit spironolactone may be "antifibrotic" in cerebral arterioles producing an increase in diameter and thus in wall stress and stiffness.[22] Another possibility is that changes in wall stiffness may reflect changes in the spatial organization of wall material.[23]

Spironolactone improved active dilatation induced by hypotension in SHR and this is related to its effect on eutrophic inward remodeling. We and others have previously proposed that eutrophic, but not hypertrophic, inward remodeling is the main contributor to impairment of maximal dilator capacity in hypertensive rats such as SHR and SHRSP.[1,24,25] Furthermore, aldosterone administration blocked the attenuation of eutrophic inward remodeling and the improvement of the active dilatation observed in SHR treated with moexipril. Thus, once again, the effects of the RAAS on arteriolar diameter are linked to aldosterone. However, despite increasing active arteriolar dilatation, spironolactone did not decrease the lower limit of CBF autoregulation. This may be due to the lack of effect on hypertrophic inward remodeling. It may also be due to the fact that cerebral arterioles examined in this study are not the only contributors in the setting of the lower limit of CBF autoregulation. Other cerebral vessels (intra and extra-cranial) also participate.[26]

CONCLUSION

This study suggests that the effects of ACE inhibitors or angiotensin II receptors (AT_1) antagonists on cerebral arteriolar diameter and wall stiffness are related to a decrease in the release of aldosterone whereas their effects on wall mass are related to pressure and are independent of aldosterone.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was funded by grants from the French Ministry of Education, Research and Technology (EA3448, Paris, France), the Lorraine Regional Development Committee (Metz, France), the Greater Nancy Urban Council (Nancy, France), Henri Poincaré University (Nancy, France) and the Pharmacolor Association (Nancy, France).

REFERENCES

1. Baumbach GL, Heistad DD. Remodeling of cerebral arterioles in chronic hypertension. Hypertension. 1989;13:968-972.

2. Lartaud I, Bray-des-Boscs L, Chillon JM, Atkinson J, Capdeville-Atkinson C. In vivo cerebrovascular reactivity in Wistar and Fischer 344 rat strains during aging. American Journal of Physiology. 1993;264:H851-H858.

3. Atkinson J. Cerebrovascular structure and dementia: new drug targets. Trends in Pharmacological Science. 2001;22:630-635.

4. Chillon JM, Baumbach GL. Effects of an angiotensin-converting enzyme inhibitor and a ß-blocker on cerebral arterioles in rats. Hypertension. 1999;33:856-861.

5. Dupuis F, Atkinson J, Liminana P, Chillon JM. Captopril improves cerebrovascular structure and function in old hypertensive rats. British Journal of Pharmacology. 2005;144:349-356.

6. Dupuis F, Atkinson J, Liminana P, Chillon JM. Comparative effects of the angiotensin II receptor blocker, telmisartan, and the angiotensin converting enzyme inhibitor, ramipril, on cerebrovascular structure in SHR. Journal of Hypertension. 2005;23:1061-1066.

7. Rocha R, Stier CT. Pathophysiological effects of aldosterone in cardiovascular tissues. Trends in Endocrinolgy & Metabolism. 2001;12:308-314.

8. Bravo EL. Aldosterone and specific aldosterone receptor antagonists in hypertension and cardiovascular disease. Current Hypertension Report. 2003;5:122-125.

9. Dupuis F, Régrigny O, Atkinson J, Liminana P, Delagrange P, Scalbert E, Chillon JM. Impact of treatment with melatonin on cerebral circulation in old rats. British Journal of Pharmacology. 2004;141:399-406.

10. Fujii K, Heistad DD, Faraci FM. Role of the basilar artery in the regulation of blood flow to the brain stem in rats. Stroke. 1991;22:763-767.

11. Baumbach GL, Dobrin PB, Hart MN, Heistad DD. Mechanics of cerebral arterioles in hypertensive rats. Circulation Research. 1988;62:56-64.

12. Hajdu MA, Heistad DD, Baumbach GL. Effects of antihypertensive therapy on mechanics of cerebral arterioles in rats. Hypertension. 1991;17:308-316.

13. Mano A, Tatsumi T, Shiraishi J, Keira N, Nomura T, Takeda M, Nishikawa S, Yamanaka S, Matoba S, Kobara M, Tanaka H, Shirayama T, Takamatsu T, Nozawa Y, Matsubara H. Aldosterone directly induces myocyte apoptosis through calcineurin-dependent pathways. Circulation. 2004;110:317-323.

14. Rocha R, Rudolph AE, Frierdich GE, Nachowiak DA, Kebec BK, Blomme EA, McMahon EG, Delyani JA. Aldosterone induces a vascular inflammatory phenotype in the rat heart. American Journal of Physiology Heart Circulation Physiology. 2002;283:H1802-H1810.

15. Intengan HD, Schiffrin EL. Vascular remodeling in hypertension: roles of apoptosis, inflammation, and fibrosis. Hypertension. 2001;38:581-587.

16. Baumbach GL, Siems JE, Heistad DD. Effects of local reduction in pressure on distensibility and composition of cerebral arterioles. Circulation Research. 1991;68:338-351.

17. Baumbach GL. Effects of increased pulse pressure on cerebral arterioles. Hypertension. 1996;27:159-167.

18. Baumbach GL, Hajdu MA. Mechanics and composition of cerebral arterioles in renal and spontaneously hypertensive rats. Hypertension. 1993;21:816-826.

19. Baumbach GL, Walmsley JG, Hart MN. Composition and mechanics of cerebral arterioles in hypertensive rats. American Journal of Pathology. 1988;133:464-471.

20. Baumbach GL, Heistad DD, Siems JE. Effect of sympathetic nerves on composition and distensibility of cerebral arterioles in rats. Journal of Physiology. 1989;416:123-140.

21. Benetos A, Lacolley P, Safar ME. Prevention of aortic fibrosis by spironolactone in spontaneously hypertensive rats. Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology. 1997;17:1152-1156.

22. Dobrin PB, Baker WH, Gley WC. Elastolytic and collagenolytic studies of arteries. Implications for the mechanical properties of aneurysms. Archives Surgery. 1984;119:405-409.

23. Laurent S, Boutouyrie P, Lacolley P. Structural and Genetic Bases of Arterial Stiffness. Hypertension. 2005;April 25, 2005, 10.1161/01.HYP.0000164580.39991.3d.

24. Chillon JM, Baumbach GL. Effects of an angiotensin-converting enzyme inhibitors and a ß-blocker on cerebral arteriolar dilatation in hypertensive rats. Hypertension. 2001;37:1388-1393.

25. Chillon JM, Baumbach GL. Effects of indapamide, a thiazide-like diuretic, on structure of cerebral arterioles in hypertensive rats. Hypertension. 2004;43:1092-1097.

26. Chillon JM, Baumbach GL. Autoregulation: arterial and intracranial pressure. In: Edvinsson L, Krause DN, eds. Cerebral Blood Flow and Metabolism, Second Edition. New York: Lippincott Williams & Wilkins; 2002:395-412.

Table 1: Baseline values in WKY and SHR untreated or treated with spironolactone (Spiro, 30 $mg.kg^{-1}.day^{-1}$), moexipril (Moex, 11.2±0.2 $mg.kg^{-1}.day^{-1}$) or a combination of moexipril and aldosterone (Moex+Aldo, 12.0±0.2 $mg.kg^{-1}.day^{-1}$ and 89±1 $\mu g.kg^{-1}.day^{-1}$).

	WKY	SHR			
Treatment	None	None	Spiro	Moex	Moex+Aldo
n	13	15	11	10	12
Body weight	402±7	378±6	370±8*	360±8*	346±7*†
Systemic arterial pressure (mmHg)					
Mean	101±2	166±2*	155±4*	117±4*†	116±3*†
Pulse	47±3	55±1*	49±1	39±2*†	43±1†
Cerebral arteriolar pressure (mmHg)					
Mean	48±2	67±2*	74±3*	49±3†	49±3†
Pulse	17±2	20±1	21±2	14±1	14±1
Cerebral arterioles before deactivation					
Baseline ID (µm)	68±3	38 ±1*	58±2†	55±2*†	42±2*‡

Values are means ± SEM.

* $P \leq 0.05$ vs. WKY.

† $P \leq 0.05$ vs. untreated SHR.

‡ $P \leq 0.05$ vs. SHR treated with moexipril.

Table 2: Structural parameters of deactivated (EDTA) cerebral arterioles in WKY and SHR untreated or treated with spironolactone (Spiro, 30 $mg.kg^{-1}.day^{-1}$), moexipril (Moex, 11.2±0.2 $mg.kg^{-1}.day^{-1}$) or a combination of moexipril and aldosterone (Moex+Aldo, 12.0±0.2 $mg.kg^{-1}.day^{-1}$ and 89±1 $\mu g.kg^{-1}.day^{-1}$).

Parameters	WKY	SHR			
Treatment	None	None	Spiro	Moex	Moex+Aldo
n	13	14	12	9	13
CSA (μm^2)	380±14	489±13*	548±22*	400±18†	459±20
WT (µm)	1.1±0.1	2.0±0.1*	1.8±0.1*	1.4±0.1†	1.8±0.1*‡
WT/ID (x 10^{-3})	11.1±0.6	27.3±1.1*	18.6±1.1*†	15.1±1.2†	23.1±2.2*‡
EDTA ID (µm)	105±3	75±1*	98±3†	92±2†	81±3*‡

Values are means ± SEM.

* $P \leq 0.05$ vs. WKY.

† $P \leq 0.05$ vs. untreated SHR.

‡ $P \leq 0.05$ vs. SHR treated with moexipril.

LEGEND OF FIGURES

Figure 1: External diameter-mean pial arteriolar pressure relationships in cerebral arterioles of WKY (n = 13, open squares) and SHR that were untreated (n = 15, open triangles) or treated with spironolactone (n = 11, 30 $mg.kg^{-1}.day^{-1}$, closed triangles), moexipril (n = 10, 11.2±0.2 $mg.kg^{-1}.day^{-1}$, open circles) or a combination of moexipril and aldosterone (n = 12, 12.0±0.2 $mg.kg^{-1}.day^{-1}$ p.o. and 89±1 $\mu g.kg^{-1}.day^{-1}$, closed circles). External diameter was calculated using values of ID for each pressure step and CSA. Values are means ± SEM. *: $P \leq 0.05$ vs. WKY. †: $P \leq 0.05$ vs. untreated SHR. ‡ $P \leq 0.05$ vs. SHR treated with moexipril.

Figure 2: Stress-strain relationships in deactivated (EDTA, 67 mM) cerebral arterioles of WKY (n = 13, open squares) and SHR that were untreated (n = 15, open triangles) or treated with spironolactone (n = 11, 30 $mg.kg^{-1}.day^{-1}$, closed triangles), moexipril (n = 10, 11.2±0.2 $mg.kg^{-1}.day^{-1}$, open circles) or a combination of moexipril and aldosterone (n = 12, 12.0±0.2 $mg.kg^{-1}.day^{-1}$ p.o. and 89±1 $\mu g.kg^{-1}.day^{-1}$, closed circles). Values are means ± SEM. ID, internal diameter; ID_o, internal diameter at the lowest arteriolar pressure step (5-9 mmHg).

Figure 3: Internal diameter-mean arterial pressure relationships in cerebral arterioles of WKY (n = 13, open squares) and SHR that were untreated (n = 15, open triangles) or treated with spironolactone (n = 11, 30 $mg.kg^{-1}.day^{-1}$, closed triangles), moexipril (n = 10, 11.2±0.2 $mg.kg^{-1}.day^{-1}$, open circles) or a combination of moexipril and aldosterone (n = 12, 12.0±0.2 $mg.kg^{-1}.day^{-1}$ p.o. and 89±1 $\mu g.kg^{-1}.day^{-1}$, closed circles). Values are means ± SEM. *: $P \leq 0.05$ vs. WKY. †: $P \leq 0.05$ vs. untreated SHR. ‡ $P \leq 0.05$ vs. SHR treated with moexipril.

Figure 4: Lower limit of cerebral blood flow autoregulation in WKY (white bars, n = 13) and SHR that were untreated (black bars, n = 15) or treated with spironolactone (cross-hatched bars, n = 11, 30 $mg.kg^{-1}.day^{-1}$), moexipril (grey bars, n = 10, 11.2±0.2 $mg.kg^{-1}.day^{-1}$) or a combination of moexipril and aldosterone (cross-hatched grey bars, n = 12, 12.0±0.2 $mg.kg^{-1}.day^{-1}$ p.o. and 89±1 $\mu g.kg^{-1}.day^{-1}$). Values are means ± SEM. *: $P \leq 0.05$ vs. WKY. †: $P \leq 0.05$ vs. untreated SHR.

Figure 1:

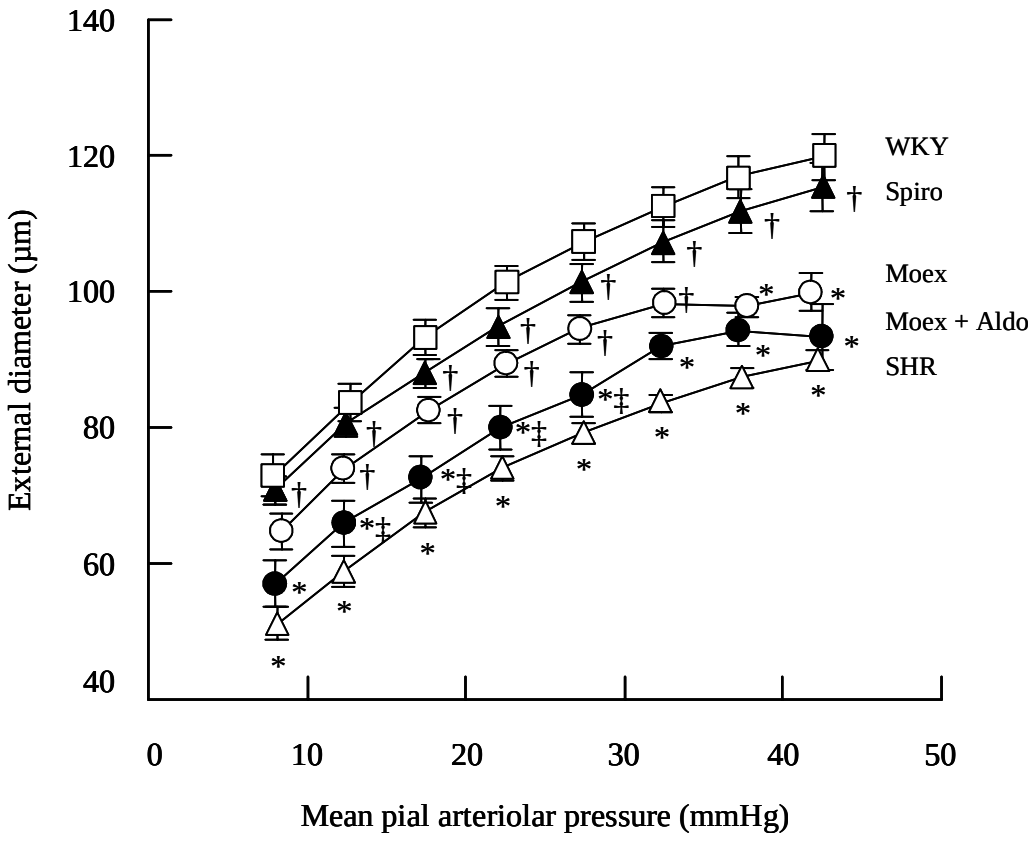

140
120
100
80
60
40
External diameter (µm)
0
10
20
30
40
50
Mean pial arteriolar pressure (mmHg)
WKY
Spiro
Moex
Moex + Aldo
SHR

Figure 2:

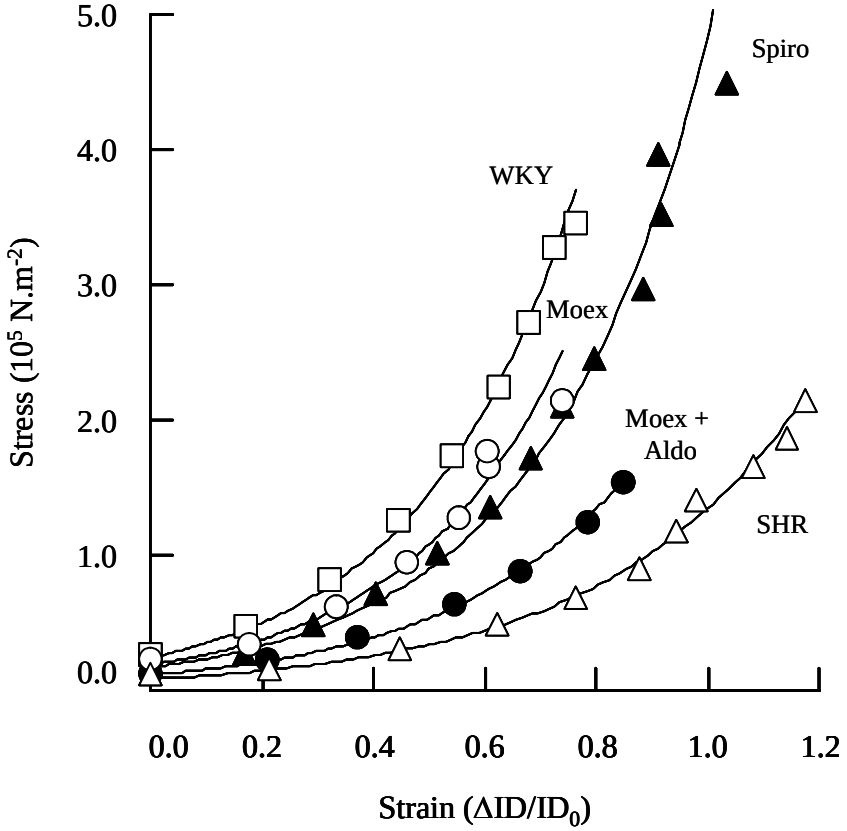

5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
Stress (10^5 N.m^{-2})
0.0
0.2
0.4
0.6
0.8
1.0
1.2
Strain ($\Delta ID/ID_0$)
Spiro
WKY
Moex
Moex +
Aldo
SHR

Figure 3:

