

UNIVERSITE DE NANTES

FACULTE DE MEDECINE

Année 2008

N° 145

THESE

pour le

Diplôme d'état de docteur en médecine

DES de Cardiologie et maladies vasculaires

par

PIRIOU Nicolas

Né le 8 mai 1979 à Caen

Présentée et soutenue publiquement le 16 octobre 2008

**Récepteur β_3 -adrénergique cardiaque et vasculaire,
nouvelle cible thérapeutique dans l'insuffisance cardiaque ?
Application à différents modèles animaux**

Président : Monsieur le Professeur Hervé Le Marec

Directeurs de thèse :

Monsieur le Professeur Jean-Noël Trochu

Madame le Professeur Chantal Gauthier

SOMMAIRE

<u>INTRODUCTION</u>	1
I. RECEPTEURS BETA-ADRENERGIQUES DANS LE SYSTEME CARDIO-VASCULAIRE	1
I.A. Structure moléculaire et protéique des récepteurs β-adrénergiques	1
I.A.1. Gènes codant les récepteurs β-adrénergiques	1
I.A.2. Relation structure-fonction des récepteurs β-adrénergiques : phénomène de désensibilisation	1
I.B. Pharmacologie des récepteurs β-adrénergiques	4
I.C. Voies de signalisation β-adrénergiques cardiaques	5
I.C.1. Voies de signalisation β_1-AR	5
I.C.2. Voies de signalisation β_2-AR	6
I.C.3. Voie de signalisation β_3-adrénergique	7
I.D. Polymorphismes des récepteurs β-adrénergiques	8
I.E. Régulation β-adrénergique de la fonction cardiaque	9
<u>I.E.1. Inotropisme et lusitropisme</u>	9
<u>I.E.2. Effets électrophysiologiques</u>	14
<i>I.F. Régulation β-adrénergique de la fonction vasculaire</i>	16
<u>II. INSUFFISANCE CARDIAQUE</u>	18
<i>II.A. Définitions</i>	18
II.B. Epidémiologie	19
II.C. Etiologie	19
II.D. Physiopathologie : remodelage cardiaque	20
II.E. Particularités de l'IC à fonction systolique préservée	22
III. REMODELAGE BETA-ADRENERGIQUE DANS L'INSUFFISANCE CARDIAQUE	23
IV. TRAITEMENTS BETA-BLOQUANTS ET INSUFFISANCE CARDIAQUE ...25	
<i>IV.A. Pharmacologie et classification</i>	25
IV.B. Effets des bêta-bloquants dans le traitement de l'insuffisance cardiaque ...26	
IV.B.1. Effets sur le remodelage et la fonction ventriculaire gauche	26
IV.B.2. Effets sur la morbi-mortalité	27
IV.B.3. Indications	28
V. OBJECTIFS	29

<u>MATERIEL ET METHODE</u>	31
I. <i>MODELES ANIMAUX</i>	31
I.A. <i>Insuffisance cardiaque aux stades aigu et chronique</i>	31
I.B. Rat transgénique surexprimant le récepteur β_3-AR humain dans les cellules endothéliales	32
II. <i>EXPLORATIONS HEMODYNAMIQUES</i>	33
II.A Etude <i>in vivo</i> : boucles pression-volume du ventricule gauche	33
II.A.1. Principes de base	33
II.A.2 Principes physiques impliqués dans la mesure de volumes du ventricule gauche et conséquences sur la technique	35
II.A.3 Particularités liées à l'exploration de la fonction systolique chez le rat	38
II.A.4. Fonction diastolique	41
II.A.5. Fonction vasculaire : étude des résistances systémiques et du couplage ventriculo-artériel	41
II.A.6. Approche mécano-énergétique	41
II.B. Eude <i>ex vivo</i> sur cœur isolé-perfusé	42
II.C. Etude de la vasoréactivité d'anneaux d'aorte thoracique <i>in vitro</i>	44
III. QUANTIFICATION RELATIVE DES ARN MESSAGERS DES TROIS SOUS-TYPES DE RECEPTEURS β -ADRENERGIQUES PAR PCR QUANTITATIVE EN TEMPS REEL.....	45
<u>IV. SUBSTANCES PHARMACOLOGIQUES</u>	48
<u>V. ANALYSES STATISTIQUES</u>	49
<u>RESULTATS</u>	50
I. EFFETS DIFFERENTIELS DU NEBIVOLOL ET DU BISOPROLOL AU STADE AIGU DE L'INSUFFISANCE CARDIAQUE.....	50
I.A. Quantification relative des transcrits des récepteurs bêta-adrénergiques dans le ventricule gauche.....	50
I.B. Quantification relative des transcrits des récepteurs bêta-adrénergiques dans l'aorte thoracique.....	50

I.C. Effets hémodynamiques <i>in vivo</i>	51
I.D. Effets hémodynamiques <i>ex vivo</i> sur cœur isolé perfusé.....	51
I.E. Effets vasculaires <i>in vitro</i>	53
II. EFFETS DIFFERENTIELS DU NEBIVOLOL ET DU BISOPROLOL AU STADE CHRONIQUE DE L'INSUFFISANCE CARDIAQUE.....	61
II.A. Quantification relative des transcrits des récepteurs béta-adrénergiques dans le ventricule gauche.....	61
II.B. Quantification relative des transcrits des récepteurs béta-adrénergiques dans l'aorte thoracique.....	61
II.C. Effets hémodynamiques <i>in vivo</i>.....	61
II.D. Effets vasculaires <i>in vitro</i>.....	63
III. EFFETS DE LA SUREXPRESSON DU RECEPTEUR BETA-3 ADRENERGIQUE HUMAIN AU NIVEAU ENDOTHELIAL CHEZ LE RAT.....	67
III.A. Exploration de l'état basal <i>in vivo</i>.....	67
III.B. Exploration de la fonction cardiaque <i>ex vivo</i> : état basal sur cœur isolé Perfusé.....	69
DISCUSSION.....	70
I. Effets différentiels du nébivolol et du bisoprolol au stade aigu de l'insuffisance cardiaque.....	70
II. Effets différentiels du nébivolol et du bisoprolol au stade chronique de l'insuffisance cardiaque.....	74
III. Surexpression endothéliale du récepteur β_3-adrénergique humain : un modèle particulier d'insuffisance cardiaque à fonction systolique préservée.....	77
IV. Autres rôles potentiels du récepteur β_3-adrénergique dans l'insuffisance cardiaque : le syndrome de Tako-Tsubo ?.....	79
<u>CONCLUSION</u>.....	84
<u>REFERENCES</u>.....	87

INTRODUCTION

I. RECEPTEURS BETA-ADRENERGIQUES DANS LE SYSTEME CARDIO-VASCULAIRE

I.A. Structure moléculaire et protéique des récepteurs β -adrénergiques

I.A.1. Gènes codant les récepteurs β -adrénergiques

Les récepteurs β_1 -, β_2 - et β_3 -AR ont été respectivement clonés, chez l'homme, en 1987, 1986 et 1989 [2-4]. La localisation chromosomique de ces gènes est 10q24-q26 pour β_1 -AR, 5q31-q32 pour β_2 -AR et 8p12-p11.2 pour β_3 -AR.

	Localisation chromosomique	Introns	Taille ARNm (Kb)	Nombre aa	Référence
β_1 -AR	10q24-q26	Non	2,6	477	Frielle <i>et al.</i> , 1987
β_2 -AR	5q31-q32	Non	2,2	416	Dixon <i>et al.</i> , 1986 ; Kobilka <i>et al.</i> , 1987
β_3 -AR	8p12-p11.2	Oui	2,3	408	Emorine <i>et al.</i> , 1989 ; Lelias <i>et al.</i> , 1993

Tableau 1. Caractéristiques moléculaires et protéiques des récepteurs β_1 -, β_2 - et β_3 -adrénergiques humains. aa : acide aminé ; ARNm : acide ribonucléique messager ; β -AR : récepteur β -adrénergique.

I.A.2. Relation structure-fonction des récepteurs β -adrénergiques : phénomène de désensibilisation

Les gènes β -AR codent des récepteurs membranaires couplés aux protéines G. Ils sont caractérisés par leur structure à 7 domaines transmembranaires hydrophobes de 22 à 28 acides aminés reliés entre eux par des boucles hydrophiles successivement extra- et intracellulaires. Trois domaines transmembranaires forment le site de fixation adrénérique au niveau extracellulaire (tm3, 5 et 6 pour β_1 - et β_2 -AR ; tm3, 5 et 7 pour β_3 -AR) [5]. Un pont disulfure, formé entre deux cystéines sur les boucles extracellulaires 2 et 3, intervient également dans la liaison du ligand et l'activité des récepteurs. L'extrémité amino-terminale (N-t) porte 2 sites de N-glycosylations et se situe du côté extracellulaire. L'extrémité carboxy-terminale (C-t) est

localisée au niveau intracellulaire. Elle présente, pour β_1 - et β_2 -AR, des sérines et thréonines phosphorylables par les kinases des récepteurs couplés aux protéines G (GRK). Il existe plusieurs isoformes de GRK, mais GRK2 (ou β -ARK1 pour kinase des récepteurs β -AR 1) est la plus exprimée dans le myocarde. Ces phosphorylations n'interviennent que sur les récepteurs interagissant avec un agoniste et favorisent la liaison du récepteur avec les β -arrestines conduisant à un découplage du récepteur de la protéine G qui lui est associée. C'est le phénomène de désensibilisation des récepteurs β -AR [6]. Ce phénomène est une réponse physiologique adaptative à court terme destinée à limiter l'utilisation de l'énergie lors d'une stimulation adrénergique prolongée.

Le récepteur β_3 -AR ne présentant pas les sites de phosphorylations sur l'extrémité C-t, il est relativement résistant au phénomène de désensibilisation [7] (Fig. 1). Cependant, contrairement aux deux autres sous-types de récepteurs β -AR, le gène codant le récepteur β_3 -AR présente des introns et est donc soumis à un épissage alternatif qui aboutit à plusieurs isoformes de la protéine β_3 -AR (Tableau 1). Ainsi, il a été montré que l'isoforme β_3b -AR exprimée chez la souris présente deux sérines supplémentaires au niveau de la queue C-t et pourrait ainsi être désensibilisée [8].

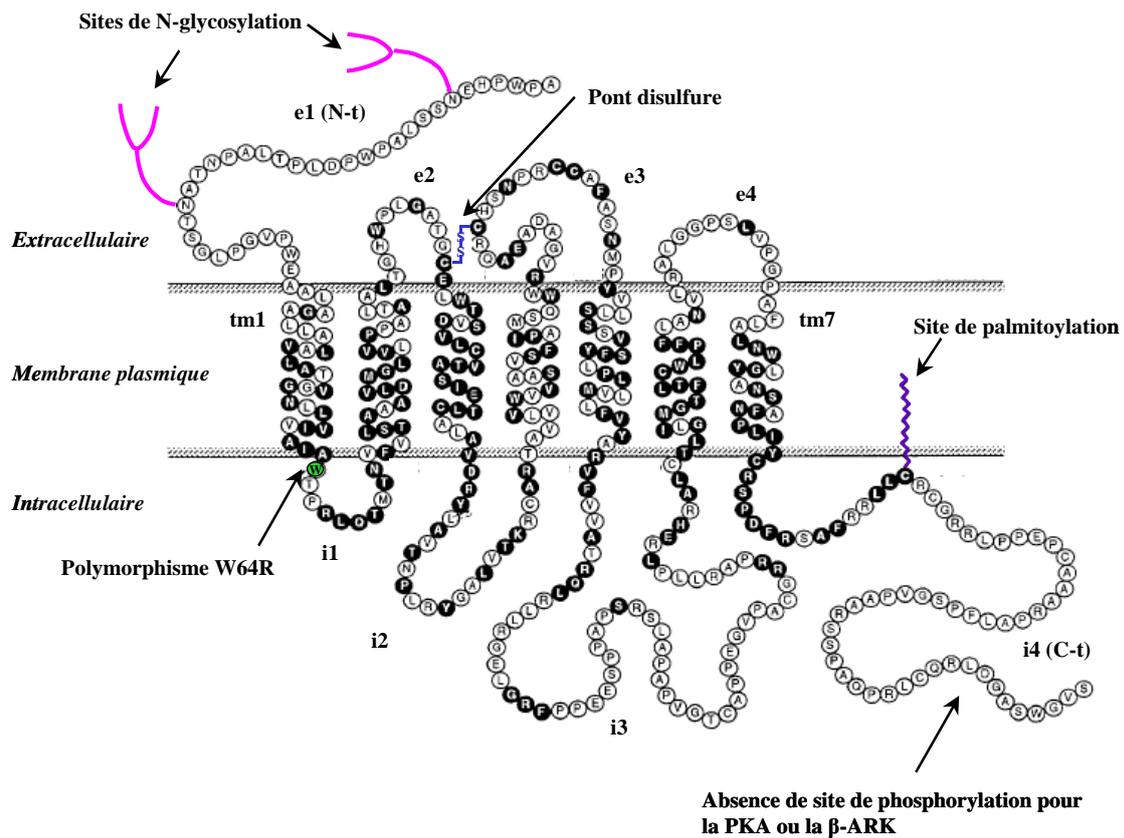


Figure 1. Structure primaire du récepteur β_3 -adrénergique. Les acides aminés noirs sont ceux communs aux trois sous-types. C-t : extrémité carboxy-terminale ; e : boucle extracellulaire ; i : boucle intracellulaire ; N-t: extrémité amino-terminale ; tm : domaine transmembranaire. [D'après Strosberg, 1997].

Il existe également un phénomène de désensibilisation des récepteurs β -adrénergiques à long terme qui fait intervenir des mécanismes de régulation de la transcription et de la stabilité de leurs ARNm [9]. Ce phénomène semble concerner essentiellement les récepteurs β_1 - et β_2 -ARs. En effet, dans des situations où existe une augmentation prolongée des taux de catécholamines circulantes comme l'hypertension artérielle (HTA) ou l'IC avancée, il a été démontré que la proportion des récepteurs β_3 -AR dans les tissus concernés était nettement moins diminuée que les deux autres sous-types [10, 11]. Les conséquences physiopathologiques de ces phénomènes seront traitées dans la partie Remodelage β -adrénergique dans l'insuffisance cardiaque.

I.B. Pharmacologie des récepteurs β -adrénergiques

Les agonistes endogènes des récepteurs β -AR sont les catécholamines : l'adrénaline et la noradrénaline. L'isoprénaline est une catécholamine de synthèse couramment utilisée dans les études pharmacologiques et présente l'affinité relative la plus élevée pour les trois sous-types (tableau 2). Contrairement aux récepteurs β_1 - et β_2 -AR, le β_3 -AR n'est activé que par de fortes concentrations de ces molécules [7].

Récepteur β -adrénergique	Affinité relative
β_1	Isoprénaline > Adrénaline = Noradrénaline
β_2	Isoprénaline > Adrénaline > Noradrénaline
β_3	Isoprénaline \geq Noradrénaline \gg Adrénaline

Tableau 2. Affinité relative pour l'isoprénaline, l'adrénaline et la noradrénaline de chacun des sous-types de récepteurs β -adrénergiques.

L'industrie pharmaceutique a développé de nombreux agonistes et surtout antagonistes β -AR, notamment en raison de leur utilisation thérapeutique courante. Quelques-unes de ces molécules, ainsi que leurs propriétés sont répertoriées dans le Tableau 3. Cependant, il est évident que le classement de ce tableau n'est pas péremptoire. Les propriétés de ces molécules diffèrent selon les concentrations testées et les modèles d'études (espèce, système natif ou de réexpression...). De plus, certains antagonistes β_1 - et/ou β_2 -AR présentent également des propriétés β_3 -AR agonistes. C'est le cas notamment du nébivolol (antagoniste β_1 -AR et agoniste β_3 -AR) [12] et du CGP 12177A (antagoniste β_1/β_2 -AR et agoniste β_3 -AR) [13].

Récepteur β -adrénergique	Agonistes	Antagonistes		
β_1	Dobutamine Dénopamine Xamotérol	Nebivolol Bisoprolol Métoprolol Aténolol CGP 20712A*	Nadolol Propranolol CGP 12177A Carvedilol	Bupranolol
β_2	Salbutamol Terbutaline Salmeterol	ICI-118,551		
β_3	SR 58611A BRL 37344 CL 316243 Nebivolol CGP 12177A	L-748,337 L-748,328 SR 59230A		

Tableau 3. Exemples d'agonistes et d'antagonistes des récepteurs β -adrénergiques [D'après Gauthier *et al.*, 2008]. * Le CGP 20712A présente également une action agoniste sur le site de faible affinité du récepteur β_1 -AR.

I.C. Voies de signalisation β -adrénergiques cardiaques

Dans le myocarde humain sain, le récepteur β_1 -AR représente 70 à 80% des β_1/β_2 -AR, les récepteurs β_2 -AR étant préférentiellement localisés dans des microdomaines cellulaires formés par invagination de la membrane plasmique : les cavéoles. La proportion de récepteurs β_3 -AR par rapport aux deux autres sous-types n'a pas encore été évaluée car il n'existe pas à l'heure actuelle de ligand suffisamment spécifique du β_3 -AR pour appliquer la technique habituelle de liaison récepteur-ligand.

Lorsqu'un récepteur β -AR est activé, il subit une modification de conformation qui va activer la protéine G qui lui est couplée. Cette protéine est formée de trois sous-unités α , β et γ . Elle passe d'un état inactivé, lié au guanosine diphosphate (GDP) à une forme activée, liée au guanosine triphosphate (GTP). Lors du passage entre les états inactif et actif, la sous-unité α liée au GTP se détache du complexe récepteur/protéine G et va agir sur la ou les protéines effectrices.

I.C.1. Voies de signalisation β_1 -AR

Au niveau cardiaque, les récepteurs β_1 -AR interagissent avec les protéines G stimulatrices (Gs) dont la cible intracellulaire est l'adénylate cyclase (AC). Lors d'une stimulation β_1 -AR, l'AC va être activée et catalyser la formation d'AMPc à partir d'ATP. L'AMPc ainsi formée va se fixer sur les sous-unités régulatrices de la PKA et libérer les sous-unités catalytiques qui vont aller phosphoryler des protéines cibles impliquées dans le couplage excitation-contraction dont les canaux calciques de type L (iCaL), le phospholamban (PLB), la troponine (Tn) et les récepteurs de la ryanodine (RyR). L'activation de cette voie induit des effets inotrope, lusitrope et chronotrope positifs (Fig. 2). La stimulation prolongée du β_1 -AR active, *via* Gs, la voie de la protéine kinase Ca^{2+} /calmoduline dépendante (CaMKII), et induit un effet inotrope positif mais active aussi des voies de signalisation pro-apoptotiques et pro-hypertrophiques (Fig. 2) [[14],Gauthier *et al.*, 2008].

I.C.2. Voies de signalisation β_2 -AR

Le β_2 -AR est également lié aux protéines Gs, mais à la différence du récepteur β_1 -AR, le récepteur β_2 -AR peut se lier aux protéines G inhibitrices (Gi).

Le couplage β_2 -AR/Gs conduit à une activation de l'AC et donc à une augmentation du taux d'AMPc intracellulaire. Cependant, les effets de la stimulation β_2 -AR *via* Gs n'ont pas la même efficacité que suite à une stimulation β_1 -AR. Ceci est dû, en partie, à la localisation de chacun des sous-types et à une compartimentation du signal AMPc dans les cardiomyocytes grâce aux phosphodiesterases (PDE) régulant le catabolisme de ce second messager [Gauthier *et al.*, 2008].

Suite à une stimulation adrénérgique prolongée, la phosphorylation du récepteur β_2 -AR par la PKA atténue l'interaction du récepteur avec les protéines Gs et augmente celle avec les protéines Gi. L'activation des protéines Gi conduit à l'inhibition de l'activité de l'AC mais aussi au recrutement d'autres voies de signalisation. Parmi elles, la voie phosphatidylinositol-

3-phosphate kinase (PIP3K) qui va (1) inhiber la voie AMPc/PKA conduisant à des effets inotropes négatifs et (2) activer des voies anti-apoptotiques *via* les protéines Akt (Fig. 2) [14, 15]. Une autre voie recrutée est la voie de la phospholipase A2 cytosolique (PLA2c). Elle catalyse la formation d'acide arachidonique qui module directement l'activité de canaux ioniques, des RyR et de la protéine kinase C (PKC) induisant des effets inotropes positifs (Fig. 2) [15]. La voie de la PDE 4D semble également impliquée, faisant chuter le taux d'AMPc intracellulaire en la dégradant [14] (Fig. 2). Il faut cependant noter que la régulation des voies de signalisation couplées au récepteur β_2 -AR est complexe et dépend aussi de la conformation du récepteur et de l'agoniste mis en jeu [16].

I.C.3. Voie de signalisation β_3 -adrénergique

Les récepteurs β_3 -AR cardiaques sont couplés aux protéines Gi. Leur stimulation n'induit pas d'inhibition de la voie AMPc/PKA mais une activation de la voie du monoxyde d'azote (NO) *via* la NO synthase endothéliale (eNOS) [17]. Le NO produit va activer la guanylate cyclase (GC) et induire la production de guanosine monophosphate cyclique (GMPc) produisant des effets inotrope négatif et lusitrope positif [18]. (Fig. 2).

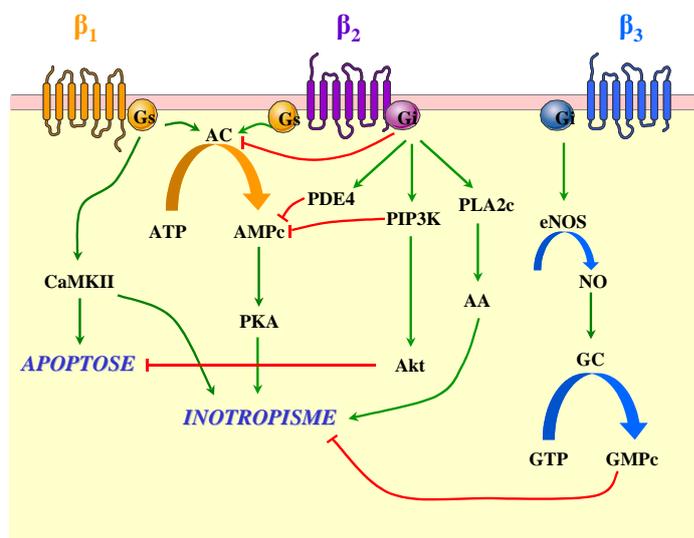


Figure 2. Schématisation des voies de signalisation β -adrénergiques modulant l'inotropisme et les voies pro/anti-apoptotiques. AA : acide arachidonique ; AC : adénylate cyclase ; Akt : protéine Akt ; AMPc: adénosine monophosphate cyclique ; ATP : adénosine triphosphate ; β : récepteur β -adrénergique ; CaMKII : protéine kinase Ca^{2+} /calmoduline dépendante ; eNOS : NO synthase endothéliale ; GC : guanylate cyclase ; Gi : protéine G inhibitrice ; GMPc : guanosine monophosphate cyclique ; Gs : protéine G stimulatrice ; GTP : guanosine triphosphate ; NO : monoxyde d'azote ; PDE4 : phosphodiesterase de type 4 ; PKA : protéine kinase A ; PIP3K : Phosphatidylinositol-3-Phosphate kinase ; PLA2c : phospholipase 2 cytosolique.