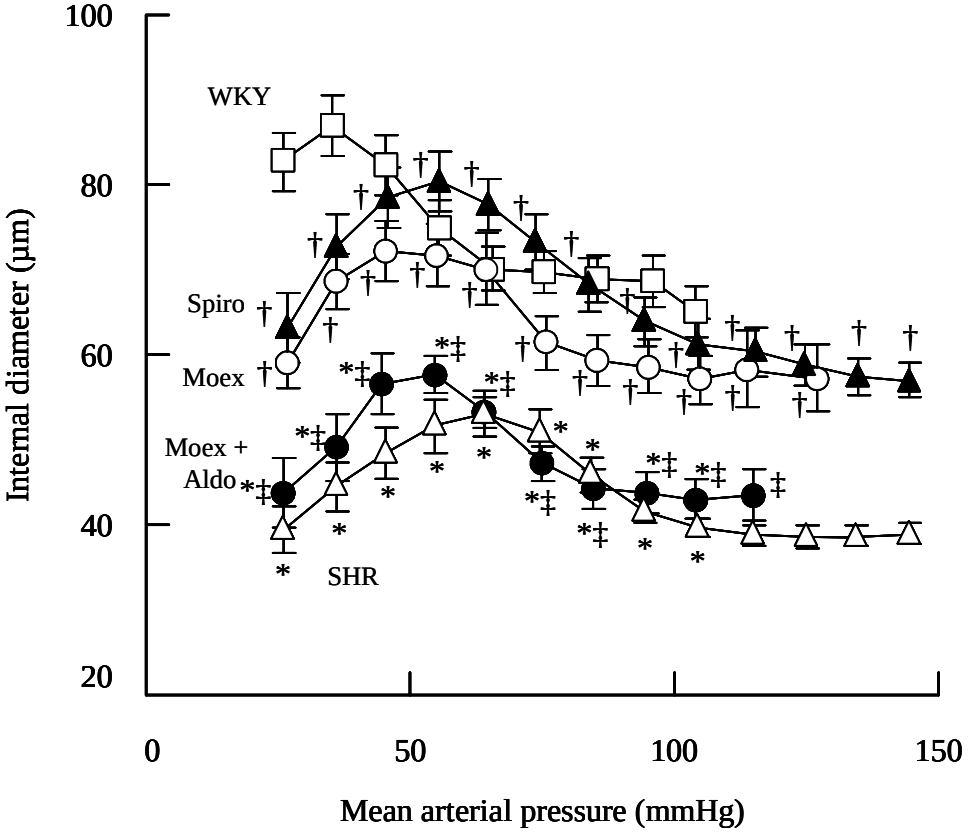
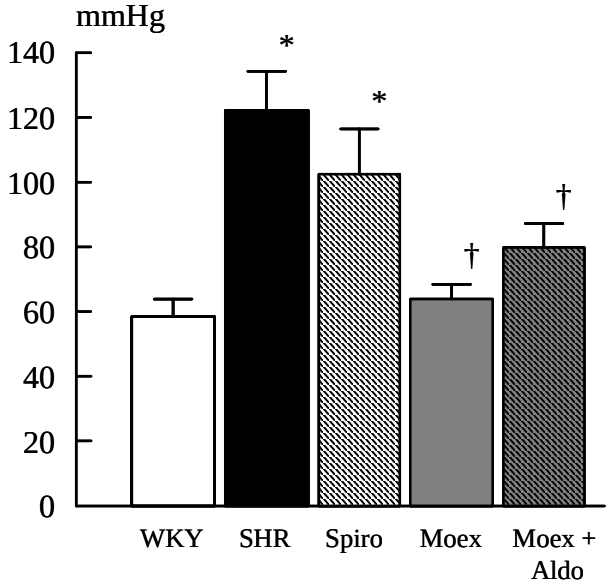

100
80
60
40
20
Internal diameter (µm)
WKY
Spiro
Moex
Moex +
Aldo
SHR
0
50
100
150
Mean arterial pressure (mmHg)

Figure 4:



3. Résumé des résultats

Cette troisième étude nous a permis de montrer que l'administration chronique d'un antagoniste des récepteurs minéralocorticoïdes de l'aldostérone, la spironolactone, permet de prévenir complètement le remodelage eutrophique centripète des artérioles cérébrales des rats SHR de façon pression-indépendante. Cet effet semble plus marqué qu'avec un IEC, le moexipril, qui pourtant diminue significativement ces pressions artérielles et artériolaires. De plus, l'administration chronique d'aldostérone à des rats SHR traités par le moexipril a atténué l'effet de ce dernier sur le remodelage eutrophique centripète sans modifier les paramètres hémodynamiques. Ces résultats suggèrent donc fortement que l'aldostérone est responsable du remodelage eutrophique centripète des artérioles cérébrales au cours de l'hypertension artérielle, et que les effets bénéfiques des IEC et des antagonistes des récepteurs AT_1 sont dus à la diminution de la sécrétion d'aldostérone qu'ils induisent.

En revanche, la spironolactone n'a pas eu d'impact sur le remodelage hypertrophique centripète, au contraire du moexipril. L'aldostérone a légèrement atténué la diminution de l'hypertrophie pariétale induite par le moexipril. Par ailleurs, la spironolactone et le moexipril montrent la même efficacité pour prévenir l'augmentation de la distensibilité pariétale des artérioles cérébrales consécutives à l'hypertension. Une fois encore, l'administration d'aldostérone aux rats traités par le moexipril a atténué l'effet de ce dernier sur la distensibilité pariétale, suggérant l'implication de cette hormone dans les altérations des caractéristiques mécaniques des artérioles cérébrales au cours de l'hypertension artérielle chronique.

Enfin, conformément à nos résultats précédents, la prévention (par la spironolactone) ou l'atténuation (par le moexipril) du remodelage eutrophique centripète s'est traduit par une amélioration des capacités de vasodilatation des artérioles cérébrales au cours de l'autorégulation du DSC. L'administration d'aldostérone aux rats traités par le moexipril a induit une diminution des capacités de vasodilatation des artérioles cérébrales. Cependant, ces effets de la spironolactone et de l'aldostérone sur les capacités de vasodilatation des artérioles cérébrales ne se sont pas traduits par un effet significatif de ces substances sur la limite basse de l'autorégulation du DSC.

PARTIE 3 : LIMITATIONS ET PERSPECTIVES

I. RECAPITULATIF DES RESULTATS

Les expériences réalisées dans le cadre de cette thèse avaient pour but d'évaluer l'importance du système rénine angiotensine aldostérone dans le développement des altérations structurales et fonctionnelles des artérioles cérébrales dans un modèle d'hypertension artérielle chronique : le rat SHR.

Nous avons montré dans un premier temps qu'un blocage de ce système par un IEC permet d'atténuer le développement du remodelage eutrophique centripète (le principal déterminant de la diminution de diamètre interne et de l'augmentation des résistances périphériques) aussi bien chez les rats SHR jeunes que chez les rats SHR âgés. Cette atténuation du remodelage eutrophique s'accompagne d'une normalisation du remodelage hypertrophique centripète ainsi que d'une amélioration des capacités d'autorégulation du DSC (Tableau 2). Au cours ce cette première étude, nous avons également pu montrer que le vieillissement n'a pas d'impact sur les altérations structurales des artérioles cérébrales consécutives à l'hypertension, non plus que sur l'efficacité de l'IEC à prévenir ou atténuer ces altérations structurales. En revanche, le vieillissement modifie les caractéristiques mécaniques des artérioles cérébrales puisqu'il induit une diminution de la distensibilité pariétale aussi bien chez les rats WKY que chez les SHR. De plus le vieillissement empêche la normalisation de la distensibilité pariétale induite par l'IEC, qui est pourtant observée chez les SHR jeunes.

Tableau 2 : Récapitulatif des principaux effets des traitements chroniques utilisés sur le remodelage hypertrophique centripète (RHC) et le remodelage eutrophique centripète (REC) des artérioles cérébrales et sur la limite basse de l'autorégulation du débit sanguin cérébral (LBADSC). IEC : inhibiteur de l'enzyme de conversion ; MR : récepteurs des minéralocorticoïdes.

Traitement	RHC	REC	LBADSC
IEC	↓↓	↓	↓
Antagoniste AT_1	↓↓	↓	↓
Antagoniste MR	=	↓↓	≈

Nous avons ensuite pu montrer, dans un deuxième temps, que les effets bénéfiques des IEC sur les caractéristiques structurales, mécaniques et fonctionnelles des artérioles cérébrales sont dus à la diminution de la stimulation des récepteurs AT_1 de l'angiotensine II qu'ils induisent. En effet, nous avons montré qu'un traitement chronique par un antagoniste de ces récepteurs AT_1 produit une atténuation du remodelage eutrophique centripète, une normalisation du remodelage hypertrophique et une diminution de la limite basse de l'autorégulation du DSC rigoureusement identiques à un traitement par IEC (Tableau 2). Comme nous l'avons discuté précédemment, ces résultats permettent d'exclure un rôle quelconque des récepteurs AT_2 ou de l'inhibition de la dégradation de la bradykinine ou de la substance P par les IEC dans ces altérations des artérioles cérébrales chez le rat SHR.

Comme nous l'avons évoqué dans la première partie de cette thèse, les récepteurs AT_1 pourraient contribuer au développement du remodelage eutrophique soit de manière directe, en activant des voies de signalisation intracellulaire au niveau des cellules de la paroi artériolaire, soit de manière indirecte en stimulant la sécrétion d'aldostérone qui est elle-même susceptible de participer au remodelage eutrophique. Nous avons donc voulu préciser, dans un troisième temps, le mécanisme par lequel les récepteurs AT_1 sont impliqués dans le développement du remodelage eutrophique centripète et des autres altérations des artérioles cérébrales induites par l'hypertension chronique, en bloquant l'action potentielle de l'aldostérone sur ses récepteurs. Nous avons ainsi pu montrer que l'aldostérone est vraisemblablement la molécule responsable du remodelage eutrophique centripète puisque la

spironolactone (antagoniste des récepteurs MR) prévient totalement le développement de ce remodelage eutrophique (Tableau 2) de façon pression-indépendante et que l'administration d'aldostérone prévient en partie les effets des IEC sur ce même remodelage. Cependant, la spironolactone n'a eu aucun impact sur le remodelage hypertrophique et un impact très limité sur la limite basse de l'autorégulation du DSC (Tableau 2).

Ces résultats nous permettent donc de proposer que les éléments déterminants du système rénine angiotensine aldostérone dans le développement du remodelage eutrophique centripète (le principal déterminant de l'augmentation des résistances périphériques) sont l'aldostérone et l'activation des récepteurs MR qu'elle induit (Figure 40). L'efficacité des IEC et des antagonistes des récepteurs AT_1 pour atténuer le remodelage eutrophique des artérioles cérébrales chez les rats SHR s'expliquerait donc pas la diminution de la sécrétion d'aldostérone que ces substances provoquent (Figure 40).

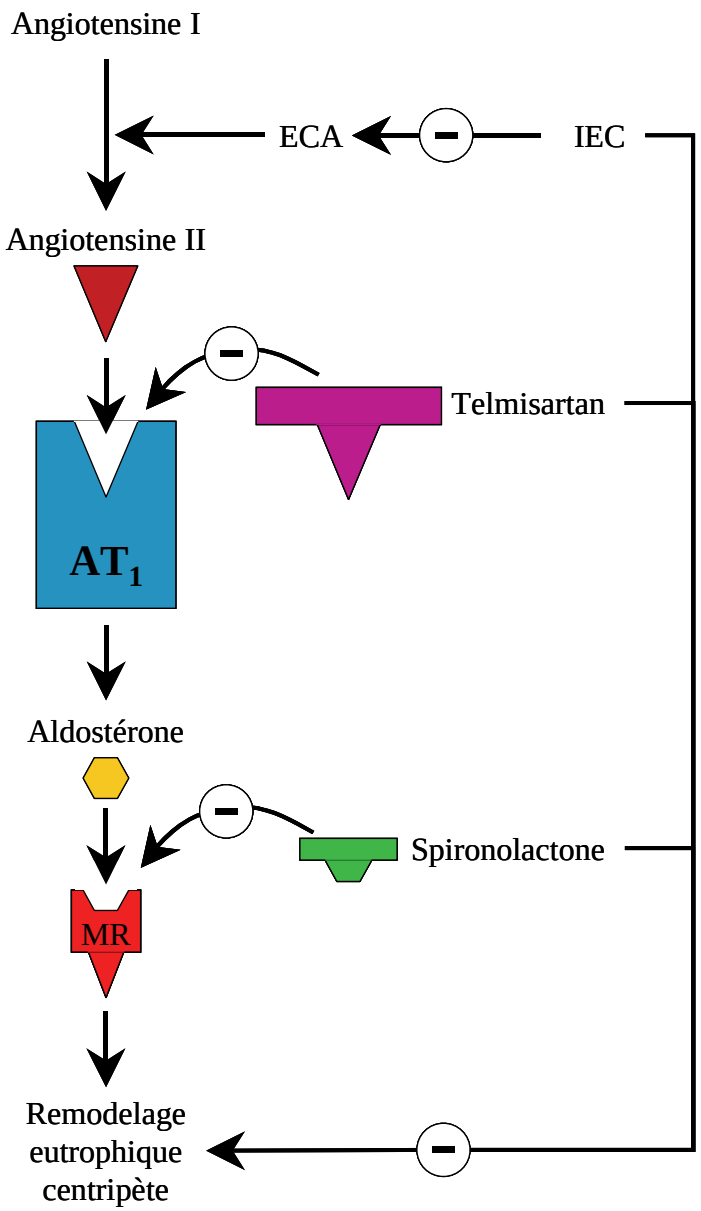


Figure 40 : Schéma récapitulatif des différents éléments du système rénine angiotensine aldostérone impliqués dans le développement du remodelage eutrophique centripète des artérioles cérébrales chez le rats SHR. ECA : enzyme de conversion de l'angiotensine I ; IEC : inhibiteur de l'enzyme de conversion ; MR : récepteurs des minéralocorticoïdes.

Dans cette dernière partie, nous discuterons des limites méthodologiques de nos études avant d'évoquer les perspectives ouvertes par les résultats de ces expériences.

II. LIMITATIONS METHODOLOGIQUES

1. Autorégulation du DSC

Une des principales limites de la méthodologie que nous avons employée au cours de ces trois expériences concerne les résultats d'autorégulation du débit sanguin cérébral.

Nous avons au cours de nos expériences privilégié une hypotension induite par hémorragie contrôlée à une hypotension pharmacologique. Cette méthode permet un bon contrôle de l'hypotension et nous affranchit de l'action d'une substance hypotensive exogène sur la réactivité des artérioles cérébrales. Cependant, comme nous l'avons déjà évoqué au début de ce travail, une diminution de la volémie entraîne une activation du système rénine angiotensine aldostérone et la libération accrue de rénine par le rein (Guyton, 1991). De même, nous avons utilisé du pentobarbital sodique pour anesthésier nos animaux, et la durée de l'expérimentation pour chaque animal varie entre 3 et 5 heures. Or, une anesthésie prolongée par les barbituriques induit également une activation du système rénine angiotensine aldostérone (Essadki et Atkinson, 1981).

Nous avons également vu que le système rénine angiotensine aldostérone semble jouer un rôle important dans la détermination de la limite basse et de la limite haute de l'autorégulation du DSC (cf. PARTIE 1 : II. 3.). L'angiotensine II, en induisant une contraction des artères et artérioles cérébrales, contribuerait à déplacer la limite basse de l'autorégulation du DSC vers de plus fortes valeurs de pression artérielle. Il a ainsi été démontré qu'une administration intraveineuse en aigu d'un IEC permettait de diminuer la limite basse de l'autorégulation du DSC (Barry, *et al.*, 1984).

Ainsi, les résultats sur les variations de limite basse que nous avons obtenus dans nos différents travaux pourraient être biaisés par cette activation du système rénine angiotensine aldostérone induite par l'hémorragie et l'anesthésie. Certes, tous les groupes d'animaux subissaient la même anesthésie et les mêmes hémorragies et donc vraisemblablement une activation du système rénine angiotensine aldostérone similaire. Cependant, dans les groupes traités chroniquement par un IEC ou un antagoniste des récepteurs AT_1, la présence de ces médicaments dans le sang des animaux au moment de l'expérimentation pourrait empêcher la formation ou l'action de l'angiotensine II induite par ces conditions expérimentales. Ainsi, la

limite basse de l'autorégulation se trouverait à de plus faibles valeurs de pression artérielle du fait du blocage de l'activation aiguë du système rénine angiotensine aldostérone induite par l'hémorragie, et non du fait des conséquences chroniques de ces traitements sur la circulation cérébrale. Ce blocage de l'activation aiguë du système rénine angiotensine aldostérone ne peut pas se produire dans les groupes d'animaux non traités ou traités par un antagoniste des récepteurs de l'aldostérone, celui-ci ne permettant pas de prévenir la formation de l'angiotensine II ni la contraction des cellules musculaires lisses induite par la stimulation des récepteurs AT_1. Ceci pourrait donc expliquer que, dans notre dernière expérience, l'IEC diminue la limite basse de l'autorégulation du DSC, mais que la spironolactone n'a que peu d'effet sur celle-ci malgré une atténuation plus importante du remodelage eutrophique centripète.

Plusieurs solutions pourraient nous permettre à l'avenir de vérifier l'influence éventuelle sur nos résultats de l'activation du système rénine angiotensine aldostérone induite par nos conditions expérimentales. Tout d'abord, il serait envisageable de réaliser des dosages plasmatiques des médicaments utilisés pour les traitements chroniques sur des échantillons de sang prélevés juste avant le protocole expérimental de détermination de la limite basse. En fonction des résultats, nous pourrions déterminer si ces concentrations plasmatiques sont suffisamment élevées pour influer ou non sur l'activation du système rénine angiotensine aldostérone induite par nos conditions expérimentales. Ensuite, il serait envisageable d'administrer en aigu un IEC à tous les groupes d'animaux lors de la détermination de la limite basse. Cette administration permettrait de s'affranchir dans tous les groupes de l'activation du système rénine angiotensine. Ainsi les différences potentiellement liées à la présence dans le sang des médicaments utilisés pour les traitements chroniques seraient annulées.

2. Paramètres structuraux

Il est peu probable que l'activation du système rénine angiotensine aldostérone induite par nos conditions expérimentales que nous venons d'évoquer puisse remettre en cause nos résultats sur les paramètres structuraux et mécaniques des artérioles cérébrales. D'une part, ces paramètres sont déterminés à partir de mesures effectuées sur des artérioles cérébrales complètement désactivées par l'EDTA. De ce fait, une élévation aiguë des taux plasmatiques de rénine, d'angiotensine II et/ou d'aldostérone au moment de ces mesures ne peut pas

modifier le diamètre interne des artérioles qui ne varie qu'avec la pression intravasculaire. D'autre part, il est difficilement envisageable qu'une activation aiguë du système rénine angiotensine aldostérone au moment de l'expérimentation puisse modifier la structure de la paroi artériolaire.