I.D. Polymorphismes des récepteurs β -adrénergiques

Différents polymorphismes parmi les gènes codant les récepteurs β_1 et β_2 -ARs ont été identifiés. Certains ont des conséquences fonctionnelles, par l'intermédiaire d'une altération du couplage aux protéines G ou par accentuation des phénomènes de désensibilisation, qui ont été caractérisées *in vitro* ou *in vivo*. Dans des modèles animaux de rongeurs, ces conséquences fonctionnelles sont une plus grande susceptibilité à développer une IC, ou une altération de la réponse aux catécholamines. Chez l'homme, la substitution d'une cytosine par une guanine en position 1165 au niveau du gène codant le récepteur β_1 -AR, résultant en la substitution d'une arginine par une glycine (Arg389Gly), a été particulièrement étudiée. Ce polymorphisme concerne un domaine de fixation aux protéines G et plusieurs travaux *in vitro* et *in vivo* ont mis en évidence une réponse à l'isoprénaline et à la dobutamine plus importante chez les sujets Arg389. Concernant les potentielles conséquences de ce polymorphisme, certaines études ont mis en évidence une augmentation du risque de développement d'IC et une altération de la survie chez les homozygotes Arg389 mais ces données n'ont pas été retrouvées dans d'autres travaux. Une méta-analyse de trois études a pu montrer une amélioration significative de la FEVG sous bêta-bloquants chez les homozygotes Arg389 comparés aux porteurs du génotype Gly389 [19].

Concernant le récepteur β_3 -AR, un seul polymorphisme a été décrit (Trp64Arg, Fig. 1). Celui-ci semble être associé à une plus grande fréquence d'insulino-résistance, d'obésité et d'hypertension artérielle, mais il n'augmente pas le risque de maladie coronaire [20]. Aucune étude de son implication dans la régulation des voies de signalisation associées au récepteur β_3 -AR n'a été réalisée.

I.E. Régulation β -adrénergique de la fonction cardiaque

I.E.1. Inotropisme et lusitropisme

Récepteurs β_1 - et β_2 -adrénergiques

La stimulation de la voie AMPc/PKA par la stimulation β_1 -AR va agir sur différentes protéines impliquées dans le couplage excitation-contraction (canaux iCa,L, RyR, PLB) et des protéines régulatrices des myofilaments (Fig. 3).

La phosphorylation des canaux iCa,L et des RyR va induire une augmentation de la concentration de calcium intra-cellulaire ($[Ca^{2+}]_i$) lors de la contraction. L'amplitude de contraction en systole va donc être augmentée (effet inotrope positif). En diastole, la phosphorylation du PLB, protéine régulatrice de la protéine SERCA, va libérer celle-ci de l'effet inhibiteur du PLB et ainsi favoriser la recapture du Ca^{2+} dans le réticulum sarcoplasmique (effet lusitrope positif). De plus, la relaxation du cardiomyocyte sera favorisée par la phosphorylation de la TnI qui entraîne une accélération de la cinétique d'attachement-détachement des ponts actine-myosine (effets inotrope et lusitrope positifs) et une diminution de son affinité pour le Ca^{2+} (effet lusitrope positif). Enfin, la phosphorylation de la titine diminue la rigidité cellulaire et augmente la compliance [Gauthier *et al.*, 2008].

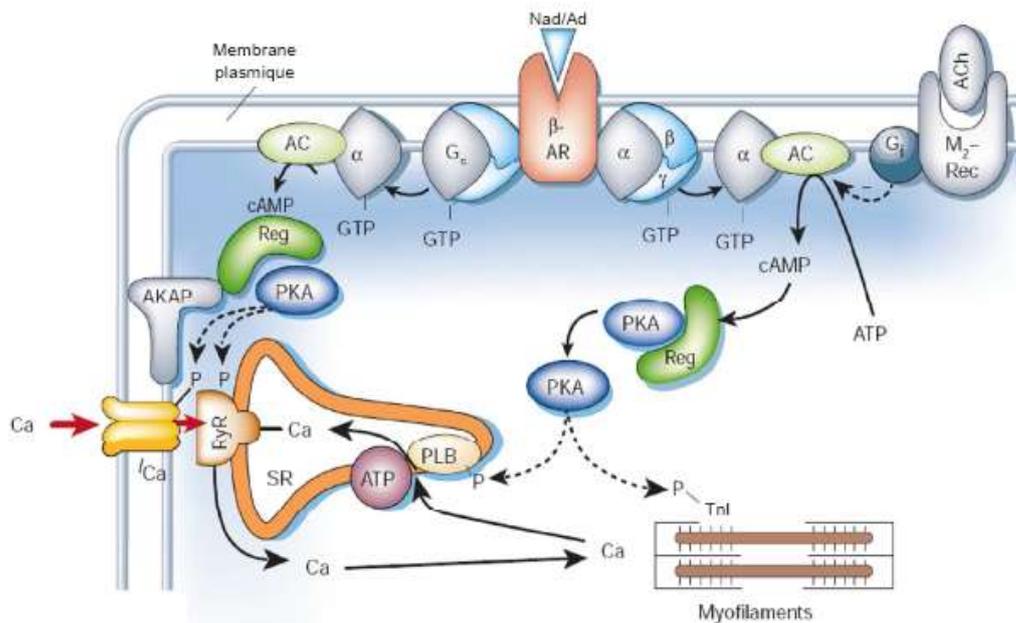


Figure 3. Schéma de la régulation β -adrénergique du couplage excitation-contraction : voie AMPc/PKA.
 AC : adénylate cyclase ; Ad/Nad : adrénaline/noradrénaline ; Ach : acétylcholine ; AKAP : protéine d'ancrage ;
 ATP : pompe calcique sarcoplasmique dépendante de l'hydrolyse ATP ; β -AR : récepteur β_1/β_2 adrénergique ;
 M2-Rec : récepteur muscarinique de type M2 ; PKA : protéine kinase A ; PLB : phospholamban ; Reg : sous-unité
 régulatrice de la PKA ; RyR : récepteur à la ryanodine ; SR : réticulum sarcoplasmique ; TnI : troponine I
 [D'après Bers, 2002]

Au niveau des cavéoles, la régulation β_2 -AR fait intervenir des effecteurs particuliers. Il existe une grande variabilité inter-espèce des effets de la stimulation β_2 -AR, comparé à l'uniformité des effets β_1 -AR. Cela implique que la signalisation β_2 -AR fait appel à des mécanismes régulateurs plus complexes [15]. En effet, lors d'une stimulation β_2 -AR, la stimulation de la voie Gs/AMPc/PKA induit des effets inotropes positifs similaires à ceux obtenus lors de la stimulation β_1 -AR, alors que les effets lusitropes positifs sont variables selon les espèces [Gauthier *et al.*, 2008]. De plus, le couplage du récepteur β_2 -AR à Gi agit également sur d'autres voies [15] :

- une inhibition de la voie AMPc/PKA réduisant l'effet inotrope positif ;
- une activation de la voie PIP3K induisant une augmentation de l'activité de phosphatases réduisant l'effet inotrope positif ;

- une activation de la voie PLA2c catalysant la formation d'acide arachidonique qui agit directement sur les canaux K^+ et Ca^{2+} , les RyR et la PKC aboutissant à un effet inotrope positif.

La ségrégation spatiale des β_2 -AR dans les cavéoles se répercute aussi sur l'influence du système nerveux parasympathique. En effet, seuls les β_1 -AR, sont co-localisés avec les récepteurs muscariniques. Ainsi, seuls les effets de la stimulation β_1 -AR sont sensibles aux effets antagonistes de la stimulation parasympathique (Fig. 3) [21].

Récepteur β_3 -adrénergique

Les effets de la stimulation β_3 -adrénergique sur la contractilité cardiaque sont différents selon les espèces considérées.

L'Homme

Les premières études portant sur les effets de la stimulation β_3 -AR dans le myocarde humain ont rapporté des effets inotropes et chronotropes positifs *in vivo* [22, 23]. Cependant, ces effets n'ont pas été obtenus avec des agonistes β_3 -AR préférentiels et ils semblent plutôt liés à l'activation du baroréflexe suite à la vasodilatation induite par la stimulation β_3 -AR.

Les effets contractiles induits par la stimulation β_3 -AR ont ensuite été étudiés sur des biopsies endo-myocardiques humaines obtenues à partir de cœurs transplantés, dans lesquelles un effet inotrope négatif dépendant de la voie du NO a été rapporté [11, 17, 18, 24]. La présence de récepteurs β_3 -AR dans le cœur humain non défaillant est renforcée par la détection par PCR de transcrits codant ce récepteur [18], et par la mise en évidence de la protéine β_3 -AR par Western-Blot et immunohistochimie [11].

Récemment, il a été montré un effet inotrope positif de la stimulation β_3 -AR dans des cardiomyocytes auriculaires humains *via* la voie de l'AMPC [25]. Cependant, il n'est pas

exclu que cet effet soit dû à une action sur les récepteurs β_1 - et β_2 -AR. En effet, les expérimentations ont été réalisées en présence de nadolol (antagoniste β_1 - et β_2 -AR) à une concentration trop faible (200 nM) pour réaliser un blocage efficace.

Le chien

Chez le chien, l'expression cardiaque du récepteur β_3 -AR a été démontrée à plusieurs reprises [26, 27]. *In vivo*, de nombreuses études ont montré des effets inotrope et chronotrope positifs de la stimulation β_3 -AR, attribués à une activation du baroréflexe en réponse à la vasodilatation périphérique induite par les agonistes β_3 -AR [28, 29]. De plus, les effets inotrope et chronotrope positifs observés sur des oreillettes de chien isolées et perfusées ont été attribués aux récepteurs β_1 -AR [30]. *In vitro*, la stimulation β_3 -AR induit un effet inotrope négatif sur les muscles papillaires et les cardiomyocytes isolés de chien [26, 27].

Le rat

La présence du récepteur β_3 -AR dans les cardiomyocytes de rat et de souris sains est toujours sujet à controverse. Dans une première étude, le rat a été classé comme hyporépondeur à la stimulation β_3 -AR, ce qui était corrélé à l'absence d'expression des transcrits β_3 -ARs [27]. Cependant, une récente étude a détecté la présence d'ARNm β_3 -AR [31]. Dans cette dernière, des effets inotrope et lusitrope négatifs de la stimulation β_3 -AR ont été rapportés sur des cœurs isolés et perfusés de rat. Ces effets sont dépendants de la voie Gi/NO/GMPc/protéine kinase G (PKG) [31]. Il a été rapporté également des effets inotrope et lusitrope négatifs de la stimulation β_3 -AR *in vivo* dans le cœur de rat [32].

La souris

La présence d'ARNm β_3 -AR a été détectée dans les cœurs de souris sauvage (*wild-type* : WT) [33]. Néanmoins, la possibilité de contamination des échantillons de coeur entier par du tissu graisseux n'est pas exclue dans cette étude. Les auteurs montrent également que chez les souris invalidées pour le gène codant le β_3 -AR (*knock-out* : KO), la réponse inotrope positive induite par injection d'isoprénaline *in vivo*, est supérieure à celle observée chez les WT. Cette différence est abolie après inhibition des NOS chez les WT, suggérant que la stimulation β_3 -AR induit un effet inotrope négatif *via* la voie du NO [33]. Dans un modèle de souris surexprimant le récepteur β_3 -AR humain spécifiquement dans les cardiomyocytes, la stimulation β_3 -AR induit un effet inotrope négatif impliquant la voie du GMPc alors qu'aucun effet n'est observé chez les souris WT [34]. Des résultats contradictoires ont été rapportés dans une autre étude utilisant le même modèle de souris transgénique dans lequel la stimulation β_3 -AR induit des effets inotrope et chronotrope positifs *via* Gs [35]. Cette différence pourrait être, en partie, expliquée par l'utilisation d'approches différentes (*in vivo*, *in vitro*) et par les deux souches différentes de souris utilisées pour réaliser les modèles transgéniques.

L'utilisation de différentes approches (*in vivo*, *in vitro*), modèles animaux, molécules pharmacologiques et protocoles peuvent expliquer les discordances observées concernant les effets contractiles de la stimulation β_3 -AR cardiaque. Cependant, la tendance actuelle tend à accepter un effet inotrope négatif de la stimulation β_3 -AR *in vitro* passant par les protéines Gi et la voie NO/GMPc. Il n'y a pas de consensus concernant les effets *in vivo*.

I.E.2. Effets électrophysiologiques

Récepteurs β_1 - et β_2 -adrénergiques

Dans les cellules du noeud sinusal, les stimulations β_1 - et β_2 -AR induisent une augmentation du courant *pacemaker* *If* aboutissant à un effet chronotrope positif. Le courant *If* est en partie responsable de la dépolarisation diastolique lente permettant l'activité automatique de ces cellules. La régulation se fait préférentiellement *via* le récepteur β_2 -AR, par action directe de l'AMPC sur le canal, augmentant sa probabilité d'ouverture. En effet, les récepteurs β_2 -AR sont beaucoup plus abondants dans les cellules *pacemaker* que dans le reste du cœur. De plus, ils sont spécifiquement co-localisés avec les canaux *If* dans les cavéoles [36].