En revanche, un autre biais de notre modèle expérimental est que nous avons évalué l'impact du système rénine angiotensine aldostérone sur les altérations structurales des artérioles cérébrales dans un modèle animal d'hypertension artérielle chronique qui développe une activation de ce système. En effet, nous avons vu précédemment que le rat SHR développe une activation du système rénine angiotensine aldostérone vasculaire (cf. PARTIE 1 : I. 3.). Nous avons choisi ce modèle animal car il développe un remodelage eutrophique centripète au niveau mésentérique ou (comme nous l'avons montré) au niveau cérébral d'une importance relative identique à celle du remodelage eutrophique observé chez les patients souffrant d'hypertension essentielle (indices de remodelage eutrophique centripète supérieur à 90 % dans les deux cas) (cf. PARTIE 1 : III. 1.2.2.). Cependant, nos résultats montrant l'implication des récepteurs AT_1 et de l'aldostérone dans le développement du remodelage eutrophique centripète pourraient n'être valables que pour les formes d'hypertension associées à une activation du système rénine angiotensine aldostérone. En effet, certains modèles expérimentaux d'hypertension artérielle non liés à une activation de ce système développent eux aussi un remodelage eutrophique centripète même s'il semble de moindre importance (indice de remodelage eutrophique centripète autour de 70 %) (Heagerty, *et al.*, 1993). Par ailleurs, chez les patients souffrant d'une hypertension rénovasculaire le remodelage eutrophique ne revêt pas la même importance que chez les patients souffrant d'hypertension essentielle ou d'hyperaldostéronisme primaire (Rizzoni, *et al.*, 1996). On peut donc penser que les mécanismes du développement du remodelage eutrophique centripète dépendent des modèles expérimentaux ou des causes de l'hypertension. Ainsi, l'importance des récepteurs AT_1 ou de l'aldostérone sur le remodelage eutrophique pourrait différer selon les modèles étudiés, de même que l'impact d'un traitement chronique par un antagoniste des récepteurs AT_1 ou des récepteurs MR. Pour vérifier cette hypothèse, nous pourrions tester l'impact de traitements chroniques par un antagoniste des récepteurs AT_1 ou un antagoniste des récepteurs MR sur le remodelage eutrophique des artérioles cérébrales dans des modèles expérimentaux d'hypertension sans activation du système rénine angiotensine aldostérone tels que les modèles DOCA-salt ou Goldblatt 1 rein, 1clip.

Enfin, nous nous sommes intéressés au cours de nos expériences uniquement au remodelage des artérioles cérébrales d'un diamètre basal compris entre 40 et 60 µm. Or, nous avons vu qu'au cours de l'autorégulation du DSC, la dilatation des artères et artérioles se fait de manière séquentielle, les vaisseaux de plus gros diamètre se dilatant pour des pressions artérielles plus élevées que les artères de plus petit calibre (cf. PARTIE 1 : II. 2.2.). Les artères se situant en amont des artérioles cérébrales interviennent donc dans la détermination de la limite basse. Nous avons également évoqué que les altérations des artères et artérioles cérébrales pouvaient être différentes selon le calibre des vaisseaux considérés, notamment en ce qui concerne leurs caractéristiques mécaniques (cf. PARTIE 1 : III. 4.2.). Il serait donc intéressant de s'intéresser à l'impact des traitements chroniques auxquels nous avons eu recours sur les caractéristiques structurales et fonctionnelles des artères cérébrales de plus gros diamètre. Un modèle nous permettant d'atteindre cet objectif pourrait consister à étudier l'artère cérébrale moyenne, car les artérioles que nous avons étudiées sont issues de cette artère.

Une technique de fenêtre crânienne pour étudier l'artère cérébrale moyenne est difficilement envisageable, du fait de la position anatomique de celle-ci et de la nécessité de maintenir la tête de l'animal dans un appareil à stéréotaxie pour assurer sa contention. Cependant, il serait possible d'étudier cette artère *in vitro* en utilisant un artériographe d'Halpern. Il est en effet possible d'isoler l'artère cérébrale moyenne à partir de prélèvement de l'encéphale (Petrault, *et al.*, 2005). Cette artère peut alors être montée dans un artériographe qui permet d'étudier *in vitro* ses caractéristiques structurales mécaniques et fonctionnelles (Petrault, *et al.*, 2005). L'artère est canulée sur deux micropipettes et ligaturée sur celles-ci. Ces micropipettes sont elles-mêmes connectées à un appareil permettant de générer le débit et la pression de perfusion par une solution isotonique. Le système d'Halpern est donc un système perfusé et pressurisé qui permet de contrôler la pression régnant dans l'artère (pression moyenne et pression pulsatile). Il est alors possible de mesurer le diamètre de cette artère en réponse à différentes conditions de pression ou à diverses substances exogènes. Un tel appareil nous permettrait donc d'étudier la dilatation induite par l'hypotension ainsi que le remodelage eutrophique centripète de l'artère cérébrale moyenne et de mesurer l'impact du système rénine angiotensine aldostérone sur ces paramètres.

3. Interprétation des résultats

Enfin, une autre limitation de nos études concerne les conclusions que nous pouvons tirer de ces expériences. Nous avons montré que les récepteurs AT_1 sont impliqués dans le développement du remodelage eutrophique centripète puisqu'un traitement par un antagoniste de ces récepteurs atténue ce remodelage. Nous avons alors émis l'hypothèse que ces récepteurs AT_1 participeraient au développement du remodelage eutrophique par le biais de l'augmentation de la sécrétion d'aldostérone qu'ils induisent. Nous nous sommes pour celà basés sur le fait que des récepteurs de l'aldostérone sont exprimés au niveau des cellules vasculaires (Hatakeyama, *et al.*, 1994) et que l'aldostérone est susceptible de participer au développement du remodelage eutrophique par divers mécanismes (cf. PARTIE 1 : III. 3.2.1.). Nous avons alors pu montrer qu'un traitement par un antagoniste des récepteurs MR de l'aldostérone permet de prévenir complètement le développement du remodelage eutrophique. Nous avons donc conclu que les récepteurs AT_1 participent de manière indirecte au développement du remodelage, *via* l'aldostérone. Il apparaît alors séduisant de penser que l'action de cette dernière hormone soit due à ses effets directs sur les cellules endothéliales ou les cellules musculaires lisses. Cependant, nos résultats ne permettent pas d'aboutir à une telle conclusion. En effet, l'aldostérone, tout comme d'ailleurs les récepteurs AT_1, induit la réabsorption du sodium au niveau rénal. Nos éxpériences ne nous permettent donc pas d'exclure que le déterminant principal du remodelage eutrophique centripète est le bilan sodique. Les effets des IEC, des antagonistes des récepteurs AT_1 ou des récepteurs MR sur le remodelage eutrophique pourraient donc n'être que le « reflet » de leur impact sur la réabsorption rénale du sodium et le bilan sodique. La diminution de la réabsorption rénale du sodium qu'ils provoquent pourrait donc, par elle-même, atténuer le développement du remodelage eutrophique centripète.

Pour vérifier l'impact du bilan sodique sur le remodelage eutrophique centripète, nous pourrions étudier l'impact d'une diminution du bilan sodique indépendante du système rénine angiotensine aldostérone sur le remodelage eutrophique. Nous pourrions donc par exemple étudier la structure des artérioles cérébrales chez des rats SHR traités par un diurétique et un régime hyposodé et comparer les effets d'un tel traitement à ceux d'un IEC, d'un antagoniste des récepteurs AT_1 ou d'un antagoniste des récepteurs MR. Nous pourrions également déterminer si une augmentation du bilan sodique est susceptible d'induire le développement

d’un remodelage eutrophique. Nous pourrions par exemple étudier les effets d’un régime hypersalé (soit dans la nourriture, soit dans l’eau de boisson) sur la structure des artérioles cérébrales.

III. PERSPECTIVES

Nos expériences ont permis de montrer l'implication du système rénine angiotensine aldostérone dans le développement des altérations structurales, mécaniques et fonctionnelles des artérioles cérébrales au cours de l'hypertension chez les rats SHR. Ces résultats ouvrent de nombreuses perspectives sur les mécanismes biochimiques à l'origine du remodelage eutrophique ainsi que sur les conséquences physiologiques de celui-ci.

1. Mécanismes biochimiques

Nous avons démontré que l'aldostérone est un des principaux déterminants du développement du remodelage eutrophique centripète des artérioles cérébrales chez le rat SHR. Cependant, comme nous venons de l'évoquer, aucun de nos résultats ne nous permet de savoir si les effets de l'aldostérone sur la structure des artérioles cérébrales sont liés à une action directe de cette hormone sur les cellules de la paroi artériolaire. Pour vérifier si les traitements chroniques que nous utilisons pour nos animaux modifient l'activité des cellules vasculaires, nous pourrions à l'avenir avoir recours à des techniques de biologie moléculaires afin de déterminer, au niveau des artérioles cérébrales, les modifications de l'expression de différents gènes.

Un des problèmes majeurs auxquels nous pourrions nous heurter pour l'utilisation de ces techniques de biologie moléculaire, comme le « Northern blot » (qui permet de mesurer l'expression de l'ARN des gènes qui nous intéressent) ou le « Western blot » (qui permet de mesurer l'expression protéique des gènes d'intérêt), est l'obtention d'une quantité suffisante de matériel artériolaire, étant donnée la petite taille des vaisseaux que nous étudions. Cependant, plusieurs groupes ont rapporté récemment des techniques permettant d'isoler les microvaisseaux cérébraux et de réaliser de telles techniques sur ce matériel biologique (Yamakawa, *et al.*, 2003 ; Ospina, *et al.*, 2004 ; Ando, *et al.*, 2004a). Ces techniques consistent à broyer le cerveau à l'aide d'un homogénéisateur de type « Dounce », puis à réaliser plusieurs étapes successives de rinçage et de centrifugation différentielle (temps et vitesse de centrifugation variables) sur l'homogénat ainsi obtenu. Le culot récupéré à la fin de ces différentes étapes contient les microvaisseaux cérébraux, qui peuvent être caractérisés par microscopie optique (Yamakawa, *et al.*, 2003 ; Ospina, *et al.*, 2004) et/ou par leur activité

enzymatique spécifique (notamment la gamma glutamyl transpeptidase) (Yamakawa, *et al.*, 2003).

Le développement de ces techniques d'isolement des microvaisseaux cérébraux pourrait donc nous permettre de vérifier si les IEC, les antagonistes des récepteurs AT_1 ou les antagonistes des récepteurs MR modifient l'expression de certaines protéines au niveau de la paroi des artérioles cérébrales.

Dans un premier temps, nous pourrions détecter l'expression, au niveau des artérioles cérébrales, des différentes protéines du système rénine angiotensine aldostérone. Nous pourrions vérifier que les récepteurs MR sont bien exprimés au niveau des cellules de la paroi des artérioles cérébrales, conformément à ce qui a été démontré au niveau des artères mésentériques (Takeda, *et al.*, 1995a). De plus, il a été démontré que l'angiotensine II stimule l'expression de l'aldostérone synthase au niveau des cellules endothéliales (Takeda, *et al.*, 1996). Ainsi, l'efficacité des antagonistes des récepteurs AT_1 pour prévenir le remodelage eutrophique pourrait être due à la diminution de la production locale d'aldostérone, et non à une diminution de la production systémique. Là encore, ces techniques de « Western blot » ou de « Northern blot » pourraient nous permettre d'évaluer les effets de ces antagonistes sur l'expression locale de l'aldostérone synthase et donc de répondre à cette question.

A l'aide de ces techniques, nous pourrions également détecter des modifications de l'expression de différentes protéines potentiellement impliquées dans les mécanismes du remodelage eutrophique centripète. Nous pourrions par exemple cibler l'expression de différentes protéines de la matrice extracellulaire. L'analyse par « Western blot » de l'expression du collagène dans les microvaisseaux cérébraux nous permettrait de vérifier si l'effet de la spironolactone sur le remodelage eutrophique est lié à la prévention de la fibrose que cette molécule est susceptible d'induire. Un autre aspect nous apparaît particulièrement intéressant et pourrait être étudié grâce à ces techniques de biologie moléculaire : il s'agit du rôle des intégrines. Comme nous l'avons déjà évoqué, les intégrines contenant la sous-unité β_3 semblent capables de prévenir le développement du remodelage eutrophique (Bakker, *et al.*, 2004). Or, il a également été démontré que la spironolactone induit l'expression du gène codant pour la sous-unité β_3 dans des cellules épithéliales rénales et dans des cardiomyocytes (Chun, *et al.*, 2002). En utilisant les techniques de biologie moléculaire, nous pourrions donc déterminer si le mécanisme par lequel la spironolactone prévient le remodelage eutrophique

centripète des artérioles cérébrales passe par une augmentation de l'expression du gène de la sous-unité β_3 des intégrines.

Enfin, ces techniques nous permettraient également d'étudier de nombreuses autres hypothèses mécanistiques, en vérifiant par exemple si les traitements chroniques par un antagoniste des récepteurs AT_1 ou par un antagoniste des récepteurs MR sont susceptibles de modifier l'expression de protéines impliquées dans les phénomènes d'apoptose ou d'inflammation.

2. Conséquences physiologiques

Enfin, les conséquences physiologiques de nos résultats pourraient également donner lieu à de nouvelles études. Nous avons pu mettre en évidence, au cours de nos expériences, des perturbations de l'autorégulation du DSC, ainsi que des altérations structurales mécaniques et fonctionnelles des artérioles cérébrales chez les rats SHR. Or, des perturbations de l'autorégulation du DSC, et plus particulièrement de la limite basse, pourraient conduire à des troubles cognitifs (Atkinson, 2001).

Une des interrogations qui découlent de nos résultats concerne donc les conséquences de ces altérations de la circulation cérébrale sur les fonctions cognitives de ces animaux. De même, on peut se demander si les traitements qui améliorent les paramètres que nous mesurons s'accompagnent d'une amélioration de ces capacités cognitives.

Pour répondre à ces questions, nous pourrions avoir recours à différents tests comportementaux, comme le test du labyrinthe aquatique de Morris (Morris, *et al.*, 1982 ; Morris, 1984). Ce test consiste à faire nager des rats dans une piscine contenant une eau opacifiée (par du blanc de Meudon, par exemple). Une plateforme « refuge » est située à un endroit précis de cette piscine et immergée, de sorte que l'animal ne puisse la voir (du fait de l'opacité de l'eau). L'animal doit donc nager jusqu'à cette plateforme et mémoriser son emplacement grâce à des repères spaciaux préalablement disposés. Au cours de différents tests successifs, les capacités d'apprentissage et de mémorisation immédiate sont évaluées par la réduction du temps mis par l'animal à atteindre cette plateforme. De plus, la mémorisation à long terme peut également être évaluée en réalisant un nouveau test, dans les mêmes conditions expérimentales, 24 heures ou plus après la première série de tests. Cette technique

d’évaluation des capacités d’apprentissage et de mémorisation pourrait donc nous permettre d’évaluer certaines fonctions cognitives chez des SHR traités par des antagonistes des récepteurs AT_1 ou des antagonistes des récepteurs MR, et de voir si la correction des paramètres structuraux et fonctionnels des artérioles cérébrales ainsi que la diminution de la limite basse de l’autorégulation du DSC sont associées ou non à une amélioration des performances d’apprentissage et de mémorisation.

IV. CONCLUSION

Ce travail de thèse, nous a permis de montrer que le système rénine angiotensine aldostérone est directement impliqué dans les altérations structurales, mécaniques et fonctionnelles des artérioles cérébrales chez les rats SHR. Plus précisément, nous avons pu mettre en évidence que les récepteurs AT_1 de l'angiotensine II et les récepteurs MR de l'aldostérone sont responsables du développement du remodelage eutrophique centripète, le principal déterminant de l'augmentation des résistances cérébrovasculaires. Ainsi, l'efficacité des IEC et des antagonistes des récepteurs AT_1 pour atténuer le développement du remodelage eutrophique au cours de l'hypertension artérielle chronique s'expliquerait par la diminution de la sécrétion d'aldostérone qu'ils induisent.

Ces résultats pourraient revêtir une importance clinique capitale. En effet, au cours d'un traitement chronique par un IEC ou un antagoniste des récepteurs AT_1 chez des patients hypertendus, de nombreuses études ont rapporté un phénomène d'échappement à l'aldostérone qui se traduit par une augmentation des taux plasmatiques de cette hormone (MacFadyen, *et al.*, 1999 ; Roig, *et al.*, 2000 ; Lakkis, *et al.*, 2003). Si chez l'homme l'aldostérone est, comme dans notre modèle, le principal déterminant du développement du remodelage eutrophique, cet échappement à l'aldostérone pourrait conduire à une baisse de l'efficacité des thérapeutiques employées sur la structure des artérioles, notamment au niveau cérébral. Ceci pourrait donc amener à une situation où la structure de ces artérioles cérébrales ne serait pas en adéquation avec la réduction de la pression artérielle induite par les traitements, et donc se traduire par des troubles cognitifs (Atkinson, 2001).

BIBLIOGRAPHIE

AKISHITA M., HORIUCHI M., YAMADA H., ZHANG L., SHIRAKAMI G., TAMURA K., OUCHI Y. et DZAU V.J.

Inflammation influences vascular remodeling through AT2 receptor expression and signaling.

Physiol. Genomics, 2000a, 2, 13-20.

AKISHITA M., IWAI M., WU L., ZHANG L., OUCHI Y., DZAU V.J. et HORIUCHI M.

Inhibitory effect of angiotensin II type 2 receptor on coronary arterial remodeling after aortic banding in mice.

Circulation, 2000b, 102, 1684-1689.

AKIYAMA S.K.

Integrins in cell adhesion and signaling.

Hum. Cell, 1996, 9, 181-186.

ALEXANDER R.W., BROCK T.A., GIMBRONE M.A. et RITTENHOUSE S.E.

Angiotensin increases inositol trisphosphate and calcium in vascular smooth muscle.

Hypertension, 1985, 7, 447-451.

ALEXANDER R.W.

Theodore Cooper Memorial Lecture. Hypertension and the pathogenesis of atherosclerosis. Oxidative stress and the mediation of arterial inflammatory response: a new perspective.

Hypertension, 1995, 25, 155-161.

ANDO H., ZHOU J., MACOVA M., IMBODEN H. et SAAVEDRA J.M.

Angiotensin II AT1 receptor blockade reverses pathological hypertrophy and inflammation in brain microvessels of spontaneously hypertensive rats.

Stroke, 2004a, 35, 1726-1731.

ANDO H., JEZOVA M., ZHOU J. et SAAVEDRA J.M.

Angiotensin II AT1 receptor blockade decreases brain artery inflammation in a stress-prone rat strain.

Ann. N.Y. Acad. Sci., 2004b, 1018, 345-350.

ARIMA S., KOHAGURA K., XU H.L., SUGAWARA A., ABE T., SATOH F., TAKEUCHI K. et ITO S.

Nongenomic vascular action of aldosterone in the glomerular microcirculation.

J. Am. Soc. Nephrol., 2003, 14, 2255-2263.

ARMSTEAD W.M.

Hypotension dilates pial arteries by KATP and kca channel activation.

Brain. Res., 1999, 816, 158-164.

ARRIBAS S.M., GORDON J.F., DALY C.J., DOMINICZAK A.F. et MCGRATH J.C.

Confocal microscopic characterization of a lesion in a cerebral vessel of the stroke-prone spontaneously hypertensive rat.

Stroke, 1996, 27, 1118-1123.

ARRIBAS S.M., HILLIER C., GONZALEZ C., MCGRORY S., DOMINICZAK A.F. et MCGRATH J.C.

Cellular aspects of vascular remodeling in hypertension revealed by confocal microscopy.

Hypertension, 1997a, 30, 1455-1464.

ARRIBAS S.M., GONZALEZ C., GRAHAM D., DOMINICZAK A.F. et MCGRATH J.C.

Cellular changes induced by chronic nitric oxide inhibition in intact rat basilar arteries revealed by confocal microscopy.

J. Hypertens., 1997b, 15, 1685-1693.

ARRIZA J.L., WEINBERGER C., CERELLI G., GLASER T.M., HANDELIN B.L., HOUSMAN D.E. et EVANS R.M.

Cloning of human mineralocorticoid receptor complementary DNA: structural and functional kinship with the glucocorticoid receptor.

Science, 1987, 237, 268-275.

ASAAD M.M. et ANTONACCIO M.J.

Vascular wall renin in spontaneously hypertensive rats. Potential relevance to hypertension maintenance and antihypertensive effect of captopril.

Hypertension, 1982, 4, 487-493.

ATKINSON J.

Cerebrovascular structure and dementia: new drug targets.

Trends Pharmacol. Sci., 2001, 22, 630-635.

BAGUET J.P., MALLION J.M., MOREAU_GAUDRY A., NOIRCLERC M., PEOC_H M. et SICHE J.P.

Relationships between cardiovascular remodelling and the pulse pressure in never treated hypertension.

J Hum Hypertens, 2000, 14, 23-30.

BAKKER E.N., VAN DER MEULEN E.T., SPAAN J.A. et VANBAVEL E.

Organoid culture of cannulated rat resistance arteries: effect of serum factors on vasoactivity and remodeling.

Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol., 2000, 278, H1233-H1240.

BAKKER E.N., VAN DER MEULEN E.T., VAN DEN BERG B.M., EVERTS V., SPAAN J.A. et VANBAVEL E.

Inward remodeling follows chronic vasoconstriction in isolated resistance arteries.

J. Vasc. Res., 2002, 39, 12-20.

BAKKER E.N., BUUS C.L., VANBAVEL E. et MULVANY M.J.

Activation of resistance arteries with endothelin-1: from vasoconstriction to functional adaptation and remodeling.

J. Vasc. Res., 2004, 41, 174-182.

BARNES P.J. et KARIN M.

Nuclear factor-kappaB: a pivotal transcription factor in chronic inflammatory diseases.

N. Engl. J. Med., 1997, 336, 1066-1071.

BARRY D.I., JARDEN J.O., PAULSON O.B., GRAHAM D.I. et STRANDGAARD S.

Cerebrovascular aspects of converting-enzyme inhibition I: Effects of intravenous captopril in spontaneously hypertensive and normotensive rats.

J. Hypertens., 1984, 2, 589-597.

BASCANDS J.L., GIROLAMI J.P., TROLY M., ESCARGUEIL-BLANC I., NAZZAL D., SALVAYRE R. et BLAES N.

Angiotensin II induces phenotype-dependent apoptosis in vascular smooth muscle cells.

Hypertension, 2001, 38, 1294-1299.

BAUMBACH G.L. et HEISTAD D.D.
Regional, segmental, and temporal heterogeneity of cerebral vascular autoregulation.
Ann. Biomed. Eng., 1985, 13, 303-310.

BAUMBACH G.L., DOBRIN P.B., HART M.N. et HEISTAD D.D.
Mechanics of cerebral arterioles in hypertensive rats.
Circ. Res., 1988, 62, 56-64.

BAUMBACH G.L. et HEISTAD D.D.
Remodeling of cerebral arterioles in chronic hypertension.
Hypertension, 1989, 13, 968-972.

BAUMBACH G.L., HEISTAD D.D. et SIEMS J.E.
Effect of sympathetic nerves on composition and distensibility of cerebral arterioles in rats.
J. Physiol., 1989, 416, 123-140.

BAUMBACH G.L., SIEMS J.E. et HEISTAD D.D.
Effects of local reduction in pressure on distensibility and composition of cerebral arterioles.
Circ. Res., 1991, 68, 338-351.

BAUMBACH G.L. et HEISTAD D.D.
Drug-induced changes in mechanics and structure of cerebral arterioles.
Journal of Hypertension Supplement, 1992, 10, S137-S140.

BAUMBACH G.L. et HAJDU M.A.
Mechanics and composition of cerebral arterioles in renal and spontaneously hypertensive rats.
Hypertension, 1993, 21, 816-826.

BAUMBACH G.L. et GHONEIM S.
Vascular remodeling in hypertension.
Scanning Microsc., 1993, 7, 137-142; discussion 143.

BAUMBACH G.L.

Effects of increased pulse pressure on cerebral arterioles.

Hypertension, 1996, 27, 159-167.

BAUMBACH G.L., SIGMUND C.D., BOTTIGLIERI T. et LENTZ S.R.

Structure of cerebral arterioles in cystathionine beta-synthase-deficient mice.

Circ. Res., 2002, 91, 931-937.

BAUMBACH G.L., SIGMUND C.D. et FARACI F.M.

Cerebral arteriolar structure in mice overexpressing human renin and angiotensinogen.

Hypertension, 2003, 41, 50-55.

BAUMBACH G.L., SIGMUND C.D. et FARACI F.M.

Structure of cerebral arterioles in mice deficient in expression of the gene for endothelial nitric oxide synthase.

Circ. Res., 2004, 95, 822-829.

BELL L. et MADRI J.A.

Influence of the angiotensin system on endothelial and smooth muscle cell migration.

Am. J. Pathol., 1990, 137, 7-12.

BENDECK M.P., IRVIN C., REIDY M., SMITH L., MULHOLLAND D., HORTON M. et GIACHELLI C.M.

Smooth muscle cell matrix metalloproteinase production is stimulated via alpha(v)beta(3) integrin.

Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol., 2000, 20, 1467-1472.

BERK B.C., ARONOW M.S., BROCK T.A., CRAGOE E.J., GIMBRONE M.A. et ALEXANDER R.W.

Angiotensin II-stimulated Na+/H+ exchange in cultured vascular smooth muscle cells. Evidence for protein kinase C-dependent and -independent pathways.

J. Biol. Chem., 1987, 262, 5057-5064.

BERK B.C., VEKSHTEIN V., GORDON H.M. et TSUDA T.

Angiotensin II-stimulated protein synthesis in cultured vascular smooth muscle cells.

Hypertension, 1989, 13, 305-314.

BLAIS V. et RIVEST S.

Inhibitory action of nitric oxide on circulating tumor necrosis factor-induced NF-kappaB activity and COX-2 transcription in the endothelium of the brain capillaries.

J. Neuropathol. Exp. Neurol., 2001, 60, 893-905.

BOBIK A., GROOMS A., MILLAR J.A., MITCHELL A. et GRINPUKEL S.

Growth factor activity of endothelin on vascular smooth muscle.

Am. J. Physiol., 1990, 258, C408-C415.

BOLDYREFF B. et WEHLING M.

Rapid aldosterone actions: from the membrane to signaling cascades to gene transcription and physiological effects.

J. Steroid. Biochem., 2003, 85, 375-381.

BOTTARI S.P., KING I.N., REICHLIN S., DAHLSTROEM I., LYDON N. et DE GASPARO M.

The angiotensin AT2 receptor stimulates protein tyrosine phosphatase activity and mediates inhibition of particulate guanylate cyclase.

Biochem. Biophys. Res. Commun, 1992, 183, 206-211.

BOULANGER C.M., CAPUTO L. et LEVY B.I.

Endothelial AT1-mediated release of nitric oxide decreases angiotensin II contractions in rat carotid artery.

Hypertension, 1995, 26, 752-757.

BOUVET C., GILBERT L.A., GIRARDOT D., DEBLOIS D. et MOREAU P.

Different involvement of extracellular matrix components in small and large arteries during chronic NO synthase inhibition.

Hypertension, 2005, 45, 432-437.

BRASIER A.R., RECINOS A.R. et ELEDRISI M.S.

Vascular inflammation and the renin-angiotensin system.

Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol., 2002, 22, 1256-1266.

BRAUN S., LOSEL R., WEHLING M. et BOLDYREFF B.

Aldosterone rapidly activates Src kinase in M-1 cells involving the mineralocorticoid receptor and HSP84.

FEBS Lett., 2004, 570, 69-72.

BRAY L., LARTAUD I., MULLER F., ATKINSON J. et CAPDEVILLE C.

Effects of the angiotensin I converting enzyme inhibitor perindopril on cerebral blood flow in awake hypertensive rats.

Am. J. Hypertens., 1991, 4, 246S-252S.

BRAYDEN J.E., HALPERN W. et BRANN L.R.

Biochemical and mechanical properties of resistance arteries from normotensive and hypertensive rats.

Hypertension, 1983, 5, 17-25.

BRIAN J.E., FARACI F.M. et HEISTAD D.D.

Recent insights into the regulation of cerebral circulation.

Clin. Exp. Pharmacol. Physiol., 1996, 23, 449-457.

BRILLA C.G., ZHOU G., MATSUBARA L. et WEBER K.T.

Collagen metabolism in cultured adult rat cardiac fibroblasts: response to angiotensin II and aldosterone.

J. Mol. Cell. Cardiol., 1994, 26, 809-820.

BUITRAGO C., VAZQUEZ G., DE BOLAND A.R. et BOLAND R.L.

Activation of Src kinase in skeletal muscle cells by 1, 1,25-(OH(2))-vitamin D(3) correlates with tyrosine phosphorylation of the vitamin D receptor (VDR) and VDR-Src interaction.

J. Cell. Biochem., 2000, 79, 274-281.

BUNKENBURG B., VAN AMELSVOORT T., ROGG H. et WOOD J.M.

Receptor-mediated effects of angiotensin II on growth of vascular smooth muscle cells from spontaneously hypertensive rats.

Hypertension, 1992, 20, 746-754.

BUSIJA D.W. et HEISTAD D.D.

Factors involved in the physiological regulation of the cerebral circulation.

Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol., 1984, 101, 161-211.

CALLERA G.E., TOUYZ R.M., TOSTES R.C., YOGI A., HE Y., MALKINSON S. et SCHIFFRIN E.L.

Aldosterone activates vascular p38MAP kinase and NADPH oxidase via c-Src.

Hypertension, 2005, 45, 773-779.

CAMPBELL D.J., KLADIS A. et VALENTIJN A.J.

Effects of losartan on angiotensin and bradykinin peptides and angiotensin-converting enzyme.

J. Cardiovasc. Pharmacol., 1995, 26, 233-240.

CAMPBELL-BOSWELL M.A. et ROBERTSON A.L.

Effects of angiotensin II and vasopressin on human smooth muscle cells in vitro.

Exp. Mol. Pathol., 1981, 35, 265-276.

CAO Z., DEAN R., WU L., CASLEY D. et COOPER M.E.

Role of angiotensin receptor subtypes in mesenteric vascular proliferation and hypertrophy.

Hypertension, 1999, 34, 408-414.

CAPUTO L., BENESSIANO J., BOULANGER C.M. et LEVY B.I.

Angiotensin II increases cGMP content via endothelial angiotensin II AT1 subtype receptors in the rat carotid artery.

Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol., 1995, 15, 1646-1651.

CAROSI J.A., ESKIN S.G. et MCINTIRE L.V.

Cyclical strain effects on production of vasoactive materials in cultured endothelial cells.

J. Cell. Physiol., 1992, 151, 29-36.

CARR P., MCKINNON W. et POSTON L.

Mechanisms of pHi control and relationships between tension and pHi in human subcutaneous small arteries.

Am. J. Physiol., 1995, 268, C580-C589.

CASTRO C.M., CRUZADO M.C., MIATELLO R.M. et RISLER N.R.

Proteoglycan production by vascular smooth muscle cells from resistance arteries of hypertensive rats.

Hypertension, 1999, 34, 893-896.

CHAKI S. et INAGAMI T.

Identification and characterization of a new binding site for angiotensin II in mouse neuroblastoma neuro-2A cells.

Biochem. Biophys. Res. Commun, 1992, 182, 388-394.

CHILLON J.M., HEISTAD D.D. et BAUMBACH G.L.

Effects of endothelin receptor inhibition on cerebral arterioles in hypertensive rats.

Hypertension, 1996, 27, 794-798.

CHILLON J.M. et BAUMBACH G.L.

Effects of increased pulse pressure on endothelium-dependent relaxation.

FASEB J., 1996, 10, A9 (abstract).

CHILLON J.M., GHONEIM S. et BAUMBACH G.L.

Effects of chronic nitric oxide synthase inhibition on cerebral arterioles in rats.

Hypertension, 1997, 30, 1097-1104.

CHILLON J.M. et BAUMBACH G.L.

Autoregulation of cerebral blood flow.

In: Primer on cerebrovascular diseases / ed. par WELCH K.M.A., CAPLAN L.R., REIS D.J., SIESJÖ B.K. et WEIR B.

San Diego: Academic Press, 1997. p. 51-54.

CHILLON J.M. et BAUMBACH G.L.

Effects of an angiotensin-converting enzyme inhibitor and a ß-blocker on cerebral arterioles in rats.

Hypertension, 1999, 33, 856-861.

CHILLON J.M. et BAUMBACH G.L.

Autoregulation: arterial and intracranial pressure.

In: Cerebral Blood Flow and Metabolism, second edition / ed. par EDVINSSON L. et KRAUSE D.N.

New York: Lippincott Williams & Wilkins, 2002. p. 395-412.

CHILLON J.M. et BAUMBACH G.L.

Effects of chronic nitric oxide synthase inhibition on cerebral arterioles in Wistar-Kyoto rats.

J. Hypertens., 2004, 22, 529-534.

CHIQUET M.

Regulation of extracellular matrix gene expression by mechanical stress.

Matrix Biol., 1999, 18, 417-426.

CHRIST M., GUNTHER A., HECK M., SCHMIDT B.M., FALKENSTEIN E. et WEHLING M.

Aldosterone, not estradiol, is the physiological agonist for rapid increases in cAMP in vascular smooth muscle cells.

Circulation, 1999, 99, 1485-1491.

CHRISTENSEN K.L.

Reducing pulse pressure in hypertension may normalize small artery structure.

Hypertension, 1991, 18, 722-727.

CHUN T.Y., BLOEM L. et PRATT J.H.

Spironolactone increases integrin β3 gene expression in kidney and heart muscle cells.

Mol. Cell Endocrinol., 2002, 194, 175-182.

CUI T., NAKAGAMI H., IWAI M., TAKEDA Y., SHIUCHI T., DAVIET L., NAHMIAS C. et HORIUCHI M.

Pivotal role of tyrosine phosphatase SHP-1 in AT2 receptor-mediated apoptosis in rat fetal vascular smooth muscle cell.

Cardiovasc. Res., 2001, 49, 863-871.

DAEMEN M.J. et DE MEY J.G.

Regional heterogeneity of arterial structural changes.

Hypertension, 1995, 25, 464-473.

DAIGLE C., MARTENS F.M., GIRARDOT D., DAO H.H., TOUYZ R.M. et MOREAU P.

Signaling of angiotensin II-induced vascular protein synthesis in conduit and resistance arteries *in vivo*.

BMC Cardiovasc. Disord., 2004, 4, 6.

DAO H.H., MARTENS F.M., LARIVIÈRE R., YAMAGUCHI N., CERNACEK P., DE CHAMPLAIN J. et MOREAU P.

Transient involvement of endothelin in hypertrophic remodeling of small arteries.

J. Hypertens., 2001, 19, 1801-1812.

DE CATERINA R., LIBBY P., PENG H.B., THANNICKAL V.J., RAJAVASHISTH T.B., GIMBRONE M.A., SHIN W.S. et LIAO J.K.

Nitric oxide decreases cytokine-induced endothelial activation. Nitric oxide selectively reduces endothelial expression of adhesion molecules and proinflammatory cytokines.

J. Clin. Invest., 1995, 96, 60-68.

DE GASPARO M., CATT K.J., INAGAMI T., WRIGHT J.W. et UNGER T.

International union of pharmacology. XXIII. The angiotensin II receptors.

Pharmacol. Rev., 2000, 52, 415-472.

DENG L.Y. et SCHIFFRIN E.L.

Morphological and functional alterations of mesenteric small resistance arteries in early renal hypertension in rats.

Am. J. Physiol., 1991, 261, H1171-H1177.

DENG L.Y. et SCHIFFRIN E.L.

Effects of endothelin on resistance arteries of DOCA-salt hypertensive rats.

Am. J. Physiol., 1992a, 262, H1782-H1787.

DENG L.Y. et SCHIFFRIN E.L.

Effects of endothelin-1 and vasopressin on resistance arteries of spontaneously hypertensive rats.

Am. J. Hypertens., 1992b, 5, 817-822.

DEVLIN A.M., CLARK J.S., REID J.L. et DOMINICZAK A.F.

DNA synthesis and apoptosis in smooth muscle cells from a model of genetic hypertension.

Hypertension, 2000, 36, 110-115.

DIEP Q.N., LI J.S. et SCHIFFRIN E.L.

In vivo study of AT(1) and AT(2) angiotensin receptors in apoptosis in rat blood vessels.

Hypertension, 1999, 34, 617-624.

DIMITROPOULOU C., WHITE R.E., FUCHS L., ZHANG H., CATRAVAS J.D. et CARRIER G.O.

Angiotensin II relaxes microvessels via the AT(2) receptor and Ca(2+)-activated K(+) (BK(Ca)) channels.

Hypertension, 2001, 37, 310-307.

DOUGLAS J.R.J., JOHNSON E.M.J., MARSHALL G.R., HEIST J., HARTMAN B.K. et NEEDLEMAN P.