Dans tous les cardiomyocytes, la stimulation des voies β_1 - et β_2 -AR induit :

- Une augmentation du courant *INa* par phosphorylation du canal par la PKA [37] et une augmentation du nombre de canaux *INa* fonctionnels à la membrane par une action directe de la sous-unité α de G_s , indépendamment de la voie AMPc/PKA [38]. Cela augmente la vitesse de conduction de l'influx cardiaque, on parle d'effet dromotrope positif.
- Une augmentation du courants *ICa,L* par phosphorylation du canal par la PKA qui induit une augmentation de $[Ca^{2+}]_i$ lors du couplage excitation-contraction, cette augmentation de Ca^{2+} libre intracellulaire est capable d'activer directement *IKs*.
- Une augmentation de *IKs* et *IK1* induisant respectivement une accélération de la repolarisation cardiaque et un potentiel de membrane diastolique moins négatif (effet bathmotrope positif). Les effets sur *IKr* sont variables et ce courant peut être soit augmenté soit diminué selon les interactions entre les seconds messagers et les voies α - et β -AR [[39]; Extramania *et al.*, 2008].

L'intégration de tous ces effets induit une accélération de la fréquence sinusale, ainsi qu'une accélération de la repolarisation cardiaque et donc une réduction de la durée du potentiel d'action (PA) [[39]; Extramania *et al.*, 2008].

Lorsqu'elle est fortement stimulée, cette voie de régulation peut avoir des conséquences délétères et favoriser les arythmies cardiaques. En augmentant l'automatisme des cellules du noeud sinusal, la stimulation β_1 - et β_2 -AR est capable d'activer l'automatisme des autres cellules du tissu conducteur et des cardiomyocytes auriculaires et ventriculaires et ainsi donner naissance à des foyers de stimulations ectopiques. De plus, si l'augmentation de Ca^{2+} libre intracellulaire est trop importante, elle peut entraîner une surcharge de Ca^{2+} qui peut activer des phénomènes s'exprimant sous forme de dépolarisation prématurée pouvant avoir lieu au cours (post-dépolarisations précoces ; Fig.4) ou à la fin (post-dépolarisations tardives) du PA. Les post-dépolarisations précoces et tardives sont à l'origine de troubles du rythme ventriculaires (Fig. 4).

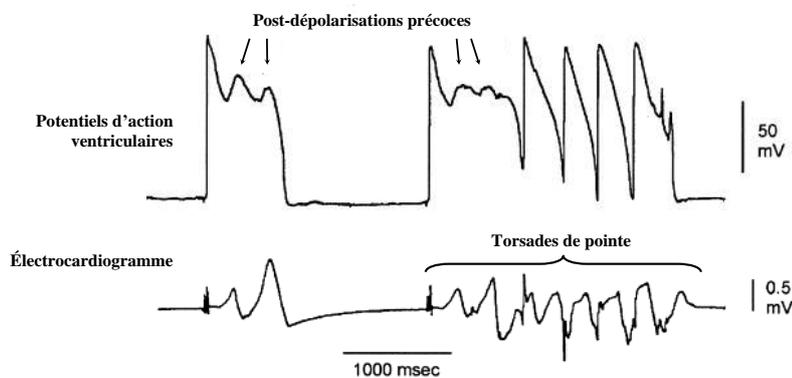


Figure 4. Exemples de post-dépolarisations précoces induites par le cisapride. Représentation des potentiels d'action ventriculaires et de l'électrocardiogramme correspondant [D'après Joshi *et al.*, 2004]

Récepteur β_3 -adrénergique

Les effets de la stimulation β_3 -AR sur l'activité électrique cardiaque ne sont pas encore bien établis. Il a été montré que la stimulation β_3 -AR réduit l'amplitude et la durée du PA dans des biopsies endomyocardiques humaines [18]. Par la suite, les effets de la stimulation β_3 -AR sur

certaines courants ioniques intervenant dans le PA ont été évalués. Il a été montré que la stimulation β_3 -AR diminue l'amplitude de $I_{Ca,L}$ via la voie du NO dans le coeur entier et les cardiomyocytes ventriculaires de cobaye [40, 41], la responsabilité d'une effet β_3 -AR étant ici incertaine puisque ce récepteur n'a pas été identifié dans cette espèce. Toutefois, des effets similaires ont été observés dans les cardiomyocytes de chien [26] et de rat [42].

Au niveau des courants repolarisants, deux études rapportent des effets contradictoires sur le courant I_{Ks} . La première montre que la stimulation β_3 -AR augmente l'amplitude du courant I_{Ks} via G_s dans un système recombinant [43]. Cependant cette étude n'utilise pas d'agoniste β_3 -AR spécifique et les mesures électrophysiologiques sont réalisées à 20°C, température à laquelle les NOS sont inactives. La seconde étude démontre que l'amplitude du courant I_{Ks} est réduite dans les cardiomyocytes ventriculaires de cobaye suite à une stimulation β_3 -AR [44]. Enfin, l'implication d'un autre courant repolarisant a été rapportée : le courant chlore porté par la protéine CFTR (*Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator*). En effet, la réduction d'amplitude du PA observée suite à une stimulation β_3 -AR est perdue dans les biopsies endomyocardiques issues de patients souffrant de la mucoviscidose, pathologie caractérisée par une perte d'expression de la protéine CFTR. La même étude rapporte, dans un système recombinant, que la stimulation β_3 -AR active le courant chlorure porté par CFTR [45].

I.F. Régulation β -adrénergique de la fonction vasculaire

La régulation adrénérique de la vasomotricité fait intervenir principalement les récepteurs α_1 -AR, localisés au niveau des cellules musculaires lisses (CML) vasculaires mais aussi les récepteurs β -AR, localisés au niveau des cellules endothéliales et des CML (Fig.5). La proportion de récepteurs α - et β -AR, et de leurs sous-types, varie en fonction de l'espèce et du lit vasculaire considéré.

La stimulation des récepteurs α_1 -AR induit une vasoconstriction impliquant l'activation des protéines Gq et la voie de l'inositol tri-phosphate qui agit en augmentant la $[Ca^{2+}]_i$ et ainsi augmente la contraction des CML. Les stimulations β -AR non sélective ou sélective d'un sous-type produisent une vasorelaxation empruntant différentes voies de signalisation selon le sous-type et la localisation du récepteur.

Dans les cellules endothéliales, les β_1 - et β_2 -AR sont couplés à la voie du NO, en partie *via* la voie Gs/AMPC/PKA. Le NO produit va diffuser vers les CML où il active la voie GMPc et induit une relaxation des CML.

La stimulation des récepteurs β_1 - et β_2 -AR localisés sur les CML stimule la voie Gs/AMPC/PKA qui diminue la $[Ca^{2+}]_i$ et favorise la vasorelaxation (Fig.5).

Le β_2 -AR est le sous-type prédominant dans la majorité des lits vasculaires [Rozec *et al.*, 2007]. Les récepteurs β_3 -AR semblent exprimés essentiellement au niveau endothélial où leur stimulation induit une vasorelaxation *via* la voie du NO [20, 46, 47]. Ils ont été mis en évidence chez l'homme dans les artères coronaires et dans l'artère mammaire interne [48, 49].

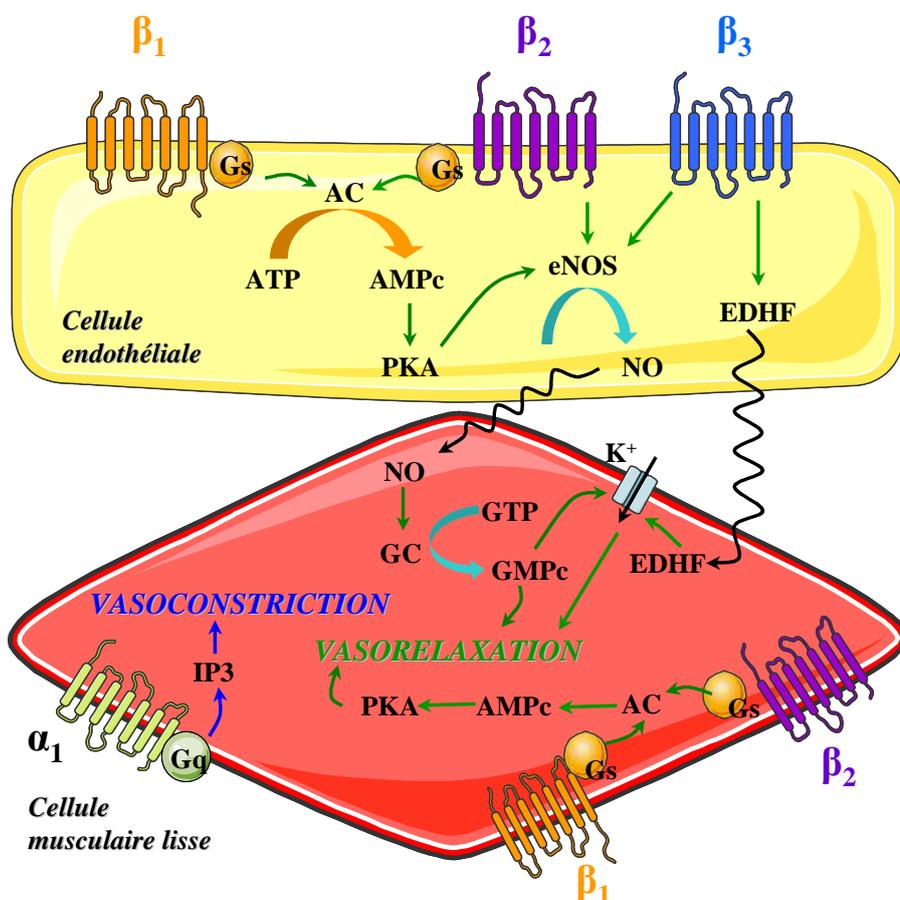


Figure 5. Schématisation des voies de signalisation α - et β -adrénergiques vasculaires. α : récepteur α -adrénergique ; AC : adénylate cyclase ; AMPc : adénosine monophosphate cyclique ; ATP : adénosine triphosphate ; β : récepteur β -adrénergique ; EDHF : facteur hyperpolarisant dérivé de l'endothélium ; eNOS : monoxyde d'azote synthase endothéliale ; GC : guanylate cyclase ; GMPc : guanosine monophosphate cyclique ; GTP : guanosine triphosphate ; K⁺ : potassium ; IP3 : inositol tri-phosphate ; NO : monoxyde d'azote ; PKA : protéine kinase A . [D'après Rozec & Gauthier, 2006]

II. INSUFFISANCE CARDIAQUE

II.A. Définitions

La définition physiopathologique de l'insuffisance cardiaque (IC) est celle d'une incapacité du cœur à fournir un débit sanguin suffisant pour répondre aux besoins métaboliques de l'organisme, à un niveau normal de pression de remplissage. La notion d'altération du débit cardiaque fait principalement appel à la seule notion de dysfonction systolique, mais les

symptômes d'IC peuvent également survenir chez des patients présentant une fonction systolique ventriculaire gauche préservée. Chez ces patients, une dysfonction diastolique isolée peut entraîner une élévation des pressions de remplissage ventriculaires gauches, on parle alors d'IC à fonction systolique préservée (ICFSP).

D'un point de vue clinique, l'IC est un syndrome défini par la Société Européenne de Cardiologie (ESC) comme l'association de signes et symptômes d'effort ou de repos à une preuve objective de dysfonction cardiaque systolique et/ou diastolique de repos obtenue préférentiellement par échocardiographie. La réponse favorable à un traitement approprié a également été intégrée dans les dernières recommandations comme troisième critère diagnostique en cas de doute [50].