Development and maintenance of renal hypertension in normal and guanethidine sympathectomized rats.

Circ. Res., 1975, 36, 171-178.

DUBEY R.K., JACKSON E.K. et LUSCHER T.F.

Nitric oxide inhibits angiotensin II-induced migration of rat aortic smooth muscle cell. Role of cyclic-nucleotides and angiotensin1 receptors.

J. Clin. Invest., 1995, 96, 141-149.

DUPREZ D., DE BUYZERE M., RIETZSCHEL E.R. et CLEMENT D.L.

Aldosterone and vascular damage.

Curr. Hypertens. Rep., 2000, 2, 327-334.

DUPUIS F., RÉGRIGNY O., ATKINSON J., LIMIÑANA P., DELAGRANGE P., SCALBERT E. et CHILLON J.M.

Impact of treatment with melatonin on cerebral circulation in old rats.

Br. J. Pharmacol., 2004, 141, 399-406.

DZAU V.J.

Multiple pathways of angiotensin production in the blood vessel wall: evidence, possibilities and hypotheses.

J. Hypertens., 1989, 7, 933-936.

DZAU V.J.

Theodore Cooper Lecture: Tissue angiotensin and pathobiology of vascular disease: a unifying hypothesis.

Hypertension, 2001, 37, 1047-1052.

ECCLESTON-JOYNER C.A. et GRAY S.D.

Arterial hypertrophy in the fetal and neonatal spontaneously hypertensive rats.

Hypertension, 1988, 12, 513-518.

EDVINSSON L.

Neurogenic mechanisms in the cerebrovascular bed. Autonomic nerves, amine receptors and their effects on cerebral blood flow.

Acta Physiologica Scandinavica. Supplementum, 1975, 427, 1-35.

EDVINSSON L., MCCULLOCH J., KINGMAN T.A. et UDDMAN R.

On the functional role of the trigemino-cerebrovascular system in the regulation of cerebral circulation.

In: Neural regulation of brain circulation / ed. par OWMAN C. et HARDEBO J.E.

Amsterdam: Elsevier Science, 1986. p. 407-418.

EDVINSSON L. et MACKENZIE E.T.

General and comparative anatomy of the cerebral circulation.

In: Cerebral Blood Flow and Metabolism, second edition / ed. par EDVINSSON L. et KRAUSE D.N.

New York: Lippincott Williams & Wilkins, 2002. p. 3-29.

EGASHIRA K.

Clinical importance of endothelial function in arteriosclerosis and ischemic heart disease.

2002, 66, 529-533.

EGUCHI S., MATSUMOTO T., MOTLEY E.D., UTSUNOMIYA H. et INAGAMI T.

Identification of an essential signaling cascade for mitogen-activated protein kinase activation by angiotensin II in cultured rat vascular smooth muscle cells. Possible requirement of Gq-mediated p21ras activation coupled to a Ca2+/calmodulin-sensitive tyrosine kinase.

J. Biol. Chem., 1996, 271, 14169-14175.

EISEN C., MEYER C., CHRIST M., THEISEN K. et WEHLING M.

Novel membrane receptors for aldosterone in human lymphocytes: a 50 kDa protein on SDS-PAGE.

Cell. Mol. Biol., 1994, 40, 351-358.

EKKER M., TRONIK D. et ROUGEON F.

Extra-renal transcription of the renin genes in multiple tissues of mice and rats.

Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 1989, 86, 5155-5158.

ESSADKI A. et ATKINSON J.

Renin release by renin-depleted rats following hypotensive haemorrhage and anesthetics.

Pflügers Arch., 1981, 392, 46-50.

ESTEBAN V., LORENZO O., RUPEREZ M., SUZUKI Y., MEZZANO S., BLANCO J., KRETZLER M., SUGAYA T., EGIDO J. et RUIZ-ORTEGA M.

Angiotensin II, via AT1 and AT2 receptors and NF-kappaB pathway, regulates the inflammatory response in unilateral ureteral obstruction.

J. Am. Soc. Nephrol., 2004, 15, 1514-1529.

FARACI F.M., BAUMBACH G.L. et HEISTAD D.D.

Myogenic mechanisms in the cerebral circulation.

Journal of Hypertension. Supplement : Official Journal of the International Society of Hypertension, 1989, 7, S61-64; discussion S65.

FOLKOW B., GRIMBY G. et THULESIUS O.

Adaptative structural changes of the vascular walls in hypertension and their relation to the control of the peripheral resistance.

Acta Physiol. Scand., 1958, 44, 255-272.

FOLKOW B., HALLBÄCK M., LUNDGREN Y., SIVERTSSON R. et WEISS L.

Importance of adaptive changes in vascular design for establishment of primary hypertension, studied in man and in spontaneously hypertensive rats.

Circ. Res., 1973, 32, I-2-I-16.

FOLKOW B.

Cardiovascular structural adaptation: its role in the initiation and maintenance of primary hypertension.

Clin. Sci. Mol. Med., 1978, 55, 3s-22s.

FOURNIER A., ACHARD J.M., BOUTITIE F., MAZOUZ H., MANSOUR J., OPRISIU R., FERNANDEZ L. et MESSERLI F.

Is the angiotensin II Type 2 receptor cerebroprotective?

Curr. Hypertens. Rep., 2004, 6, 182-189.

FUJISHIMA M. et OMAE T.

Lower limit of cerebral autoregulation in normotensive and spontaneously hypertensive rats.

Experientia, 1976, 32, 1019-1021.

FUNDER J.W.

Aldosterone, mineralocorticoid receptors and vascular inflammation.

Mol. Cell Endocrinol., 2004, 217, 263-269.

GARG U.C. et HASSID A.

Nitric oxide-generating vasodilators and 8-bromo-cyclic guanosine monophosphate inhibit mitogenesis and proliferation of cultured rat vascular smooth muscle cells.

Journal of Clinical Investigation, 1989, 83, 1774-1777.

GEISTERFER A.A.T., PEACH M.J. et OWENS G.K.

Angiotensin II induces hypertrophy, not hyperplasia, of cultured rat aortic smooth muscle cells.

Circ. Res., 1988, 62, 749-756.

GEKLE M., FREUNDINGER R., MILDENBERGER S., SCHENK K., MARSCHITZ I. et SCHRAMEK H.

Rapid activation of Na+/H+-exchange in MDCK cells by aldosterone involves MAP-kinase ERK1/2.

Pflügers Arch., 2001, 441, 781-786.

GHONEIM S., RAPP J.P., MARK A.L. et BAUMBACH G.L.

Remodeling of cerebral arterioles in Dahl S/JR hypertensive rats.

FASEB J., 1995, 9, A52 (abstract).

GLASSFORD E., D'SILVA M., GHORAB H., BAI S., LEE S.U., MOOSSA A.R. et LEE S.

Arterialization of the liver. II. Systemic pressure gradients in rats following variously sized arteriovenous fistulae.

Microsurg, 1990, 11, 177-183.

GOHLKE P., PEES C. et UNGER T.

AT2 receptor stimulation increases aortic cyclic GMP in SHRSP by a kinin-dependent mechanism.

Hypertension, 1998, 31, 349-355.

GRIENDLING K.K., RITTENHOUSE S.E., BROCK T.A., EKSTEIN L.S., GIMBRONE M.A. et ALEXANDER R.W.

Sustained diacylglycerol formation from inositol phospholipids in angiotensin II-stimulated vascular smooth muscle cells.

J. Biol. Chem., 1986, 261, 5901-5916.

GRIENDLING K.K., MINIERI C.A., OLLERENSHAW J.D. et ALEXANDER R.W.

Angiotensin II stimulates NADH and NADPH oxidase activity in cultured vascular smooth muscle cells.

Circ. Res., 1994, 74, 1141-1148.

GRIENDLING K.K. et USHIO-FUKAI M.

Reactive oxygen species as mediators of angiotensin II signaling.

Regul. Pept., 2000, 91, 21-27.

GRIFFIN S.A., BROWN W.C., MACPHERSON F., MCGRATH J.C., WILSON V.G., KORSGAARD N., MULVANY M.J. et LEVER A.F.

Angiotensin II causes vascular hypertrophy in part by a non-pressor mechanism.

Hypertension, 1991, 17, 626-635.

GUO D.F., TARDIF V., GHELIMA K., CHAN J.S.D., INGELFINGER J.R., CHEN X.M. et CHENIER I.

A novel angiotensin II type 1 receptor-associated protein induces cellular hypertrophy in rat vascular smooth muscle and renal proximal tubular cells.

J. Biol. Chem., 2004, 279, 21109-21120.

GUYTON A.C.

Dominant role of the kidneys in long-term regulation of arterial pressure and in hypertension: the integrated system for pressure control

In: Textbook of Medical Physiology / ed. par WONSIEWICZ M.J.

Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1991. p.

HAFKENSCHIEL J.H., CRUMPTON C.W. et FRIEDLAND C.K.

Cerebral oxygen consumption in essential hypertension; constancy with age, severity of the disease, sex, and variations of blood constituents, as observed in 101 patients.

Journal of Clinical Investigation, 1954, 33, 63-68.

HAJDU M.A., HEISTAD D.D., SIEMS J.E. et BAUMBACH G.L.

Effects of aging on mechanics and composition of cerebral arterioles in rats.

Circ. Res., 1990, 66, 1747-1754.

HAJDU M.A., HEISTAD D.D. et BAUMBACH G.L.

Effects of antihypertensive therapy on mechanics of cerebral arterioles in rats.

Hypertension, 1991, 17, 308-316.

HAJDU M.A. et BAUMBACH G.L.

Mechanics of large and small cerebral arteries in chronic hypertension.

Am. J. Physiol., 1994, 266, H1027-H1033.

HAN Y., RUNGE M.S. et BRASIER A.R.

Angiotensin II induces interleukin-6 transcription in vascular smooth muscle cells through pleiotropic activation of nuclear factor-kappa B transcription factors.

Circ. Res., 1999, 84, 695-703.

HARDER D.R., SANCHEZ-FERRER C., KAUSER K., STEKIEL W.J. et RUBANYI G.M.

Pressure releases a transferable endothelial contractile factor in cat cerebral arteries.

Circ. Res., 1989, 65, 193-198.

HARPER S.L., BOHLEN H.G. et RUBIN M.J.

Arterial and microvascular contributions to cerebral cortical autoregulation in rats.

Am. J. Physiol., 1984, 246, H17-24.

HARPER S.L. et BOHLEN H.G.

Microvascular adaptation in the cerebral cortex of adult spontaneously hypertensive rats.

Hypertension, 1984, 6, 408-419.

HART M.N., HEISTAD D.D. et BRODY M.J.

Effect of chronic hypertension and sympathetic denervation on wall/lumen ratio of cerebral vessels.

Hypertension, 1980, 2, 419-423.

HASEROTH K., GERDES D., BERGER S., FEURING M., GUNTHER A., HERBST C., CHRIST M. et WEHLING M.

Rapid nongenomic effects of aldosterone in mineralocorticoid-receptor-knockout mice.

Biochem. Biophys. Res. Commun, 1999, 266, 257-261.

HATAKEYAMA H., MIYAMORI I., FUJITA T., TAKEDA Y., TAKEDA R. et YAMAMOTO H.

Vascular aldosterone. Biosynthesis and a link to angiotensin II-induced hypertrophy of vascular smooth muscle cells.

J. Biol. Chem., 1994, 269, 24316-24320.

HAUNSTETTER A. et IZUMO S.

Apoptosis: basic mechanisms and implications for cardiovascular disease.

Circ. Res., 1998, 82, 1111-1129.

HEAGERTY A.M., AALKJAER C., BUND S.J., KORSGAARD N. et MULVANY M.J.

Small artery structure in hypertension; dual processes of remodeling and growth.

Hypertension, 1993, 21, 391-397.

HEIN M., FISCHER J., KIM D.K., HEIN L. et PRATT R.E.

Vascular smooth muscle cell phenotype influences glycosaminoglycan composition and growth effects of extracellular matrix.

J. Vasc. Res., 1996, 33, 433-441.

HENRION D., KUBIS N. et LEVY B.I.

Physiological and pathophysiological functions of the AT(2) subtype receptor of angiotensin II: from large arteries to the microcirculation.

Hypertension, 2001, 38, 1150-1157.

HERNANDEZ-PRESA M., BUSTOS C., ORTEGO M., TUNON J., RENEDO G., RUIZ-ORTEGA M. et EGIDO J.

Angiotensin-converting enzyme inhibition prevents arterial nuclear factor-kappa B activation, monocyte chemoattractant protein-1 expression, and macrophage infiltration in a rabbit model of early accelerated atherosclerosis.

Circulation, 1997, 95, 1532-1541.

HILGERS K.F., PETERS J., VEELKEN R., SOMMER M., RUPPRECHT G., GANTEN D., LUFT F.C. et MANN J.F.

Increased vascular angiotensin formation in female rats harboring the mouse Ren-2 gene.

Hypertension, 1992, 19, 687-691.

HIRATA Y., TAKAGI Y., FUKUDA Y. et MARUMO F.

Endothelin is a potent mitogen for rat vascular smooth muscle cells.

Atherosclerosis, 1989, 78, 225-228.

HOFFMAN W.E., ALBRECHT R.F. et MILETICH D.J.

The influence of aging and hypertension on cerebral autoregulation.

Brain. Res., 1981, 214, 196-199.

HONG K.W., PYO K.M., LEE W.S., YU S.S. et RHIM B.Y.

Pharmacological evidence that calcitonin gene-related peptide is implicated in cerebral autoregulation.

Am. J. Physiol., 1994, 266, H11-16.

HORIUCHI M., HAYASHIDA W., KAMBE T., YAMADA T. et DZAU V.J.

Angiotensin type 2 receptor dephosphorylates Bcl-2 by activating mitogen-activated protein kinase phosphatase-1 and induces apoptosis.

J. Biol. Chem., 1997, 272, 19022-19026.

HORIUCHI M., AKISHITA M. et DZAU V.J.

Recent progress in angiotensin II type 2 receptor research in the cardiovascular system.

Hypertension, 1999, 33, 613-621.

HOU G., MULHOLLAND D., GRONSKA M.A. et BENDECK M.P.

Type VIII collagen stimulates smooth muscle cell migration and matrix metalloproteinase synthesis after arterial injury.

Am. J. Pathol., 2000, 156, 467-476.

HSUEH W.A., DO Y.S., ANDERSON P.W. et LAW R.E.

Angiotensin II in cell growth and matrix production.

Adv. Exp. Med. Biol., 1995, 377, 217-223.

HURN P.D. et TRAYSTMAN R.J.

Overview of cerebrovascular hemodynamics.

In: Primer on cerebrovascular diseases / ed. par WELCH K.M.A., CAPLAN L.R., REIS D.J., SIESJÖ B.K. et WEIR B.

San Diego: Academic Press, 1997. p. 42-44.

ICHIHARA S., SENBONMATSU T., PRICE E.J., ICHIKI T., GAFFNEY F.A. et INAGAMI T.

Angiotensin II type 2 receptor is essential for left ventricular hypertrophy and cardiac fibrosis in chronic angiotensin II-induced hypertension.

Circulation, 2001, 104, 346-351.

ICHIJIMA K.

Morphological studies on the peripheral small arteries of spontaneously hypertensive rats.

Jpn. Circ. J., 1969, 33, 785-813.

INTENGAN H.D., THIBAULT G., LI J.S. et SCHIFFRIN E.L.

Resistance artery mechanics, structure, and extracellular components in spontaneously hypertensive rats : effects of angiotensin receptor antagonism and converting enzyme inhibition.

Circulation, 1999, 100, 2267-2275.

INTENGAN H.D. et SCHIFFRIN E.L.

Collagen degradation is diminished in mesenteric arteries of spontaneously hypertensive rats after hypertension is established.

Hypertension, 1999, 34, 329 (Abstract).

INTENGAN H.D. et SCHIFFRIN E.L.

Structure and mechanical properties of resistance arteries in hypertension: role of adhesion molecules and extracellular matrix determinants.

Hypertension, 2000, 36, 312-318.

INTENGAN H.D. et SCHIFFRIN E.L.

Vascular remodeling in hypertension: roles of apoptosis, inflammation, and fibrosis.

Hypertension, 2001, 38, 581-587.

ISHIBASHI M., HIASA K., ZHAO Q., INOUE S., OHTANI K., KITAMOTO S., TSUCHIHASHI M., SUGAYA T., CHARO I.F., KURA S., *et al.*

Critical role of monocyte chemoattractant protein-1 receptor CCR2 on monocytes in hypertension-induced vascular inflammation and remodeling.

Circ. Res., 2004, 94, 1203-1210.

ISHIDA M., MARRERO M.B., SCHIEFFER B., ISHIDA T., BERNSTEIN K.E. et BERK B.C.

Angiotensin II activates pp60c-src in vascular smooth muscle cells.

Circ. Res., 1995, 77, 1053-1059.

ISHITSUKA T., IADECOLA C., UNDERWOOD M.D. et REIS D.J.

Lesions of nucleus tractus solitarii globally impair cerebrovascular autoregulation.

Am. J. Physiol., 1986, 251, H269-281.

ITO M., OLIVERIO M.I., MANNON P.J., BEST C.F., MAEDA N., SMITHIES O. et COFFMAN T.M.

Regulation of blood pressure by the type 1A angiotensin II receptor gene.

Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 1995, 92, 3521-3525.

IWAI N. et INAGAMI T.

Identification of two subtypes in the rat type I angiotensin II receptor.

FEBS Lett., 1992, 298, 257-260.

IWAO H., NAKAMURA N., KIM S., IKEMOTO F., YAMAMOTO K. et SCHLAGER G.

Renin-angiotensin system in genetically hypertensive mice.

Jpn. Circ. J., 1984, 48, 1270-1279.

JACOBSON M.D., WEIL M. et RAFF M.C.

Programmed cell death in animal development.

Cell, 1997, 88, 347-354.

JARDEN J.O., BARRY D.I., JUHLER M., GRAHAM D.I., STRANDGAARD S. et PAULSON O.B.

Cerebrovascular aspects of converting-enzyme inhibition II: Blood-brain barrier permeability and effect of intracerebroventricular administration of captopril.

J. Hypertens., 1984, 2, 599-604.

JESMIN S., SAKUMA I., HATTORI Y. et KITABATAKE A.

Role of angiotensin II in altered expression of molecules responsible for coronary matrix remodeling in insulin-resistant diabetic rats.

Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol., 2003, 23, 2021-2026.

JIAN B., JONES P.L., LI Q., MOHLER E.R.R., SCHOEN F.J. et LEVY R.J.