II.B. Epidémiologie

Dans les différents registres, la prévalence de l'IC est généralement estimée entre 1 et 2% de la population générale. Son incidence atteint 5 à 10 patients sur 1000 par année. L'âge moyen du diagnostic en Europe se situe autour de 75 ans. Dans la cohorte de Framingham, le taux de survie un an après le diagnostic d'IC est de 70% et chute à 35% après 5 ans [51].

La prévalence de la dysfonction systolique dans la population générale varie en fonction des seuils choisis : de l'ordre de 3% pour une fraction d'éjection ventriculaire gauche (FEVG) < 30% [52], jusqu'à 6% si l'on considère une FEVG < 50%) [53]. Dans une population d'insuffisants cardiaques, la proportion de patients présentant une IC à fonction systolique préservée varie de 40 à 71% selon les études [54].

II.C. Etiologie

Les principales étiologies d'IC sont résumées dans le tableau 4. L'origine ischémique est aujourd'hui la plus fréquente. Chez le sujet âgé, l'IC à fonction systolique préservée est

prépondérante et son origine est multifactorielle (vieillesse, ischémie, hypertension artérielle (HTA), valvulopathies) [55].

Cardiopathies ischémiques	> 50%
HTA	≈ 4%
Idiopathique	≈ 18%
Valvulaire	≈ 2%
Autres (toxique, carencielle, péricardique...)	≈ 13%
Inconnue	≈ 13%

Tableau 4. Principales causes d'IC et leurs fréquences

II.D. Physiopathologie : remodelage cardiaque

Les manifestations cliniques d'IC sont le résultat de modifications des composants cellulaires et moléculaires du cœur, induites par des médiateurs destinés à maintenir l'homéostasie. L'ensemble de ces modifications est reconnu sous le terme de remodelage cardiaque (pour revue, voir [56]).

Le remodelage cardiaque est défini comme une modification de l'expression du génome, des modifications moléculaires, cellulaires et interstitielles qui se manifestent cliniquement en terme de taille, géométrie et fonction du cœur. Le processus est induit par les modifications des conditions de charge hémodynamiques et l'activation neuro-hormonale en réponse à une surcharge volumétrique, barométrique ou mixte sur les parois ventriculaires.

A l'étage macroscopique, il existe dans un premier temps un stade d'hypertrophie « compensée », qui tend à normaliser la contrainte pariétale. Le remodelage pathologique évolue ensuite vers une dilatation ventriculaire, l'hypertrophie devenant alors insuffisante pour normaliser la contrainte pariétale qui augmente considérablement (Fig. 14).

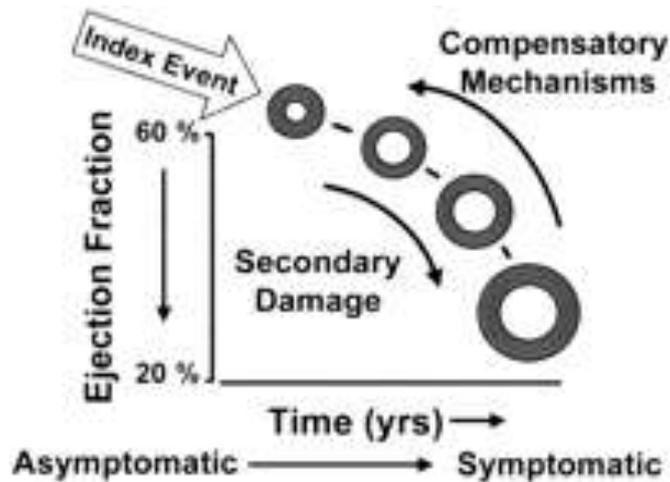


Figure 6. Remodelage ventriculaire gauche macroscopique au cours de l'insuffisance cardiaque.

L'activation neuro-hormonale en réponse à la baisse du débit cardiaque est un élément majeur du processus de remodelage. Les taux plasmatiques et tissulaires de catécholamines, reflétant l'état d'hyperactivation du système sympathique, sont très élevés dans l'IC et sont directement corrélés au pronostic [56]. Les conséquences de cet état hyper-adrénergique sur l'expression et la fonction des β -ARs seront détaillées au prochain chapitre. L'activation du système rénine-angiotensine-aldostérone (SRAA) joue également un rôle majeur dans le processus de remodelage, notamment par le biais de l'induction d'une prolifération de la matrice extra-cellulaire à l'origine de la fibrose [56]. D'autres éléments moléculaires sont également impliqués comme médiateurs du remodelage dans l'IC :

- l'endothéline est un peptide vasoconstricteur activant des voies de signalisation pro-hypertrophiques ,
- des cytokines pro-inflammatoires comme le TNF-alpha et certaines interleukines, les radicaux libres et espèces réactives de l'oxygène, sont des éléments inducteurs d'apoptose et de nécrose qui majorent la perte cellulaire [56].

A l'étage cellulaire, l'élément contractile, le cardiomyocyte est diversement impliqué dans le remodelage. L'augmentation de la contrainte pariétale entraîne un étirement des membranes cellulaires qui va constituer l'élément activant des voies de signalisation qui vont conduire à

l'expression ou la ré-expression de gènes associés à l'hypertrophie. De nouvelles protéines contractiles sont notamment synthétisées, qui vont aboutir à des modifications du sarcomère qui pourront conduire à la dysfonction contractile. Au niveau de l'interstitium, les fibroblastes sont stimulés et la synthèse de collagène est augmentée, aboutissant à la fibrose. La collagénase myocardique, dans une forme inactive dans le myocarde normal, est activée au cours du remodelage [56]. La dégradation de l'interstitium associée aux phénomènes profibrosants, contribue alors à la dysfonction contractile et à la dilatation ventriculaire. Enfin, les phénomènes d'apoptose jouent un rôle majeur dans l'induction de la perte cellulaire et de la fibrose [56].

II.E. Particularités de l'IC à fonction systolique préservée

Sur le plan épidémiologique, l'ICFSP se distingue par une population plus âgée que dans l'IC systolique, elle touche en majorité le sexe féminin [57]. Une hypertension artérielle (HTA) ancienne est très communément associée chez les patients présentant une ICFSP [57].

En terme de remodelage, l'insuffisance cardiaque à fonction systolique préservée se présente de manière particulière. Le ventricule gauche apparaît dans la grande majorité des cas non dilaté et sa fonction systolique globale, estimée par la FEVG, est préservée, supérieure à 45 ou 55% selon les définitions. Toutefois, plusieurs études échocardiographiques ont mis en évidence chez ces patients une altération significative de la fonction systolique longitudinale du ventricule gauche. De plus, les études physiopathologiques réalisées dans cette population par l'intermédiaire de boucles pression-volume, ont mis en évidence une altération du couplage ventriculo-artériel. En effet, en comparaison à des patients de même âge sains ou hypertendus, il existe dans l'IC à fonction systolique préservée une élévation de l'élastance artérielle due à une élévation des résistances systémiques ainsi qu'une élévation de l'élastance

télé-systolique VG reflétant la contractilité intrinsèque du VG, indépendante des conditions de charge.

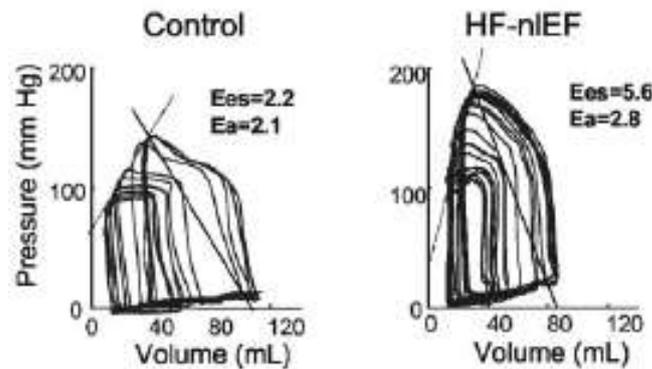


Figure 7. Exemples de boucles pression-volume VG chez un sujet sain (control) et un autre présentant une ICFSP (HF-nIEF) avec altération du couplage ventriculo-artériel sous la forme d'une augmentation des élastances télé-systolique (E_{es}) et artérielle (E_a), d'après Kawaguchi et al. [58].

Cette altération du couplage ventriculo-artériel est à l'origine d'une augmentation de la consommation myocardique en oxygène, et s'accompagne, à l'effort ou lors d'un stress, d'un allongement des temps de relaxation et de la pression télé-diastolique VG qui pourrait expliquer la grande sensibilité observée en clinique à des modifications brutales de charge, comme par exemple une poussée d'hypertension artérielle, souvent retrouvées à l'origine de décompensations aiguës [57].

III. REMODELAGE BETA-ADRENERGIQUE DANS L'INSUFFISANCE CARDIAQUE

L'altération du débit cardiaque et l'augmentation de la contrainte pariétale ventriculaire gauche mettent en jeu plusieurs mécanismes compensateurs parmi lesquels une augmentation du tonus sympathique et une hyperstimulation β -adrénergique. Au niveau myocardique, cette hyperstimulation chronique induit, *via* les processus de désensibilisation, une diminution d'environ 50% de la quantité des récepteurs β_1 -ARs alors que la densité des récepteurs β_2 -AR

ne varie pas [9]. Parallèlement, il se produit un découplage des voies de signalisation des récepteurs β_1 et β_2 -ARs. Il a également été mis en évidence une augmentation de 35 à 40% du taux de la protéine G_{α_i} , alors que le taux de protéine G_{α_s} reste inchangé [11, 59]. L'ensemble de ces modifications conduit à une diminution de la réponse inotrope positive aux agonistes β_1 et β_2 -AR caractérisée sur le plan fonctionnel par de nombreux auteurs [60]. Au niveau vasculaire, les résultats sont en faveur d'un remodelage identique à celui observé dans le myocarde : diminution de la densité des récepteurs β_1 - et β_2 -ARs, ainsi que des taux d'AMPc et GMPc, et de leurs propriétés fonctionnelles [61]. Il est logique de penser que les mêmes phénomènes de désensibilisation soient en cause.

Plus récemment, il a été mis en évidence que l'expression du récepteur β_3 -AR était augmentée dans des biopsies myocardiques obtenues sur cœurs explantés au stade terminal de l'IC chez l'homme [11]. Dans cette étude, l'effet inotrope négatif du BRL 37344 est moins important dans le cœur défaillant que dans le cœur sain. Cependant, la réduction de la réponse inotrope positive à l'isoprénaline est supérieure à la réduction de la réponse inotrope négative au BRL 37344, ce qui laisse supposer que ce remodelage β -AR modifiant l'équilibre de la balance entre les effets respectivement inotrope positif de la stimulation β_1 -AR et inotrope négatif de la stimulation β_3 -AR pourrait aboutir à une altération de la contractilité sous stimulation β -AR au stade terminal de l'IC et participer à la dégradation fonctionnelle observée dans l'IC avancée [11] (Fig.8).

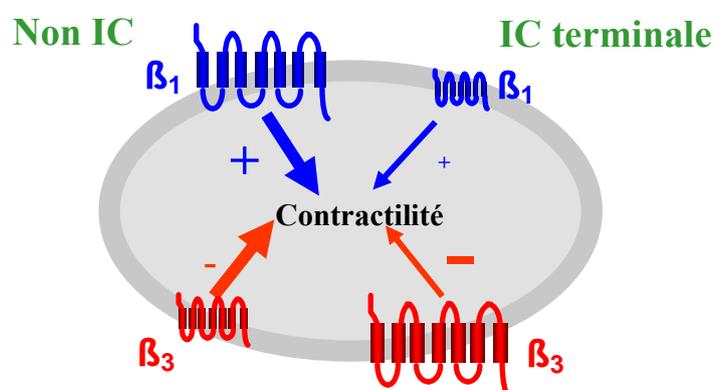


Figure 8 : Hypothèse physiopathologique du remodelage β_1/β_3 -AR au stade terminal de l'IC (d'après Moniotte et coll., 2001)

Plusieurs études confirment ces variations opposées des quantités de récepteurs β_1 et β_3 -AR dans l'IC dans des modèles animaux. En effet, l'expression du récepteur β_1 -AR est diminuée chez la souris Tg β_3 [35]. De plus, celle-ci ne développe pas d'hypertrophie ou de fibrose [34], suggérant un effet cardioprotecteur de la stimulation β_3 -AR dans l'IC chronique.