Matrix metalloproteinase-2 is associated with tenascin-C in calcific aortic stenosis.

Am. J. Pathol., 2001, 159, 321-327.

JONES F.S. et JONES P.L.

The tenascin family of ECM glycoproteins: structure, function, and regulation during embryonic development and tissue remodeling.

Dev. Dyn., 2000, 218, 235-259.

JONES J.V., FITCH W., MACKENZIE E.T., STRANDGAARD S. et HARPER A.M.

Lower limit of cerebral blood flow autoregulation in experimental renovascular hypertension in the baboon.

Circ. Res., 1976, 39, 555-557.

JONES P.L., JONES F.S., ZHOU B. et RABINOVITCH M.

Induction of vascular smooth muscle cell tenascin-C gene expression by denatured type I collagen is dependent upon a beta3 integrin-mediated mitogen-activated protein kinase pathway and a 122-base pair promoter element.

J. Cell Sci., 1999a, 112, 435-445.

JONES S.C., RADINSKY C.R., FURLAN A.J., CHYATTE D. et PEREZ-TREPICHIO A.D.

Cortical NOS inhibition raises the lower limit of cerebral blood flow-arterial pressure autoregulation.

Am. J. Physiol., 1999b, 276, H1253-1262.

KAGAMI S., KUHARA T., OKADA K., KURODA Y., BORDER W.A. et NOBLE N.A.

Dual effects of angiotensin II on the plasminogen/plasmin system in rat mesangial cells.

Kidney Int., 1997, 51, 664-671.

KATO H., SUZUKI H., TAJIMA S., OGATA Y., TOMINAGA T., SATO A. et SARUTA T.

Angiotensin II stimulates collagen synthesis in cultured vascular smooth muscle cells.

J. Hypertens., 1991, 9, 17-22.

KATO H., HOU J., CHOBANIAN A.V. et BRECHER P.

Effects of angiotensin II infusion and inhibition of nitric oxide synthase on the rat aorta.

Hypertension, 1996, 28, 153-158.

KATUSIC Z.S., SHEPHERD J.T. et VANHOUTTE P.M.

Endothelium-dependent contraction to stretch in canine basilar arteries.

Am. J. Physiol., 1987, 252, H671-H673.

KAWANO H., CODY R.J., GRAF K., GOETZE S., KAWANO Y., SCHNEE J., LAW R.E. et HSUEH W.A.

Angiotensin II enhances integrin and alpha-actinin expression in adult rat cardiac fibroblasts.

Hypertension, 2000, 35, 273-279.

KERR J.F., WYLLIE A.H. et CURRIE A.R.

Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics.

Br. J. Cancer., 1972, 26, 239-257.

KIM D.K., KIM J.W., KIM S., GWON H.C., RYU J.C., HUH J.E., CHOO J.A., CHOI Y., RHEE C.H. et LEE W.R.

Polymorphism of angiotensin converting enzyme gene is associated with circulating levels of plasminogen activator inhibitor-1.

Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol., 1997, 17, 3242-3247.

KIM S., OHTA K., HAMAGUCHI A., OMURA T., YUKIMURA T., MIURA K., INADA Y., ISHIMURA Y., CHATANI F. et IWAO H.

Angiotensin II type I receptor antagonist inhibits the gene expression of transforming growth factor-beta 1 and extracellular matrix in cardiac and vascular tissues of hypertensive rats.

J. Pharmacol. Exp. Ther., 1995, 273, 509-515.

KITAZONO T., HEISTAD D.D. et FARACI F.M.

Role of ATP-sensitive K+ channels in CGRP-induced dilatation of basilar artery in vivo.

Am. J. Physiol., 1993, 265, H581-585.

KNOT H.J. et NELSON M.T.

Regulation of arterial diameter and wall [Ca2+] in cerebral arteries of rat by membrane potential and intravascular pressure.

J. Physiol., 1998, 508, 199-209.

KOBARI M., FUKUUCHI Y., TOMITA M., TANAHASHI N. et TAKEDA H.

Role of nitric oxide in regulation of cerebral microvascular tone and autoregulation of cerebral blood flow in cats.

Brain. Res., 1994, 667, 255-262.

KONTOS H.A., WEI E.P., RAPER A.J., ROSENBLUM W.I., NAVARI R.M. et PATTERSON J.L.

Role of tissue hypoxia in local regulation of cerebral microcirculation.

Am. J. Physiol., 1978a, 234, H582-H591.

KONTOS H.A., WEI E.P., NAVARI R.M., LEVASSEUR J.E., ROSENBLUM W.I. et PATTERSON J.L.

Responses of cerebral arteries and arterioles to acute hypotension and hypertension.

Am. J. Physiol., 1978b, 234, H371-H383.

KONTOS H.A., WEI E.P., DIETRICH W.D., NAVARI R.M., POVLISHOCK J.T., GHATAK N.R., ELLIS E.F. et PATTERSON J.L.

Mechanism of cerebral arteriolar abnormalities after acute hypertension.

Am. J. Physiol., 1981, 240, H511-H527.

KONTOS H.A.

George E. Brown memorial lecture. Oxygen radicals in cerebral vascular injury.

Circ. Res., 1985, 57, 508-516.

KORNER P.I., SHAW J., UTHER J.B., WEST M.J., MCRITCHIE R.J. et RICHARDS J.G.

Autonomic and non-autonomic circulatory components in essential hypertension in man.

Circulation, 1973, 48, 107-117.

KORSGAARD N. et MULVANY M.J.

Cellular hypertrophy in mesenteric resistance vessels from renal hypertensive rats.

Hypertension, 1988, 12, 162-167.

KORSGAARD N., AALKJAER C., HEAGERTY A.M., IZZARD A.S. et MULVANY M.J.

Histology of subcutaneous small arteries from patients with essential hypertension.

Hypertension, 1993, 22, 523-526.

KOYANAGI M., EGASHIRA K., KITAMOTO S., NI W., SHIMOKAWA H., TAKEYA M., YOSHIMURA T. et TAKESHITA A.

Role of monocyte chemoattractant protein-1 in cardiovascular remodeling induced by chronic blockade of nitric oxide synthesis.

Circulation, 2000, 102, 2243-2248.

KRANZHÖFER R., SCHMIDT J., PFEIFFER C.A., HAGL S., LIBBY P. et KUBLER W.

Angiotensin induces inflammatory activation of human vascular smooth muscle cells.

Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol., 1999, 19, 1623-1629.

KUNES J., HOJNA S., KADLECOVA M., DOBESOVA Z., RAUCHOVA H., VOKURKOVA M., LOUKOTOVA J., PECHANOVA O. et ZICHA J.

Altered balance of vasoactive systems in experimental hypertension: the role of relative NO deficiency.

Physiol. Res., 2004, 53, S23-S34.

KUSCHINSKY W. et WAHL M.

Local chemical and neurogenic regulation of cerebral vascular resistance.

Physiol. Rev., 1978, 58, 656-689.

LAKKIS J., LU W.X. et WEIR M.R.

RAAS escape: a real clinical entity that may be important in the progression of cardiovascular and renal disease.

Curr. Hypertens. Rep., 2003, 5, 408-417.

LARIVIÈRE R., THIBAULT G. et SCHIFFRIN E.L.

Increased endothelin-1 content in blood vessels of deoxycorticosterone acetate-salt hypertensive but not in spontaneously hypertensive rats.

Hypertension, 1993a, 21, 294-300.

LARIVIÈRE R., DAY R. et SCHIFFRIN E.L.

Increased expression of endothelin-1 gene in blood vessels of deoxycorticosterone acetate-salt hypertensive rats.

Hypertension, 1993b, 21, 916-920.

LARTAUD I., BRAY DES BOSCS L., CHILLON J.M., ATKINSON J. et CAPDEVILLE-ATKINSON C.

In vivo cerebrovascular reactivity in Wistar and Fischer 344 rat strains during aging.

Am. J. Physiol., 1993, 264, H851-858.

LASSEGUE B., ALEXANDER R.W., CLARK M., AKERS M. et GRIENDLING K.K.

Phosphatidylcholine is a major source of phosphatidic acid and diacylglycerol in angiotensin II-stimulated vascular smooth-muscle cells.

Biochem. J., 1993, 292, 509-517.

LAUFS U. et LIAO J.K.

Targeting Rho in cardiovascular disease.

Circ. Res., 2000, 87, 526-528.

LEE M.A., BÖHM M., PAUL M., BADER M., GANTEN U. et GANTEN D.

Physiological characterization of the hypertensive transgenic rat TGR(mREN2)27.

Am. J. Physiol., 1996, 270, E919-E929.

LEE R.M., FORREST J.B., GARFIELD R.E. et DANIEL E.E.

Ultrastructural changes in mesenteric arteries from spontaneously hypertensive rats: a morphometric study.

Blood Vessels, 1983a, 20, 72-91.

LEE R.M., GARFIELD R.E., FORREST J.B. et DANIEL E.E.

Morphometric study of structural changes in the mesenteric blood vessels of spontaneously hypertensive rats.

Blood Vessels, 1983b, 20, 57-71.

LEE R.M.

Vascular changes at the prehypertensive phase in the mesenteric arteries from spontaneously hypertensive rats.

Blood Vessels, 1985, 22, 105-126.

LEENEN F.H., SCHEEREN J.W., OMYLANOWSKI D., ELEMA J.D., VAN DER WAL B. et DE JONG W.

Changes in the renin-angiotensin-aldosterone system and in sodium and potassium balance during development of renal hypertension in rats.

Clin. Sci. Mol. Med., 1975, 48, 17-26.

LEHOUX S., LEMARIE C.A., ESPOSITO B., LIJNEN H.R. et TEDGUI A.

Pressure-induced matrix metalloproteinase-9 contributes to early hypertensive remodeling.

Circulation, 2004, 109, 1041-1047.

LEUNG D.Y., GLAGOV S. et MATHEWS M.B.

Cyclic stretching stimulates synthesis of matrix components by arterial smooth muscle cells in vitro.

Science, 1976, 191, 475-477.

LEUNG P.S.

The peptide hormone angiotensin II: its new functions in tissues and organs.

Curr. Protein Pept. Sci., 2004, 5, 267.

LEVY B.I., BENESSIANO J., HENRION D., CAPUTO L., HEYMES C., DURIEZ M., POITEVIN P. et SAMUEL J.L.

Chronic blockade of AT2-subtype receptors prevents the effect of angiotensin II on the rat vascular structure.

J. Clin. Invest., 1996, 98, 418-425.

LEVY B.I.

Can angiotensin II type 2 receptors have deleterious effects in cardiovascular disease? Implications for therapeutic blockade of the renin-angiotensin system.

Circulation, 2004, 109, 8-13.

LI J.S., LARIVIÈRE R. et SCHIFFRIN E.L.

Effect of a nonselective endothelin antagonist on vascular remodeling in deoxycorticosterone acetate-salt hypertensive rats. Evidence for a role of endothelin in vascular hypertrophy.

Hypertension, 1994, 24, 183-188.

LI J.S. et SCHIFFRIN E.L.

Effect of chronic treatment of adult spontaneously hypertensive rats with an endothelin receptor antagonist.

Hypertension, 1995, 25, 495-500.

LI J.S., KNAFO L., TURGEON A., GARCIA R. et SCHIFFRIN E.L.

Effect of endothelin antagonism on blood pressure and vascular structure in renovascular hypertensive rats.

Am. J. Physiol., 1996, 271, H88-H93.

LIU S.L., SCHMUCK S., CHORAZCYZEWSKI J.Z., GROS R. et FELDMAN R.D.

Aldosterone regulates vascular reactivity: short-term effects mediated by phosphatidylinositol 3-kinase-dependent nitric oxide synthase activation.

Circulation, 2003, 108, 2400-2406.

LOSEL R., SCHULTZ A., BOLDYREFF B. et WEHLING M.

Rapid effects of aldosterone on vascular cells: clinical implications.

Steroids, 2004, 69, 575-578.

LUCIUS R., GALLINAT S., BUSCHE S., ROSENSTIEL P. et UNGER T.

Beyond blood pressure: new roles for angiotensin II.

Cell. Mol. Life Sci., 1999, 56, 1008-1019.

LUNDGREN Y., HALLBÄCK M., WEISS L. et FOLKOW B.

Rate and extent of adaptive cardiovascular changes in rats during experimental renal hypertension.

Acta Physiol. Scand., 1974, 91, 103-115.

MACFADYEN R.J., LEE A.F., MORTON J.J., PRINGLE S.D. et STRUTHERS A.D.

How often are angiotensin II and aldosterone concentrations raised during chronic ACE inhibitor treatment in cardiac failure?

Heart, 1999, 82, 57-61.

MAJNO G. et JORIS I.

Apoptosis, oncosis, and necrosis. An overview of cell death.

Am. J. Pathol., 1995, 146, 3-15.

MANGELSDORF D.J., THUMMEL C., BEATO M., HERRLICH P., SCHUTZ G., UMESONO K., BLUMBERG B., KASTNER P., MARK M. et CHAMBON P.

The nuclear receptor superfamily: the second decade.

Cell, 1995, 83, 835-839.

MANO A., TATSUMI T., SHIRAISHI J., KEIRA N., NOMURA T., TAKEDA M., NISHIKAWA S., YAMANAKA S., MATOBA S., KOBARA M., *et al.*

Aldosterone directly induces myocyte apoptosis through calcineurin-dependent pathways.

Circulation, 2004, 110, 317-323.

MARRERO M.B., SCHIEFFER B., PAXTON W.G., DUFF J.L., BERK B.C. et BERNSTEIN K.E.

The role of tyrosine phosphorylation in angiotensin II-mediated intracellular signalling.

Cardiovasc. Res., 1995a, 30, 530-536.

MARRERO M.B., SCHIEFFER B., PAXTON W.G., HEERDT L., BERK B.C., DELAFONTAINE P. et BERNSTEIN K.E.

Direct stimulation of Jak/STAT pathway by the angiotensin II AT1 receptor.

Nature, 1995b, 375, 247-250.

MARTINEZ-LEMUS L.A., WU X., WILSON E., HILL M.A., DAVIS G.E., DAVIS M.J. et MEININGER G.A.

Integrins as unique receptors for vascular control.

J. Vasc. Res., 2003, 40, 211-233.

MARTINEZ-ORGADO J., GONZALEZ R., ALONSO M.J., RODRIGUEZ-MARTINEZ M.A., SANCHEZ-FERRER C.F. et MARIN J.

Endothelial factors and autoregulation during pressure changes in isolated newborn piglet cerebral arteries.

Pediatr. Res., 1998, 44, 161-167.

MAYHAN W.G., FARACI F.M. et HEISTAD D.D.

Impairment of endothelium-dependent responses of cerebral arterioles in chronic hypertension.

Am. J. Physiol., 1987, 253, H1435-H1440.

MAZZOLAI L., MAILLARD M., ROSSAT J., NUSSBERGER J., BRUNNER H.R. et BURNIER M.

Angiotensin II receptor blockade in normotensive subjects: A direct comparison of three AT1 receptor antagonists.

Hypertension, 1999, 33, 850-855.

MCCARRON J.G., OSOL G. et HALPERN W.

Myogenic responses are independent of the endothelium in rat pressurized posterior cerebral arteries.

Blood Vessels, 1989, 26, 315-319.

MCCULLOCH J. et EDVINSSON L.

Cerebrovascular smooth muscle reactivity: a critical appraisal of in vitro and in situ techniques.

J. Cereb. Blood Flow Metab., 1984, 4, 129-139.

MCPHERSON R.W., KOEHLER R.C. et TRAYSTMAN R.J.

Effect of jugular venous pressure on cerebral autoregulation in dogs.

Am. J. Physiol., 1988, 255, H1516-1524.

MEIER P., FINCH A. et EVAN G.

Apoptosis in development.

Nature, 2000, 407, 796-801.

MERRILL D.C., THOMPSON M.W., CARNEY C.L., GRANWEHR B.P., SCHLAGER G., ROBILLARD J.E. et SIGMUND C.D.

Chronic hypertension and altered baroreflex responses in transgenic mice containing the human renin and human angiotensinogen genes.

Journal of Clinical Investigation, 1996, 97, 1047-1055.

MICKLE J.P., MENGES J.T., DAY A.L., QUISLING R. et BALLINGER W.

Experimental aortocaval fistulae in rats.

J Microsurg, 1981, 2, 283-288.

MILNOR W.R.

Properties of the vascular wall.

In: Hemodynamics, second edition / ed. par COLLINS N., ECKHART C. et HYATT-BLANKMAN S.

Baltimore: Williams & Wilkins, 1989. p. 58-101.

MOREAU P., TAKASE H., KUNG C.F. et LUSCHER T.F.

Effect of chronic inhibition of nitric oxide synthesis on vascular structure: remodeling or growth?

Arch. Mal. Coeur Vaiss., 1995a, 88, 1141-1143.

MOREAU P., TAKASE H., KUNG C.F., VAN ROOIJEN M.M., SCHAFFNER T. et LUSCHER T.F.

Structure and function of the rat basilar artery during chronic nitric oxide synthase inhibition.

Stroke, 1995b, 26, 1922-1928.

MOREAU P., TAKASE H., D'USCIO L.V. et LUSCHER T.F.

Effect of chronic nitric oxide deficiency on angiotensin II-induced hypertrophy of rat basilar artery.

Stroke, 1998, 29, 1031-1035.

MORGAN L., BROUGHTON PIPKIN F. et KALSHEKER N.

Angiotensinogen: molecular biology, biochemistry and physiology.

Int. J. Biochem. Cell Biol., 1996, 28, 1211-1222.

MORIGUCHI A., BROSNIHAN K.B., KUMAGAI H., GANTEN D. et FERRARIO C.M.

Mechanisms of hypertension in transgenic rats expressing the mouse Ren-2 gene.

Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol., 1994, 266, R1273-R1279.

MORITA Y., HARDEBO J.E. et BOUSKELA E.

Influence of cerebrovascular parasympathetic nerves on resting cerebral blood flow, spontaneous vasomotion, autoregulation, hypercapnic vasodilation and sympathetic vasoconstriction.

J. Auton. Nerv. Syst., 1994, 49, S9-S14.

MORRIS R.G., GARRUD P., RAWLINS J.N. et O'KEEFE J.

Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions.

Nature, 1982, 297, 681-683.

MORRIS R.G.

Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat.

J. Neurosci. Methods, 1984, 11, 47-60.

MUELLER S.M., HEISTAD D.D. et MARCUS M.L.

Total and regional cerebral blood flow during hypotension, hypertension, and hypocapnia. Effect of sympathetic denervation in dogs.

Circ. Res., 1977, 41, 350-356.

MUKOYAMA M., NAKAJIMA M., HORIUCHI M., SASAMURA H., PRATT R.E. et DZAU V.J.

Expression cloning of type 2 angiotensin II receptor reveals a unique class of seven-transmembrane receptors.

J. Biol. Chem., 1993, 268, 24539-24542.

MULLINS J.J., PETERS J. et GANTEN D.

Fulminant hypertension in transgenic rats harbouring the mouse Ren-2 gene.

Nature, 1990, 344, 541-544.

MULVANY M.J., BAANDRUP U. et GUNDERSEN H.J.

Evidence for hyperplasia in mesenteric resistance vessels of spontaneously hypertensive rats using a three-dimensional disector.

Circ. Res., 1985, 57, 794-800.

MULVANY M.J., BAUMBACH G.L., AALKJAER C., HEAGERTY A.M., KORSGAARD N., SCHIFFRIN E.L. et HEISTAD D.D.

Vascular remodeling: Letter to the editor.

Hypertension, 1996, 28, 505-506.

MULVANY M.J.

Small artery remodeling and significance in the development of hypertension.

News Physiol. Sci., 2002, 17, 105-109.

MURPHY T.J., ALEXANDER R.W., GRIENDLING K.K., RUNGE M.S. et BERNSTEIN K.E.

Isolation of a cDNA encoding the vascular type-1 angiotensin II receptor.

Nature, 1991, 351, 233-236.

NAFTILAN A.J., ZUO W.M., INGLEFINGER J., RYAN T.J.J., PRATT R.E. et DZAU V.J.

Localization and differential regulation of angiotensinogen mRNA expression in the vessel wall.

Journal of Clinical Investigation, 1991, 87, 1300-1311.

NAG S.

Immunohistochemical localization of extracellular matrix proteins in cerebral vessels in chronic hypertension.

J. Neuropathol. Exp. Neurol., 1996, 55, 381-388.

NAG S. et KILTY D.W.

Cerebrovascular changes in chronic hypertension. Protective effects of enalapril in rats.

Stroke, 1997, 28, 1028-1034.

NAKAZONO K., WATANABE N., MATSUNO K., SASAKI J., SATO T. et INOUE M.

Does superoxide underlie the pathogenesis of hypertension?

Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 1991, 88, 10045-10048.

NELSON M.T. et QUAYLE J.M.

Physiological roles and properties of potassium channels in arterial smooth muscle.

Am. J. Physiol., 1995, 268, C799-822.

NEW D.I., CHESSER A.M., THURAISINGHAM R.C. et YAQOOB M.M.

Structural remodeling of resistance arteries in uremic hypertension.

Kidney Int., 2004, 65, 1818-1825.

NGAI A.C. et WINN H.R.

Effects of adenosine and its analogues on isolated intracerebral arterioles. Extraluminal and intraluminal application.

Circ. Res., 1993, 73, 448-457.

NISHIMURA H., TSUJI H., MASUDA H., NAKAGAWA K., NAKAHARA Y., KITAMURA H., KASAHARA T., SUGANO T., YOSHIZUMI M., SAWADA S., *et al.*

Angiotensin II increases plasminogen activator inhibitor-1 and tissue factor mRNA expression without changing that of tissue type plasminogen activator or tissue factor pathway inhibitor in cultured rat aortic endothelial cells.

Thromb. Haemost., 1997, 77, 1189-1195.

OLIVERIO M.I., BEST C.F., KIM H.S., ARENDSHORST W.J., SMITHIES O. et COFFMAN T.M.

Angiotensin II responses in AT1A receptor-deficient mice: a role for AT1B receptors in blood pressure regulation.

Am. J. Physiol., 1997, 272, F515-F520.

OLIVERIO M.I., KIM H.S., ITO M., LE T., AUDOLY L., BEST C.F., HILLER S., KLUCKMAN K., MAEDA N., SMITHIES O., *et al.*

Reduced growth, abnormal kidney structure, and type 2 (AT2) angiotensin receptor-mediated blood pressure regulation in mice lacking both AT1A and AT1B receptors for angiotensin II.

Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 1998, 95, 15496-15501.

OLIVERIO M.I., BEST C.F., SMITHIES O. et COFFMAN T.M.

Regulation of sodium balance and blood pressure by the AT(1A) receptor for angiotensin II.

Hypertension, 2000, 35, 550-554.

OLIVETTI G., ANVERSA P., MELISSARI M. et LOUD A.V.

Morphometry of medial hypertrophy in the rat thoracic aorta.

Lab. Invest., 1980, 42, 559-565.

OSOL G. et HALPERN W.

Myogenic properties of cerebral blood vessels from normotensive and hypertensive rats.

Am. J. Physiol., 1985, 249, H914-921.

OSPINA J.A., BREVIG H.N., KRAUSE D.N. et DUCKLES S.P.

Estrogen suppresses IL-1beta-mediated induction of COX-2 pathway in rat cerebral blood vessels.

Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol., 2004, 286, H2010-H2019.

OWENS G.K., RABINOVITCH P.S. et SCHWARTZ S.M.

Smooth muscle cell hypertrophy versus hyperplasia in hypertension.

Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 1981, 78, 7759-7763.

OWENS G.K. et SCHWARTZ S.M.

Alterations in vascular smooth muscle mass in the spontaneously hypertensive rat: role of cellular hypertrophy, hyperploidy, and hyperplasia.

Circ. Res., 1982, 51, 280-289.

OWENS G.K., SCHWARTZ S.M. et MCCANNA M.

Evaluation of medial hypertrophy in resistance vessels of spontaneously hypertensive rats.

Hypertension, 1988, 11, 198-207.

PAPAKONSTANTINOU E., ROTH M., KOKKAS B., PAPADOPOULOS C. et KARAKIULAKIS G.

Losartan inhibits the angiotensin II-induced modifications on fibrinolysis and matrix deposition by primary human vascular smooth muscle cells.

J. Cardiovasc. Pharmacol., 2001, 38, 715-728.

PAQUET J.L., BAUDOUIN-LEGROS M., BRUNELLE G. et MEYER P.

Angiotensin II-induced proliferation of aortic myocytes in spontaneously hypertensive rats.

J. Hypertens., 1990, 8, 565-572.

PARDRIDGE W.M.

Blood-brain barrier transport mechanisms.

In: Primer on cerebrovascular diseases / ed. par WELCH K.M.A., CAPLAN L.R., REIS D.J., SIESJÖ B.K. et WEIR B.

San Diego: Academic Press, 1997. p. 21-25.

PATERNO R., HEISTAD D.D. et FARACI F.M.

Potassium channels modulate cerebral autoregulation during acute hypertension.

Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol., 2000, 278, H2003-2007.

PAULSON O.B., STRANDGAARD S. et EDVINSSON L.

Cerebral autoregulation.

Cerebrovasc. Brain Metab. Rev., 1990, 2, 161-192.

PEDRAM A., RAZANDI M., AITKENHEAD M., HUGHES C.C. et LEVIN E.R.

Integration of the non-genomic and genomic actions of estrogen. Membrane-initiated signaling by steroid to transcription and cell biology.

J. Biol. Chem., 2002, 277, 50768-50775.

PENG H.B., LIBBY P. et LIAO J.K.

Induction and stabilization of I kappa B alpha by nitric oxide mediates inhibition of NF-kappa B.

J. Biol. Chem., 1995, 270, 14214-14219.

PETRAULT O., OUK T., GAUTIER S., LAPRAIS M., GELE P., BASTIDE M. et BORDET R.

Pharmacological neutropenia prevents endothelial dysfunction but not smooth muscle functions impairment induced by middle cerebral artery occlusion.

Br. J. Pharmacol., 2005, 144, 1051-1058.

PHILLIS J.W. et DELONG R.E.

The role of adenosine in cerebral vascular regulation during reductions in perfusion pressure.

J. Pharm. Pharmacol., 1986, 38, 460-462.

PHILLIS J.W.

Adenosine in the control of the cerebral circulation.

Cerebrovasc. Brain Metab. Rev., 1989, 1, 26-54.

PORTERI E., RIZZONI D., MULVANY M.J., DE CIUCEIS C., SLEIMAN I., BOARI G.E., CASTELLANO M., MUIESAN M.L., ZANI F. et ROSEI E.A.

Adrenergic mechanisms and remodeling of subcutaneous small resistance arteries in humans.

J. Hypertens., 2003, 21, 2345-2352.

POWELL J.S., CLOZEL J.P., MULLER R.K., KUHN H., HEFTI F., HOSANG M. et BAUMGARTNER H.R.

Inhibitors of angiotensin-converting enzyme prevent myointimal proliferation after vascular injury.

Science, 1989, 245, 186-188.

PRESCOTT M.F., WEBB R.L. et REIDY M.A.

Angiotensin-converting enzyme inhibitor versus angiotensin II, AT1 receptor antagonist. Effects on smooth muscle cell migration and proliferation after balloon catheter injury.

Am. J. Pathol., 1991, 139, 1291-1296.

PROGRESS C.G.

Randomised trial of a perindopril-based blood-pressure-lowering regimen among 6,105 individuals with previous stroke or transient ischaemic attack.

Lancet, 2001, 358, 1033-1041.

PU Q., NEVES M.F., VIRDIS A., TOUYZ R.M. et SCHIFFRIN E.L.

Endothelin antagonism on aldosterone-induced oxidative stress and vascular remodeling.

Hypertension, 2003, 42, 49-55.

PUEYO M.E., ARNAL J.F., RAMI J. et MICHEL J.B.

Angiotensin II stimulates the production of NO and peroxynitrite in endothelial cells.

Am. J. Physiol., 1998, 274, C214-C220.

RASMUSSEN H., TAKUWA Y. et PARK S.

Protein kinase C in the regulation of smooth muscle contraction.

FASEB J., 1987, 1, 177-185.

RIZZONI D., PORTERI E., CASTELLANO M., BETTONI G., MUIESAN M.L., MUIESAN P., GIULINI S.M. et AGABITI-ROSEI E.

Vascular hypertrophy and remodeling in secondary hypertension.

Hypertension, 1996, 28, 785-790.

RIZZONI D., RODELLA L., PORTERI E., REZZANI R., GUEFI D., PICCOLI A., CASTELLANO M., MUIESAN M.L., BIANCHI R. et ROSEI E.A.

Time course of apoptosis in small resistance arteries of spontaneously hypertensive rats.

J. Hypertens., 2000a, 18, 885-891.

RIZZONI D., PORTERI E., GUEFI D., PICCOLI A., CASTELLANO M., PASINI G., MUIESAN M.L., MULVANY M.J. et ROSEI E.A.

Cellular hypertrophy in subcutaneous small arteries of patients with renovascular hypertension.

Hypertension, 2000b, 35, 931-935.

RIZZONI D., PORTERI E., GIUSTINA A., DE CIUCEIS C., SLEIMAN I., BOARI G.E., CASTELLANO M., MUIESAN M.L., BONADONNA S., BURATTIN A., *et al.*

Acromegalic patients show the presence of hypertrophic remodeling of subcutaneous small resistance arteries.

Hypertension, 2004, 43, 561-565.

ROCHA R., RUDOLPH A.E., FRIERDICH G.E., NACHOWIAK D.A., KEBEC B.K., BLOMME E.A., MCMAHON E.G. et DELYANI J.A.

Aldosterone induces a vascular inflammatory phenotype in the rat heart.

Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol., 2002a, 283, H1802-H1810.

ROCHA R., MARTIN-BERGER C.L., YANG P., SCHERRER R., DELYANI J.A. et MCMAHON E.G.

Selective aldosterone blockade prevents angiotensin II/salt-induced vascular inflammation in the rat heart.

Endocrinology, 2002b, 143, 4828-4836.

ROGGENDORF W., OPITZ H. et SCHUPPAN D.

Altered expression of collagen type VI in brain vessels of patients with chronic hypertension. A comparison with the distribution of collagen IV and procollagen III.

Acta Neuropathol. (Berl), 1988, 1988, 1.

ROIG E., PEREZ-VILLA F., MORALES M., JIMENEZ W., ORUS J., HERAS M. et SANZ G.

Clinical implications of increased plasma angiotensin II despite ACE inhibitor therapy in patients with congestive heart failure.

Eur. Heart J., 2000, 21, 53-57.

RUAN X. et ARENDSHORST W.J.

Calcium entry and mobilization signaling pathways in ANG II-induced renal vasoconstriction in vivo.

Am. J. Physiol., 1996, 270, F398-F405.

RUBANYI G.M., FREAY A.D., KAUSER K., JOHNS A. et HARDER D.R.

Mechanoreception by the endothelium: mediators and mechanisms of pressure- and flow-induced vascular responses.

Blood Vessels, 1990, 27, 246-257.

RUIZ-ORTEGA M., LORENZO O., RUPEREZ M., KONIG S., WITTIG B. et EGIDO J.

Angiotensin II activates nuclear transcription factor kappaB through AT(1) and AT(2) in vascular smooth muscle cells: molecular mechanisms.

Circ. Res., 2000, 86, 1266-1272.

RYAN S.M., WAACK B.J., WENO B.L. et HEISTAD D.D.

Increases in pulse pressure impair acetylcholine-induced vascular relaxation.

Am. J. Physiol., 1995, 268, H359-H363.

SADOSHIMA S., BUSIJA D., BRODY M.J. et HEISTAD D.D.

Sympathetic nerves protect against stroke in stroke-prone hypertensive rats. A preliminary report.

Hypertension, 1981, 3, I124-I127.

SCHIFFRIN E.L., LARIVIÈRE R., LI J.S., SVENTEK P. et TOUYZ R.M.

Deoxycorticosterone acetate plus salt induces overexpression of vascular endothelin-1 and severe vascular hypertrophy in spontaneously hypertensive rats.

Hypertension, 1995, 25, 769-773.

SCHIFFRIN E.L. et DENG L.Y.

Relationship between small-artery structure and systolic, diastolic and pulse pressure in essential hypertension.

J. Hypertens., 1999, 17, 381-387.

SCHIFFRIN E.L.

Role of endothelin-1 in hypertension and vascular disease.

Am. J. Hypertens., 2001, 14, 83S-89S.

SCHIFFRIN E.L.

The many targets of aldosterone.

Hypertension, 2004, 43, 938-940.

SCHUBERT R. et MULVANY M.J.

The myogenic response: established facts and attractive hypotheses.

Clin. Sci., 1999, 96, 313-326.

SENBONMATSU T., ICHIHARA S., PRICE E.J., GAFFNEY F.A. et INAGAMI T.

Evidence for angiotensin II type 2 receptor-mediated cardiac myocyte enlargement during in vivo pressure overload.

Journal of Clinical Investigation, 2000, 106, R25-R29.

SHARIFI A.M. et SCHIFFRIN E.L.

Apoptosis in aorta of deoxycorticosterone acetate-salt hypertensive rats: effect of endothelin receptor antagonism.

J. Hypertens., 1997, 15, 1441-1448.

SHARIFI A.M. et SCHIFFRIN E.L.

Apoptosis in vasculature of spontaneously hypertensive rats: effect of an angiotensin converting enzyme inhibitor and a calcium channel antagonist.

Am. J. Hypertens., 1998, 11, 1108-1116.

SHIONO K. et SOKABE H.

Renin-angiotensin system in spontaneously hypertensive rats.

Am. J. Physiol., 1976, 231, 1295-1299.

SKEGGS L.T., LENTZ K.E., GOULD A.B., HOCHSTRASSER H. et KAHN J.R.

Biochemistry and kinetics of the renin-angiotensin system.

Fed. Proc., 1967, 26, 42-47.

SKURK T., VAN HARMELEN V. et HAUNER H.

Angiotensin II stimulates the release of interleukin-6 and interleukin-8 from cultured human adipocytes by activation of NF-kappaB.

Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol., 2004, 24, 1199-1203.

SOKOLOFF L.

Anatomy of cerebral circulation.

In: Primer on cerebrovascular diseases / ed. par WELCH K.M.A., CAPLAN L.R., REIS D.J., SIESJÖ B.K. et WEIR B.

San Diego: Academic Press, 1997. p. 3-5.

SOMLYO A.P. et SOMLYO A.V.

Signal transduction by G-proteins, rho-kinase and protein phosphatase to smooth muscle and non-muscle myosin II.

J. Physiol., 2000, 522, 177-185.

ST LEZIN E., SIMONET L., PRAVENEC M. et KURTZ T.W.

Hypertensive strains and normotensive 'control' strains. How closely are they related?

Hypertension, 1992, 19, 419-424.

STEWART P.A.

Glial-vascular relations.

In: Primer on cerebrovascular diseases / ed. par WELCH K.M.A., CAPLAN L.R., REIS D.J., SIESJÖ B.K. et WEIR B.

San Diego: Academic Press, 1997. p. 17-21.

STRANDGAARD S., OLESEN J., SKINHOJ E. et LASSEN N.A.

Autoregulation of brain circulation in severe arterial hypertension.

Br. Med. J., 1973, 1, 507-510.

STRANDGAARD S., JONES J.V., MACKENZIE E.T. et HARPER A.M.

Upper limit of cerebral blood flow autoregulation in experimental renovascular hypertension in the baboon.

Circ. Res., 1975, 37, 164-167.

STRANDGAARD S.

Autoregulation of cerebral blood flow in hypertensive patients. The modifying influence of prolonged antihypertensive treatment on the tolerance to acute, drug-induced hypotension.

Circulation, 1976, 53, 720-727.

STRUTHERS A.D.

The clinical implications of aldosterone escape in congestive heart failure.

Eur. J. Heart Fail., 2004, 6, 539-545.

SU E.J., LOMBARDI D.M., SIEGAL J. et SCHWARTZ S.M.

Angiotensin II induces vascular smooth muscle cell replication independent of blood pressure.

Hypertension, 1998, 31, 1331-1337.

SUEMATSU M., SUZUKI H., DELANO F.A. et SCHMID-SCHONBEIN G.W.

The inflammatory aspect of the microcirculation in hypertension: oxidative stress, leukocytes/endothelial interaction, apoptosis.

Microcirculation, 2002, 9, 259-276.

SUGAYA T., NISHIMATSU S., TANIMOTO K., TAKIMOTO E., YAMAGISHI T., IMAMURA K., GOTO S., IMAIZUMI K., HISADA Y., OTSUKA A., *et al.*

Angiotensin II type 1a receptor-deficient mice with hypotension and hyperreninemia.

J. Biol. Chem., 1995, 270, 18719-18722.

SUMPIO B.E. et WIDMANN M.D.

Enhanced production of endothelium-derived contracting factor by endothelial cells subjected to pulsatile stretch.

Surgery, 1990, 108, 277-282.