Dans l'HTA, une diminution globale de la réponse à la stimulation β -AR est observée chez l'homme [62] et dans plusieurs modèles animaux. Les mécanismes impliqués sont une diminution de la densité des récepteurs β -AR, une diminution des niveaux d'expression des protéines G et une diminution des niveaux d'expression des effecteurs du couplage récepteurs β -protéines G [63]. Dans l'aorte thoracique de rat SHR (spontaneously hypertensive rats) âgé de douze semaines, il a été démontré une augmentation de l'expression du récepteur β_3 -AR, mais sans augmentation de la vasorelaxation induite par la stimulation β_3 -AR [64]. Afin de déterminer les conséquences de cette surexpression, un modèle de rat transgénique (Tg β_3) surexprimant le récepteur β_3 -AR humain au niveau endothélial a été développé [65].

IV. TRAITEMENTS BETA-BLOQUANTS ET INSUFFISANCE CARDIAQUE

IV.A. Pharmacologie et classification

Les traitements bêta-bloquants sont classés en trois catégories selon différents profils pharmacologiques :

- les bêta-bloquants de première génération bloquent de manière compétitive et non sélective les récepteurs β_1 et β_2 -AR (exemples : nadolol, propranolol).

- les bêta-bloquants de deuxième génération ont des propriétés β_1 -antagonistes sélectives, ils sont donc principalement cardiosélectifs. Le bisoprolol et le métoprolol appartiennent à cette classe [66].
- une troisième génération de bêta-bloquants se distingue par ses effets vasodilatateurs. Le carvedilol est un agoniste non sélectif pour les récepteurs β_1 et β_2 -AR mais exerce un effet vasodilatateur par l'intermédiaire d'une action alpha-bloquante [67]. Le nébivolol possède un effet β_1 -bloquant hautement sélectif et son effet vasodilatateur résulte d'une action β_3 -AR agoniste avec libération endothéliale de NO [12, 68].

IV.B. Effets des bêta-bloquants dans le traitement de l'insuffisance cardiaque

IV.B.1. Effets sur le remodelage et la fonction ventriculaire gauche

Une méta-analyse portant sur 3023 patients montre que les bêta-bloquants augmentent significativement la FEVG de 29% par rapport au placebo [69]. Les travaux ayant précédé les études de morbi-mortalité sur les bêta-bloquants ont également montré, notamment lors d'une comparaison des effets du métoprolol et du carvedilol chez l'homme, une amélioration de la capacité à l'effort des patients traités. Cet effet semble être lié à une restauration partielle de la quantité de β_1 -AR sous métoprolol, alors que le carvedilol montre les mêmes effets hémodynamiques sans moduler l'expression des β_1 -AR [60].

Les mécanismes impliqués dans l'induction du remodelage inverse sont multiples mais encore incomplètement démontrés. Dans une étude échocardiographique, le remplissage ventriculaire gauche est amélioré sous métoprolol indépendamment de la fréquence cardiaque [70]. On observe une amélioration de la performance systolique globale du ventricule gauche malgré l'action inotrope négative des bêta-bloquants qui pourrait être expliquée par une amélioration

de l'énergétique myocardique [71]. En effet, l'amélioration des conditions de charge, la diminution des contraintes pariétales, un meilleur couplage ventriculo-artériel et l'effet inotrope négatif font partie des mécanismes d'action bénéfiques supposés des bêta-bloquants dans l'IC, qui aboutiraient à améliorer l'équilibre de la balance entre apport et consommation myocardique en oxygène. Sur le plan moléculaire, une autre hypothèse pour expliquer les effets bénéfiques des bêta-bloquants est celle d'une action positive de prévention de la désensibilisation des β_1 -ARs [60]. Ces mécanismes d'action potentiellement bénéfiques des bêta-bloquants, hémodynamiques et moléculaires, semblent assez hétérogènes d'une classe et/ou d'une molécule à l'autre et différer en fonction de leurs profils pharmacologiques [60].

IV.B.2 Effets sur la morbi-mortalité

L'US-Carvedilol Heart Failure Trial Program a été le premier à démontrer les effets bénéfiques des bêta-bloquants sur la survie dans l'IC. Cette étude comportait 1094 patients, dont 53% en classe II de la classification NYHA et 44% en classe III. Dans cette population, le carvedilol réduit significativement la mortalité totale de 65% par rapport au placebo, les hospitalisations de 27% et le risque combiné décès ou hospitalisation de 38% [72]. Dans l'essai CIBIS-II mené sur 2647 patients (83% en classe III NYHA, 17% en classe IV, FEVG moyenne 28%), le bisoprolol réduit significativement la mortalité totale de 34% sur un suivi moyen de 1,3 an [73]. L'étude MERIT-HF s'est intéressée également à une population d'insuffisants cardiaques stables (41% classe II, 56% classe III NYHA, FEVG moyenne 28%) dans laquelle le métoprolol réduit significativement la mortalité totale de 34% [74]. L'étude COPERNICUS a inclus 2289 patients plus sévères que dans les précédents essais, en classe IIIb ou IV NYHA avec FEVG < 25%. Le carvedilol y réduit significativement la mortalité totale de 35% par rapport au placebo, sans majoration du risque d'effets secondaires

[75]. L'étude SENIORS s'est intéressée aux effets du nébivolol *versus* placebo dans une population plus âgée que les études précédentes, dont les âges moyens variaient de 58 à 64 ans. Elle inclut des patients d'âge supérieur ou égal à 70 ans ayant une FEVG inférieure ou égale à 35 % (64% des patients de l'étude) et/ou une hospitalisation pour IC au cours des douze derniers mois quelle que soit la FEVG. Après un suivi moyen de 21 mois, le risque de décès ou d'hospitalisations pour causes cardio-vasculaires est significativement réduit de 14% sous nébivolol. Dans les analyses en sous-groupes, l'efficacité du nébivolol semble similaire à celle des trois autres bêta-bloquants carvédilol, bisoprolol et métoprolol pour la population d'âge inférieur à 75 ans avec FEVG inférieure ou égale à 35%. Son efficacité n'est pas modifiée par le niveau de FEVG, ce qui suggère une éventuelle efficacité de cette molécule dans l'IC à fonction systolique préservée [76].

L'étude COMET a comparé les effets d'un bêta-bloquant cardio-sélectif de deuxième génération, le tartrate de métoprolol, et un bêta-bloquant vasodilatateur de troisième génération, le carvédilol. Sur une population de 3029 patients en classe II ou III NYHA avec FEVG moyenne de 26%, suivis sur une durée moyenne de 58 mois, le carvédilol réduit significativement plus la mortalité totale que le tartrate de métoprolol (-17%). L'intensité du blocage des β -AR ne semble pas en cause dans cette différence d'efficacité puisque la diminution de fréquence cardiaque était identique pour les deux molécules [77].

IV.C. Indications

Selon les recommandations de l'ESC, les bêta-bloquants sont indiqués chez les patients présentant une IC modérée à sévère, en classe II à IV de la NYHA, d'origine ischémique ou non, avec dysfonction systolique (recommandation de classe I, niveau de preuve A). Sur la base des études précédemment décrites, notamment l'étude COMET, qui suggèrent des effets

différents entre divers béta-bloquants selon leurs propriétés pharmacologiques, seuls le bisoprolol, le carvedilol, le succinate de métoprolol et le nébivolol sont recommandés dans le traitement de l'IC [50].

V. OBJECTIFS

Tous les traitements béta-bloquants étudiés dans l'insuffisance cardiaque améliorent la survie mais, selon leurs propriétés pharmacologiques, les différents mécanismes d'action bénéfiques de ces molécules (hémodynamiques, moléculaires sur la diminution de la désensibilisation et « down-regulation » des β_1 -AR, propriétés anti-oxydantes) sont encore incomplètement identifiés et semblent hétérogènes d'une classe à l'autre et/ou d'une molécule à l'autre.

De plus, les études fondamentales suggèrent un rôle clé du récepteur β_3 -AR dans la physiopathologie de l'insuffisance cardiaque. En effet, la stimulation du récepteur β_3 -AR, par ses effets inotrope négatif, vasodilatateur et inducteur de synthèse de NO, pourrait représenter une cible thérapeutique intéressante dans le traitement de l'IC chronique en améliorant la balance entre apport et consommation myocardique en oxygène (balance O_2/MVO_2) [20], et en réduisant le stress oxydant. A l'inverse, sa relative résistance aux phénomènes de désensibilisation et « down-regulation » semblent en faire un élément délétère dans l'IC avancée [11]. Enfin, les effets de la stimulation β_3 -AR dans l'IC aiguë n'ont pas encore été étudiés.

Le récepteur β_3 -AR semble ainsi au carrefour de la recherche clinique et fondamentale actuelle sur les traitements béta-bloquants dans l'IC. Ce travail s'articule donc autour de plusieurs études :

- comparer les effets d'un béta-bloquant de deuxième génération, le bisoprolol, et d'un béta-bloquant de troisième génération doté de propriétés β_3 -agonistes, le nébivolol, sur

le remodelage β -AR et les paramètres hémodynamiques, dans un modèle animal aux stades aigu et chronique de l'IC.

- étudier les conséquences de la surexpression du récepteur β_3 -AR endothélial dans un modèle de rat transgénique sur le remodelage β -adrénergique et les fonctions cardiaque et vasculaire.

Dans la thématique d'évaluation du rôle du récepteur β_3 -AR en physiopathologie cardiovasculaire intégrée, les effets potentiels cardiaques et vasculaires attendus nécessitent de développer une technique d'évaluation de la fonction cardiaque intrinsèque, indépendamment des conditions de charge du VG.

La première partie de ce travail a donc consisté à mettre en place la technique des boucles pression-volume du VG au sein de l'unité INSERM U915 à partir des données de la littérature, celle-ci sera traitée dans le chapitre Matériel et Méthode.

MATERIELS ET METHODE

I. MODELES ANIMAUX

I.A. Insuffisance cardiaque aux stades aigu et chronique

Le modèle d'IC aux stades aigu et chronique est obtenu à partir de rats Sprague-Dawley (Elevage Janvier, France) subissant à l'âge de 7 semaines une ligature coronaire chirurgicale. L'intervention est réalisée sous anesthésie gazeuse à l'isoflurane (Forene[®], Abbott), complétée à visée antalgique par une injection sous-cutanée de 0,1 ml/kg de buprénorphine (Nubain[®], SERB) en début et en fin de procédure. Après une induction de quelques minutes par isoflurane 5 % dans une chambre étanche, l'animal est intubé par voie oro-trachéale et ventilé à l'aide d'un ventilateur pour petits animaux (Harvard Apparatus 683, EU). Pendant l'intervention, l'anesthésie est maintenue par une dose d'isoflurane de 4%, les paramètres ventilatoires étant : fraction inspirée en O₂ (FiO₂) 100 %, volume courant 10 ml/kg à une fréquence respiratoire de 60/min. Le thorax est ouvert entre les 3^e et 4^e côtes gauches et maintenu ouvert au moyen de micro-écarteurs, le thymus et le poumon gauche sont réclinés et le péricarde ouvert. La ligature est réalisée avec un fil non résorbable Prolène[®] 6.0 (Ethicon) à la partie proximale du sillon inter-ventriculaire de façon à obtenir un infarctus du myocarde (IDM) moyen à massif. Le thorax est ensuite refermé plan par plan et le pneumothorax drainé en fin de procédure. Les rats sont répartis en deux groupes : (i) rats IDM, ayant subi la ligature, (ii) rats SHAM, opérés mais non ligaturés. L'étude au stade aigu de l'IC est menée au troisième jour post-opératoire. Six groupes de rats sont définis selon le traitement reçu: rats SHAM et IDM traités à J1 et J2 post-IDM par injection sous-cutanée de nébivolol ou bisoprolol à la dose de 5 mg/kg/jour, dilué dans du polyéthylène glycol 600-0,05 % (PEG) deux fois par jour (SHAM-N, SHAM-B, IDM-N, IDM-B), ou injection de placebo par PEG deux fois par jour (SHAM-P et IDM-P). L'étude au stade chronique de l'IC est menée au

quatorzième jour post-infarctus. Les six mêmes groupes ont été réalisés et ont reçu oralement 5 mg/kg/j de nébivolol ou de bisoprolol dilué dans de l'eau de boisson ultra-pure à raison de 30 ml/j/rat, le placebo étant de l'eau ultra-pure en quantité identique.