SUZUKI Y., RUIZ-ORTEGA M., LORENZO O., RUPEREZ M., ESTEBAN V. et EGIDO J.

Inflammation and angiotensin II.

Int. J. Biochem. Cell Biol., 2003, 35, 881-900.

SWALES J.D. et SAMANI N.J.

Localisation and physiological effects of tissue renin-angiotensin systems.

J Hum Hypertens, 1989, 3 Suppl 1, 71-77.

SWANSON G.N., HANESWORTH J.M., SARDINIA M.F., COLEMAN J.K., WRIGHT J.W., HALL K.L., MILLER-WING A.V., STOBB J.W., COOK V.I., HARDING E.C., *et al.*

Discovery of a distinct binding site for angiotensin II (3-8), a putative angiotensin IV receptor.

Regul. Pept., 1992, 40, 409-419.

SYMON L., HELD K. et DORSCH N.W.

A study of regional autoregulation in the cerebral circulation to increased perfusion pressure in normocapnia and hypercapnia.

Stroke, 1973, 4, 139-147.

TAKAHASHI S., COOK M., JEHLE J., KENNEDY C. et SOKOLOFF L.

Preservation of autoregulatory cerebral vasodilator responses to hypotension after inhibition of nitric oxide synthesis.

Brain. Res., 1995, 678, 21-28.

TAKEDA R., HATAKEYAMA H., TAKEDA Y., IKI K., MIYAMORI I., SHENG W.P., YAMAMOTO H. et BLAIR I.A.

Aldosterone biosynthesis and action in vascular cells.

Steroids, 1995a, 60, 540.

TAKEDA Y., MIYAMORI I., YONEDA T., IKI K., HATAKEYAMA H., BLAIR I.A., HSIEH F.Y. et TAKEDA R.

Production of aldosterone in isolated rat blood vessels.

Hypertension, 1995b, 25, 170-173.

TAKEDA Y., MIYAMORI I., YONEDA T., HATAKEYAMA H., INABA S., FURUKAWA K., MABUCHI H. et TAKEDA R.

Regulation of aldosterone synthase in human vascular endothelial cells by angiotensin II and adrenocorticotropin.

J. Clin. Endocrinol. Metab., 1996, 81, 2797-2800.

TAKEDA Y., MIYAMORI I., INABA S., FURUKAWA K., HATAKEYAMA H., YONEDA T., MABUCHI H. et TAKEDA R.

Vascular aldosterone in genetically hypertensive rats.

Hypertension, 1997, 29, 45-48.

TAMAKI K., SADOSHIMA S., BAUMBACH G.L., IADECOLA C., REIS D.J. et HEISTAD D.D.

Evidence that disruption of the blood-brain barrier precedes reduction in cerebral blood flow in hypertensive encephalopathy.

Hypertension, 1984, 6, I75-I81.

TANAKA K., FUKUUCHI Y., GOMI S., MIHARA B., SHIRAI T., NOGAWA S., NOZAKI H. et NAGATA E.

Inhibition of nitric oxide synthesis impairs autoregulation of local cerebral blood flow in the rat.

Neuroreport, 1993, 4, 267-270.

TEA B.S., DER SARKISSIAN S., TOUYZ R.M., HAMET P. et DEBLOIS D.

Proapoptotic and growth-inhibitory role of angiotensin II type 2 receptor in vascular smooth muscle cells of spontaneously hypertensive rats in vivo.

Hypertension, 2000, 35, 1069-1073.

THOMPSON C.B.

Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease.

Science, 1995, 267, 1456-1462.

THYBO N.K., KORSGAARD N. et MULVANY M.J.

Morphology and function of mesenteric resistance arteries in transgenic rats with low-renin hypertension.

J. Hypertens., 1992, 10, 1191-1196.

THYBO N.K., KORSGAARD N., ERIKSEN S., CHRISTENSEN K.L. et MULVANY M.J.

Dose-dependent effects of perindopril on blood pressure and small-artery structure.

Hypertension, 1994, 23, 659-666.

TODA N., OKUNISHI H. et MIYAZAKI M.

Length-passive tension relationships in cerebral and peripheral arteries isolated from spontaneously hypertensive and normotensive rats.

Jpn. Circ. J., 1982, 46, 1088-1094.

TOMINAGA S., STRANDGAARD S., UEMURA K., ITO K. et KUTSUZAWA T.

Cerebrovascular CO2 reactivity in normotensive and hypertensive man.

Stroke, 1976, 7, 507-510.

TOUYZ R.M. et SCHIFFRIN E.L.

Role of calcium influx and intracellular calcium stores in angiotensin II-mediated calcium hyper-responsiveness in smooth muscle from spontaneously hypertensive rats.

J. Hypertens., 1997, 15, 1431-1439.

TOUYZ R.M. et SCHIFFRIN E.L.

Activation of the Na(+)-H+ exchanger modulates angiotensin II-stimulated Na(+)-dependent Mg2+ transport in vascular smooth muscle cells in genetic hypertension.

Hypertension, 1999, 34, 442-449.

TOUYZ R.M. et SCHIFFRIN E.L.

Signal transduction mechanisms mediating the physiological and pathophysiological actions of angiotensin II in vascular smooth muscle cells.

Pharmacol. Rev., 2000, 52, 639-672.

TOUYZ R.M. et BERRY C.

Recent advances in angiotensin II signaling.

Braz. J. Med. Biol. Res., 2002, 35, 1001-1015.

TOUYZ R.M., TABET F. et SCHIFFRIN E.L.

Redox-dependent signalling by angiotensin II and vascular remodelling in hypertension.

Clin. Exp. Pharmacol. Physiol., 2003, 30, 860-866.

TOYODA K., FUJII K., IBAYASHI S., KITAZONO T., NAGAO T. et FUJISHIMA M.

Role of ATP-sensitive potassium channels in brain stem circulation during hypotension.

Am. J. Physiol., 1997, 273, H1342-1346.

TYAGI S.C.

Physiology and homeostasis of extracellular matrix: cardiovascular adaptation and remodeling.

Pathophysiology, 2000, 7, 177-182.

UDDMAN R. et EDVINSSON L.

Neuropeptides in the cerebral circulation.

Cerebrovasc. Brain Metab. Rev., 1989, 1, 230-252.

UHRENHOLT T.R., SCHJERNING J., HANSEN P.B., NORREGAARD R., JENSEN B.L., SORENSEN G.L. et SKOTT O.

Rapid inhibition of vasoconstriction in renal afferent arterioles by aldosterone.

Circ. Res., 2003, 93, 1258-1266.

UHRENHOLT T.R., SCHJERNING J., RASMUSSEN L.E., HANSEN P.B., NORREGAARD R., JENSEN B.L. et SKOTT O.

Rapid non-genomic effects of aldosterone on rodent vascular function.

Acta Physiol. Scand., 2004, 181, 415-419.

USHIO-FUKAI M., ALEXANDER R.W., AKERS M. et GRIENDLING K.K.

p38 Mitogen-activated protein kinase is a critical component of the redox-sensitive signaling pathways activated by angiotensin II. Role in vascular smooth muscle cell hypertrophy.

J. Biol. Chem., 1998, 273, 15022-15029.

USHIO-FUKAI M., ALEXANDER R.W., AKERS M., LYONS P.R., LASSEGUE B. et GRIENDLING K.K.

Angiotensin II receptor coupling to phospholipase D is mediated by the betagamma subunits of heterotrimeric G proteins in vascular smooth muscle cells.

Mol. Pharmacol., 1999, 55, 142.

VAN LEEUWEN R.T., KOL A., ANDREOTTI F., KLUFT C., MASERI A. et SPERTI G.

Angiotensin II increases plasminogen activator inhibitor type 1 and tissue-type plasminogen activator messenger RNA in cultured rat aortic smooth muscle cells.

Circulation, 1994, 90, 362-368.

VAUQUELIN G., MICHOTTE Y., SMOLDERS I., SARRE S., EBINGER G., DUPONT A. et VANDERHEYDEN P.

Cellular targets for angiotensin II fragments: pharmacological and molecular evidence.

J. Renin Angiotensin Aldosterone Syst., 2002, 3, 195-204.

VECCHIONE C., FRATTA L., RIZZONI D., NOTTE A., POULET R., PORTERI E., FRATI G., GUELFI D., TRIMARCO V., MULVANY M.J., *et al.*

Cardiovascular influences of alpha1b-adrenergic receptor defect in mice.

Circulation, 2002, 105, 1700-1707.

VIRDIS A., NEVES M.F., AMIRI F., VIEL E., TOUYZ R.M. et SCHIFFRIN E.L.

Spironolactone improves angiotensin-induced vascular changes and oxidative stress.

Hypertension, 2002, 40, 504-510.

VIRDIS A. et SCHIFFRIN E.L.

Vascular inflammation: a role in vascular disease in hypertension?

Curr. Opin. Nephrol. Hypertens., 2003, 12, 181-187.

WAGNER E.M. et TRAYSTMAN R.J.

Cerebral venous outflow and arterial microsphere flow with elevated venous pressure.

Am. J. Physiol., 1983, 244, H505-512.

WANG Q., PAULSON O.B. et LASSEN N.A.

Is autoregulation of cerebral blood flow in rats influenced by nitro-L-arginine, a blocker of the synthesis of nitric oxide?

Acta Physiol. Scand., 1992, 145, 297-298.

WANG Z., RAO P.J., SHILLCUTT S.D. et NEWMAN W.H.

Angiotensin II induces proliferation of human cerebral artery smooth muscle cells through a basic fibroblast growth factor (bFGF) dependent mechanism.

Neurosci. Lett., 2005, 373, 38-41.

WARSHAW D.M., MULVANY M.J. et HALPERN W.

Mechanical and morphological properties of arterial resistance vessels in young and old spontaneously hypertensive rats.

Circ. Res., 1979, 45, 250-259.

WEHLING M., NEYLON C.B., FULLERTON M., BOBIK A. et FUNDER J.W.

Nongenomic effects of aldosterone on intracellular Ca2+ in vascular smooth muscle cells.

Circ. Res., 1995, 76, 973-979.

WEI E.P., KONTOS H.A., DIETRICH W.D., POVLISHOCK J.T. et ELLIS E.F.

Inhibition by free radical scavengers and by cyclooxygenase inhibitors of pial arteriolar abnormalities from concussive brain injury in cats.

Circ. Res., 1981, 48, 95-103.

WEI E.P. et KONTOS H.A.

Responses of cerebral arterioles to increased venous pressure.

Am. J. Physiol., 1982, 243, H442-447.

WEI E.P. et KONTOS H.A.

Increased venous pressure causes myogenic constriction of cerebral arterioles during local hyperoxia.

Circ. Res., 1984, 55, 249-252.

WEI E.P., KONTOS H.A., CHRISTMAN C.W., DE WITT D.S. et POVLISHOCK J.T.

Superoxide generation and reversal of acetylcholine-induced cerebral arteriolar dilation after acute hypertension.

Circ. Res., 1985, 57, 781-787.

WEIR M.R. et DZAU V.J.

The renin-angiotensin-aldosterone system: a specific target for hypertension management.

Am. J. Hypertens., 1999, 12, 205S-213S.

WELLMAN G.C. et NELSON M.T.

Ion channels in cerebral arteries.

In: Cerebral Blood Flow and Metabolism, second edition / ed. par EDVINSSON L. et KRAUSE D.N.

New York: Lippincott Williams & Wilkins, 2002. p. 71-87.

WIDDOP R.E., JONES E.S., HANNAN R.E. et GASPARI T.A.

Angiotensin AT2 receptors: cardiovascular hope or hype?

Br. J. Pharmacol., 2003, 140, 809-824.

WIEMER G., SCHOLKENS B.A., WAGNER A., HEITSCH H. et LINZ W.

The possible role of angiotensin II subtype AT2 receptors in endothelial cells and isolated ischemic rat hearts.

Journal of Hypertension Supplement, 1993, 11, S234-S235.

WIENER J., LOUD A.V., GIACOMELLI F. et ANVERSA P.

Morphometric analysis of hypertension-induced hypertrophy of rat thoracic aorta.

Am. J. Pathol., 1977, 88, 619-633.

WIENER J., LOMBARDI D.M., SU E.J. et SCHWARTZ S.M.

Immunohistochemical and molecular characterization of the differential response of the rat mesenteric microvasculature to angiotensin-II infusion.

J. Vasc. Res., 1996, 33, 195-208.

WILLIAMS G.H.

Hypertension artérielle

In: Harrison Médecine Interne / ed. par ISSELBACHER K.J., BRAUNWALD E., WILSON J.D., MARTIN J.B., FAUCI A.S. et KASPER D.L.

Paris: Blackwell, 1995. p. 1116-1131.

WINN H.R., WELSH J.E., RUBIO R. et BERNE R.M.

Brain adenosine production in rat during sustained alteration in systemic blood pressure.

Am. J. Physiol., 1980, 239, H636-641.

WINQUIST R.J. et BOHR D.F.

Structural and functional changes in cerebral arteries from spontaneously hypertensive rats.

Hypertension, 1983, 5, 292-297.

WOLINSKY H.

Response of the rat aortic media to hypertension.

Circ. Res., 1970, 26, 507-522.

XIAO F., PUDDEFOOT J.R. et VINSON G.P.

Aldosterone mediates angiotensin II-stimulated rat vascular smooth muscle cell proliferation.

J. Endocrinol., 2000, 165, 533-536.

XU C., LEE S., SINGH T.M., SHO E., LI X., SHO M., MASUDA H. et ZARINS C.K.

Molecular mechanisms of aortic wall remodeling in response to hypertension.

J. Vasc. Surg., 2001, 33, 570-578.

YAMADA T., HORIUCHI M. et DZAU V.J.

Angiotensin II type 2 receptor mediates programmed cell death.

Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 1996, 93, 156-160.

YAMADA T., AKISHITA M., POLLMAN M.J., GIBBONS G.H., DZAU V.J. et HORIUCHI M.

Angiotensin II type 2 receptor mediates vascular smooth muscle cell apoptosis and antagonizes angiotensin II type 1 receptor action: an in vitro gene transfer study.

Life Sci., 1998, 63, PL289-PL295.

YAMAKAWA H., JEZOVA M., ANDO H. et SAAVEDRA J.M.

Normalization of endothelial and inducible nitric oxide synthase expression in brain microvessels of spontaneously hypertensive rats by angiotensin II AT1 receptor inhibition.

J. Cereb. Blood Flow Metab., 2003, 23, 371-380.

YAMORI Y.

Development of the spontaneously hypertensive rat (SHR) and of various spontaneous rat models, and their implications

In: Experimental and genetic models of hypertension / ed. par DE JONG W.

Amsterdam: Elsevier, 1984. p. 224-239.

ZHANG J. et PRATT R.E.

The AT2 receptor selectively associates with Gialpha2 and Gialpha3 in the rat fetus.

J. Biol. Chem., 1996, 271, 15026-15033.

ZHANG X.M. et ELLIS E.F.

Superoxide dismutase decreases mortality, blood pressure, and cerebral blood flow responses induced by acute hypertension in rats.

Stroke, 1991, 22, 489-494.

ZHOU Y., CHEN Y., DIRKSEN W.P., MORRIS M. et PERIASAMY M.

AT1b receptor predominantly mediates contractions in major mouse blood vessels.

Circ. Res., 2003, 93, 1089-1094.

COMMENTAIRES DES RAPPORTEURS

DOCTORAT DE L'UNIVERSITE HENRI POINCARE – NANCY 1 (Pharmacie)
Mention Sciences du Médicament

Sujet : Implication du système rénine angiotensine aldostérone dans les altérations de la circulation cérébrale au cours de l'hypertension artérielle chronique

Prénom et Nom : François Dupuis

Laboratoire et contact : Laboratoire de Pharmacologie Cardiovasculaire, Faculté de Pharmacie

Directeurs de thèse : Professeur Jeffrey Atkinson et Docteur Jean-Marc Chillon

Date et lieu de soutenance : le 8 juillet 2005, salle des thèses, Faculté de Pharmacie

Jury : Professeurs Jeffrey Atkinson, Gary Baumbach, Pierre Labrude, Bernard Lévy, Michel Plotkine, Docteur Jean-Marc Chillon

RESUME

Au cours de l'hypertension artérielle, des altérations structurales et fonctionnelles se développent au niveau des artérioles cérébrales, entraînant une augmentation des résistances cérébrovasculaires. Cette augmentation des résistances cérébrovasculaires s'accompagne d'une augmentation de la limite basse de l'autorégulation du débit sanguin cérébral (LBADSC). Le système rénine angiotensine aldostérone (SRAA) pourrait être impliqué dans le développement de ces altérations, comme le suggère l'efficacité des inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine I (IEC) pour corriger ces altérations de la circulation cérébrale dans des modèles expérimentaux d'hypertension artérielle chronique.

Au cours de ce travail de thèse, nous nous sommes intéressés à déterminer quel(s) élément(s) du SRAA est (sont) impliqué(s) dans le développement de ces altérations de la circulation cérébrale induites par l'hypertension artérielle chronique.

Nous avons tout d'abord montré qu'un traitement chronique par un IEC prévient ou atténue le développement des altérations structurales des artérioles cérébrales dans un modèle d'hypertension, le rat SHR (rat spontanément hypertendu) jeune ou âgé. Cette correction des paramètres structuraux des artérioles cérébrales s'accompagne d'une diminution de la LBADSC chez les rats SHR jeunes ou âgés.

Ensuite, afin de bloquer de manière plus spécifique le SRAA, nous avons eu recours à un antagoniste des récepteurs AT_1 de l'angiotensine II. Cet antagoniste des récepteurs AT_1 produit des effets identiques à ceux d'un IEC sur la structure des artérioles cérébrales ainsi que sur la LBADSC. Ces résultats suggèrent que les récepteurs AT_1 jouent un rôle déterminant dans le développement des altérations de la circulation cérébrale au cours de l'hypertension artérielle chronique.

Enfin, comme ces récepteurs AT_1 contrôlent la sécrétion d'aldostérone, nous avons testé les effets d'un traitement chronique par un antagoniste des récepteurs de l'aldostérone sur la circulation cérébrale. Les résultats de cette étude montrent que l'aldostérone joue un rôle fondamental dans le développement des altérations de la circulation cérébrale au cours de l'hypertension artérielle chronique.

Ainsi, au cours de l'hypertension, les récepteurs AT_1 participeraient au développement des altérations de la circulation cérébrale par la sécrétion d'aldostérone qu'ils induisent. Ces résultats présentent un intérêt d'un point de vue clinique étant donné le phénomène d'échappement à l'aldostérone observé lors de traitements au long cours de patients hypertendus par des IEC ou des antagonistes des récepteurs AT_1.