Dans ces deux modèles, une exploration fonctionnelle hémodynamique est d'abord menée *in vivo* par l'étude des boucles pression-volume du VG. Les animaux sont ensuite sacrifiés et l'étude hémodynamique est poursuivie *ex vivo* sur cœur isolé perfusé et *in vitro* par l'étude de la vasoréactivité d'anneaux d'aorte thoracique. En parallèle est réalisée une étude moléculaire de quantification relative de la transcription des gènes codant pour les trois sous-types de récepteurs β -AR dans les six groupes par RT-PCR.

I.B. Rat transgénique surexprimant le récepteur β_3 -AR humain dans les cellules endothéliales

Ce modèle est obtenu à partir de rats Sprague-Dawley. La surexpression endothéliale du gène d'intérêt porte sur une construction moléculaire codant une forme humaine du récepteur β_3 -AR sous le contrôle du promoteur de l'ICAM 2 (« intercellular adhesion molecule class 2 »). Ce promoteur est décrit comme présentant une expression exclusivement endothéliale [78]. Le programme de transgénèse a été réalisé par injection de la construction dans des ovocytes. Des fondateurs surexprimant le récepteur β_3 -AR ont permis d'établir des générations F₁ [65]. L'exploration hémodynamique est réalisée sur des animaux âgés de 12 à 14 semaines, elle combine dans un premier temps une étude *in vivo* permettant le recueil des paramètres à l'état de base par l'analyse des boucles pression-volume du VG, puis une étude *ex vivo* sur cœur isolé perfusé.

II. EXPLORATIONS HEMODYNAMIQUES

II.A. Etude *in vivo* : boucles pression-volume du ventricule gauche

L'exploration est réalisée sous anesthésie inhalée (isoflurane 4 % durant la dissection, 2 % lors des enregistrements pour limiter le retentissement hémodynamique de la molécule), en ventilation spontanée. Les plans cutané et musculaire de la face antérieure du cou sont disséqués, la veine jugulaire gauche est libérée, ligaturée à sa partie proximale et un cathéter y est introduit de façon à pouvoir prélever un échantillon de sang, ou injecter une solution saline et d'éventuelles substances pharmacologiques (cf. ci-dessous). L'artère carotide droite est également libérée du plan musculaire profond, séparée de son adhérence avec le nerf vague, puis ligaturée en sa partie proximale. Elle est alors clampée en distalité de façon à pouvoir y introduire un cathéter pression-volume SPR 838 taille 2F (Millar Instruments®). La pression artérielle est enregistrée durant une minute dans l'artère carotide après une minute de stabilisation, puis la sonde est descendue par voie rétrograde dans le VG, jusqu'en position de butée à l'apex de celui-ci. Les données sont enregistrées et analysées sur le logiciel Emka IOX 1.8.9.17.

II.A.1. Principes de base

L'analyse de la fonction cardiaque *in vivo* se heurte aux interactions entre la pompe cardiaque et le système vasculaire qui, par la seule variation des conditions de charge du ventricule gauche (VG), peut moduler les paramètres d'évaluation de fonction systolique et diastolique utilisés couramment (DP/dt max, DP/dt min, constante de relaxation Tau, FEVG en échographie).

Les travaux de Suga et Sagawa menés dans les années 1970 sur le chien et le singe ont démontré qu'une intervention déterminant un changement brutal des conditions de charge, sans effet sur la contractilité myocardique (occlusion de la veine cave inférieure (VCI) par

exemple), permet d'obtenir une série de boucles pression-volume avec différents points télé-systoliques et télé-diastoliques. L'occlusion transitoire de la VCI est réalisée après ouverture de la cavité abdominale au niveau sous-xyphoïdien, de façon à pouvoir exposer celle-ci précisément après avoir refoulé le foie vers l'avant, de façon à exercer une variation de pré-charge efficace.

La relation pression-volume télé-systolique est linéaire et correspond à l'équation $P_{es} = E_{es}(V_{es} - V_0)$, où P_{es} est la pression télé-systolique, V_{es} le volume télé-systolique, V_0 le point d'intersection de la droite avec l'axe des volumes (volume théorique du VG pour lequel la pression intra-cavitaire est nulle), et E_{es} la pente de cette droite, dite élastance télé-systolique, qui caractérise la contractilité intrinsèque du myocarde indépendamment des conditions de charge (Figure 9). Plus la valeur de la pente de la droite est élevée, plus la contractilité du myocarde étudié est importante et inversement, rendant comparables plusieurs VG entre eux ou différents états contractiles pour un même cœur (Figure 10). La relation pression-volume télé-diastolique reliant les différents points télé-diastoliques n'est pas linéaire. Plusieurs équations peuvent être utilisées pour la définir et ainsi évaluer les propriétés passives de compliance du VG (Figure 9). Cette technique permet également d'appréhender la consommation énergétique du cycle cardiaque ainsi que les résistances vasculaires systémiques.

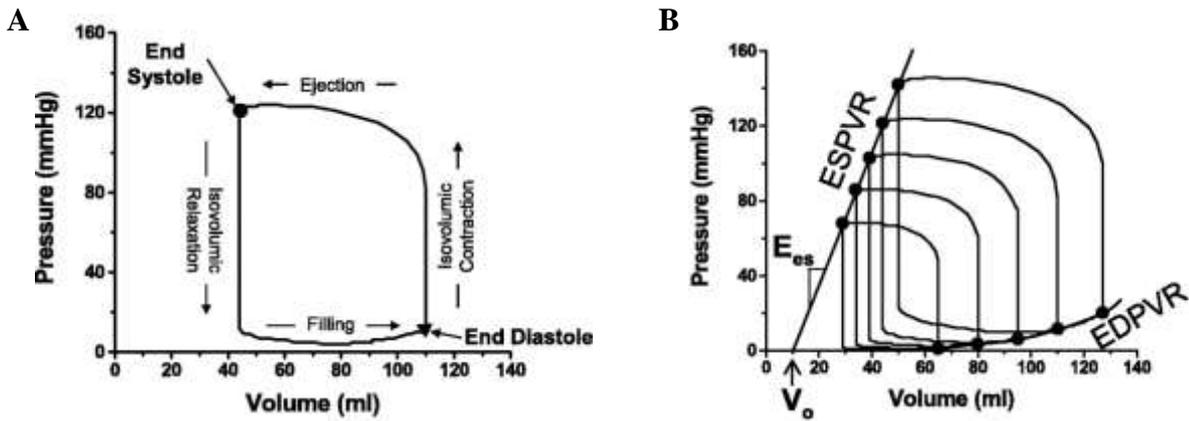
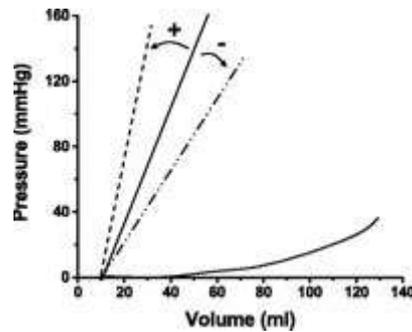


Figure 9. A, boucle pression-volume du VG obtenue en état de base sur un cycle cardiaque ; B, relations pression-volume télé-systolique et télé-diastolique obtenues lors d'une diminution brutale de la pré-charge du VG par occlusion transitoire de la VCI. ESPVR = relation pression volume télé-sytolique, EDPVR = relation pression-volume télé-diastolique (tiré de Burkhoff, Mirsky et Suga,[1])

Figure 10. Evolution de la pente de la relation PV télé-systolique en fonction de l'état contractile (+ = effet inotrope positif, - = effet inotrope négatif), (tiré de Burkhoff, Mirsky et Suga,[1]).



II.A.2 Principes physiques impliqués dans la mesure de volumes du ventricule gauche et conséquences sur la technique

Le cathéter Millar SPR 838 est composé d'un capteur de pression et de 4 électrodes situées de part et d'autre de ce capteur permettant de déterminer un volume d'après la méthode de mesure de conductance [79]. Deux électrodes distantes de 9 mm génèrent un courant électrique dont l'intensité (I), divisée par la différence de potentiel (U) recueillie par deux autres électrodes définit une conductance G ($G=I/U$). A chaque instant t du cycle cardiaque, le volume de la cavité ventriculaire gauche est défini par l'équation suivante : $V(t)=1/\alpha \cdot \rho \cdot L^2 \cdot [G(t)-G_p(t)]$, où V est le volume ventriculaire gauche, G la conductance mesurée, ρ la résistivité spécifique du sang, L la distance entre les électrodes de recueil, α le facteur de pente de la relation volume-conductance, G_p la conductance parallèle. Dans cette équation, le

facteur G est la grandeur mesurée, L est connu (9 mm), α est prédéfini par le logiciel IOX à 1,00 et est connu pour ne pas varier dans les gammes physiologiques [1, 79]. En revanche, ρ et G_p doivent être mesurés parallèlement à toute étude hémodynamique.

i. Détermination de la résistivité du sang (ρ)

Le logiciel IOX est configuré de manière à fixer ρ et à exprimer les volumes mesurés en unités arbitraires. Il paraît cependant plus juste, dans les modèles de pathologie chronique pouvant influencer sur la viscosité sanguine et l'équilibre hydro-électrolytique, de mesurer ρ . Ainsi, en début de procédure, un cathéter est placé dans la veine jugulaire gauche de l'animal permettant de prélever deux échantillons de 0,5 et 1 ml de sang placés dans deux cuves héparinées de mêmes volumes, maintenues au bain-marie à 37°C. Ce volume sanguin est restitué à l'animal avant la procédure de mesures hémodynamiques. Le cathéter de conductance est introduit le plus précisément possible au centre de chaque cuve, la valeur ρ est ainsi étalonnée sur deux points à partir de la différence de potentiel (U en Volts) mesurée dans chacune des deux cuves (le logiciel IOX ne permettant pas une calibration sur plus de valeurs):

$$\rho = \frac{U}{I} \quad \text{où } I \text{ est l'intensité du courant produit par la sonde (fixe).}$$

ii. Evaluation de la conductance parallèle G_p

La conductance mesurée *in situ* par le cathéter n'est pas due uniquement au sang contenu dans le VG, mais aussi en partie aux structures adjacentes. Il est généralement admis que la contribution de ces structures adjacentes à la conductance mesurée est constante tout au long du cycle cardiaque. Elle est appelée conductance parallèle et est notée G_p . En principe, G_p

serait la conductance mesurée si la conductance à l'intérieur du VG était nulle, c'est-à-dire si le volume de la cavité était nul. Réduire à zéro le volume de la cavité ventriculaire gauche étant impossible, G_p est mesurée selon la technique d'injection d'une saline hypertonique [80]. En fin d'expérience, 100 μl de solution NaCl 10% sont injectés par l'intermédiaire du cathéter jugulaire gauche mis en place initialement. Cette manipulation est impérativement réalisée en fin d'expérience de façon à ne pas modifier la résistivité du sang ρ , mesurée pour l'étude hémodynamique. Le principe est le suivant : le bolus de 100 μl induit une brève augmentation de conductance dans la cavité ventriculaire gauche, et donc du volume mesuré, sans que ce bolus de 100 μl soit suffisant pour induire une variation des pressions intracavitaires (Figure 11).

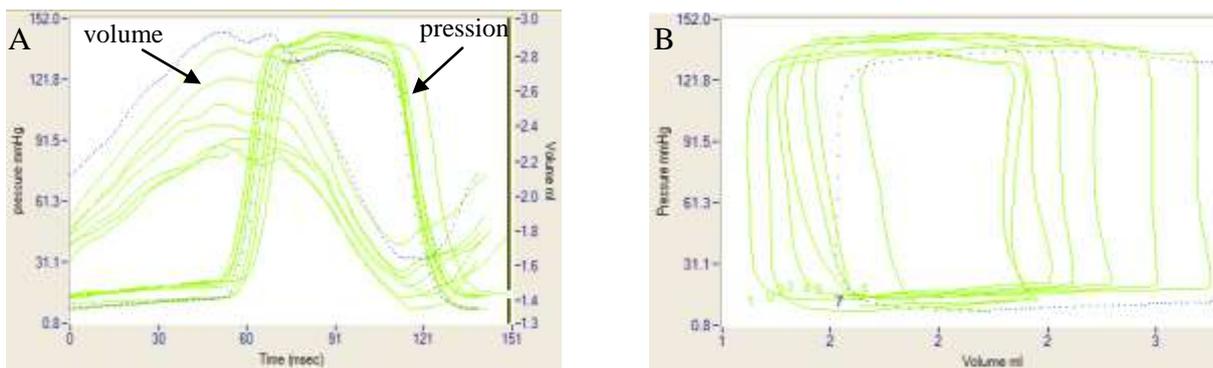


Figure 11. L'injection de 100 μl de solution saline NaCl 10% fait varier le volume mesuré, sans variation de la pression intra-cavitaire (A), déplaçant la boucle P-V vers la droite (B).

Une droite de régression linéaire représentant le volume télé-diastolique V_{ed} en fonction du volume télé-systolique V_{es} est ainsi déterminée. Le point d'intersection de cette droite avec celle représentant l'équation $V_{ed} = V_{es}$ correspond alors au point théorique où le volume de la cavité est nul. En ce point, la conductance mesurée est égale à la conductance parallèle G_p (Figure 12).

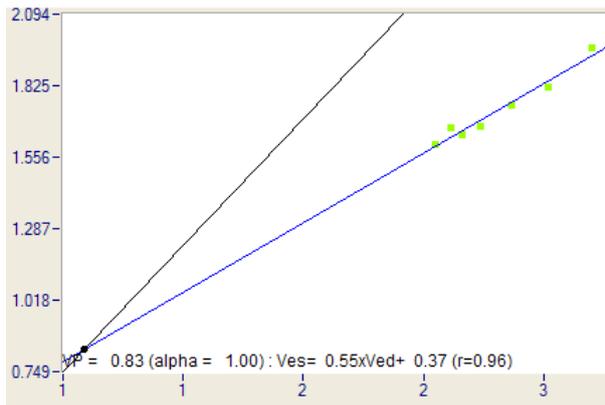


Figure 12. Relation V_{ed} en fonction de V_{es} déterminée lors de l'injection saline (en bleu), permettant de déterminer G_p (valeur de conductance pour laquelle $V_{ed} = V_{es}$).

II.A.3 Particularités liées à l'exploration de la fonction systolique chez le rat

i. Relation pression-volume télé-systolique

Les caractéristiques de la relation P-V télé-systolique ont été déterminées initialement sur cœurs isolés de chiens, dans des conditions bien définies. Cependant, *in vivo*, plusieurs variations ont été mises en évidence et nécessitent une interprétation différente de l'approche traditionnelle (pour revue, voir [1]).

ii. Non-linéarité de la relation P-V télé-systolique

Dans les espèces de petite taille, comme le rat et la souris, la relation PV télé-systolique n'est pas linéaire, et ce quel que soit l'état contractile, c'est-à-dire même à l'état de base, contrairement à l'homme et au chien [81]. Les points recueillis lors d'une occlusion de la VCI sont regroupés dans une gamme de volumes très réduite et l'extrapolation de la droite ainsi obtenue peut alors conduire à une fausse interprétation d'une modification ou non de contractilité en cas de non-linéarité de la relation P-V télé-systolique (Figure 13).

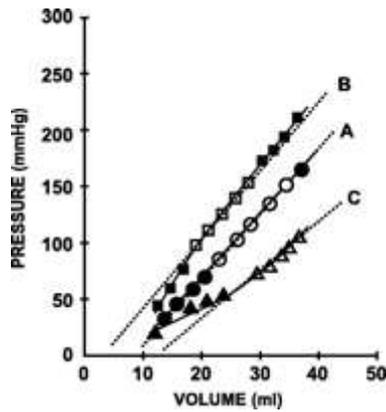


Figure 13. Les points non colorés représentent les points effectivement mesurés lors d'une occlusion de la VCI. En réponse à un effet inotrope positif, l'extrapolation de la relation B sous forme linéaire conclut faussement à une non modification de l'état contractile par rapport à l'état de base A (pente de la droite non modifiée), tiré de Burkhoff, Mirsky et Suga, 2005.

Ainsi, si l'on utilise une équation de représentation linéaire pour cette relation, une augmentation de contractilité peut se traduire en théorie de quatre façons différentes (Figure 14).

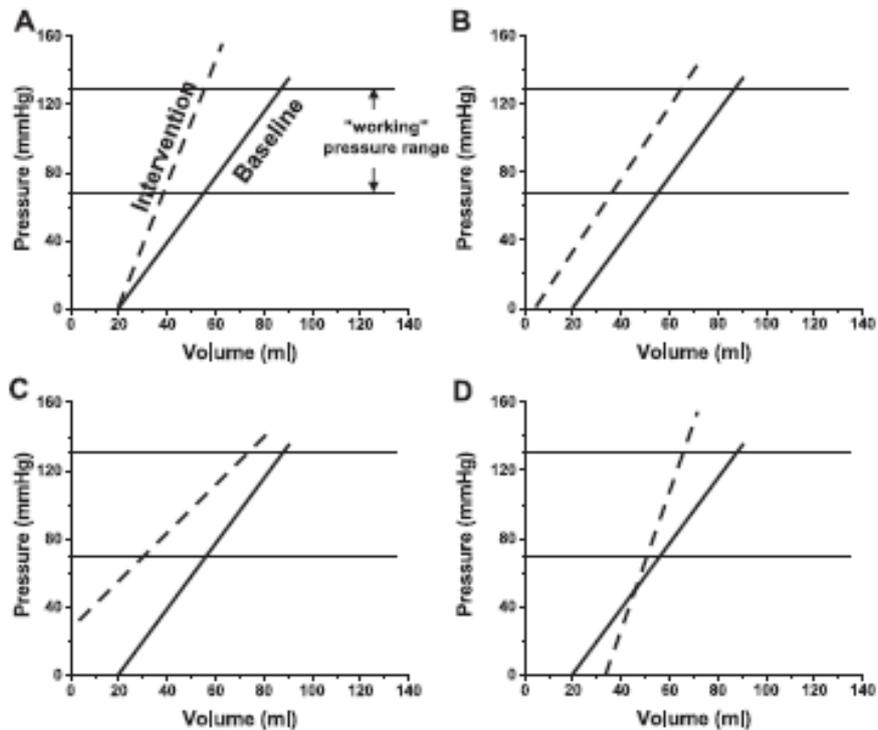


Figure 14. Représentations possibles d'une augmentation de contractilité chez le rat en cas d'utilisation d'une relation PV télé-systolique linéaire : A, augmentation d' E_{es} et V_0 constant ; B, E_{es} constant et diminution de V_0 ; C, diminution d' E_{es} et V_0 ; D, augmentation d' E_{es} et V_0 (tiré de Burkhoff, Mirsky et Suga, 2005).

Deux possibilités apparaissent alors pour comparer deux états contractiles entre eux dans un modèle de rat :

- utiliser une relation P-V télé-systolique linéaire et faire une analyse statistique par régressions linéaires multiples avec les deux variables E_{es} et V_0 .
 - utiliser directement une équation parabolique pour la relation P-V télé-systolique.
- C'est cette dernière solution qui a été retenue dans l'équipe.

iii. Détermination et analyse de la relation P-V télé-systolique non linéaire

Le logiciel IOX permet de relier les points de la relation P-V télé-systolique selon l'équation suivante, qui détermine une relation parabolique :

$$P_{es} = a \sqrt[3]{V_{es} - V_0} + b \sqrt[3]{V_{es} - V_0}$$

Le critère de comparaison des deux relations P-V télé-systoliques non linéaires est la valeur de la pression télé-systolique du VG observée sur la parabole au volume télé-systolique moyen (LVV_{mid}) déterminé lors de l'occlusion de la VCI, calculé selon la formule suivante :

$$LVV_{mid} = V_0 + \frac{V_{es\ max} - V_{es\ min}}{2}$$

où $V_{es\ max}$ et $V_{es\ min}$ sont les volumes télé-systoliques maximal et minimal déterminés lors de l'occlusion de la VCI. Cette valeur sera appelée PES_{mid} (Figure 15).

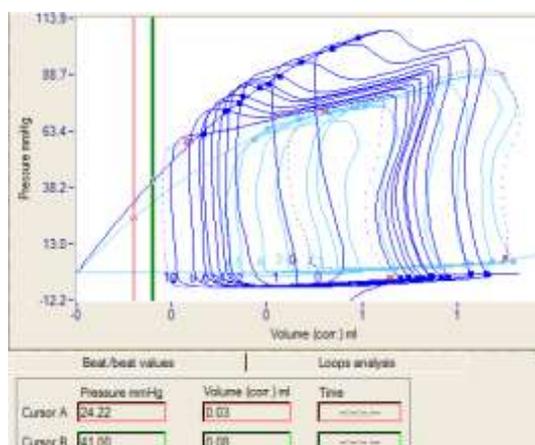


Figure 15. Exemple de réponse inotrope positive avant et après bolus de 0,1 µg/kg IV d'isoprénaline chez un rat sham. PES_{mid} de base = 24,22 mmHg ; PES_{mid} isoprénaline = 41,00 mmHg.

— Etat de base
 — Isoprenaline 0.1 µg/kg

II.A.4. Fonction diastolique

La relation P-V télé-diastolique n'est jamais linéaire. Plusieurs équations peuvent la caractériser, celle que nous utiliserons est la suivante : $P = C.e^{\beta V}$, où C est un facteur constant et β l'indice de compliance du ventricule gauche [1]. Cet indice est indépendant des conditions de charge du VG et reflète les propriétés passives de compliance du ventricule gauche impliquées dans la fonction diastolique. Plus la valeur de β est grande, moins le VG est compliant. Les indices de relaxation DP/dt minimale et constante de temps de relaxation Tau, dépendants des conditions de charge, sont également analysés.

II.A.5. Fonction vasculaire : étude des résistances systémiques et du couplage ventriculo-artériel

i. Indice de résistances systémiques (TPRI)

Le cathéter de conductance permet de mesurer les volumes VG et donc de calculer l'index cardiaque (IC) selon la formule $IC = VES.FC/poids\ du\ corps$, où VES est le volume d'éjection systolique ($V_{ed} - V_{es}$), FC la fréquence cardiaque. L'indice de résistances systémiques TPRI (« Total peripheral resistance index ») est calculé d'après la formule $TPRI = PAM / IC$ [16], la pression artérielle moyenne étant mesurée au cours de l'exploration par l'intermédiaire du capteur de pression de la sonde placé dans l'artère carotide droite. Plus TPRI est grand, plus les résistances systémiques sont élevées.

ii. Elastance artérielle (Ea)

L'élastance artérielle Ea est définie par la formule $Ea = P_{es} / VES$, elle est ainsi un autre reflet de la post-charge du VG.

II.A.6. Approche mécano-énergétique

Suga a prouvé que l'énergie mécanique totale du VG pouvait être déduite des relations P-V télé-systolique et télé-diastolique du VG [82]. En effet, l'aire comprise entre les courbes représentant ces deux relations et la perpendiculaire à l'axe des volumes passant par un

volume télé-diastolique donné représente le travail total du cœur pour ce niveau de charge. Cette aire sous les courbes P-V (PVA pour « pressure volume area ») peut se décomposer en travail externe (EW pour « external work »), correspondant à l'aire de la boucle P-V, et en énergie potentielle du VG (PE pour « potential energy ») correspondant à l'aire de la zone comprise entre les deux courbes P-V télé-systolique et télé-diastolique et la boucle P-V (Figure 16). PVA est donc égale à PE + EW, elle est directement corrélée à la consommation du myocarde VG en oxygène (MVO_2). Dans chaque groupe étudié, nous représenterons le paramètre PVA pour chaque niveau de charge déterminé lors d'une occlusion de la VCI par une droite de régression linéaire représentant PVA en fonction du volume télé-diastolique du VG, dite relation PVA-EDV [42, 83].

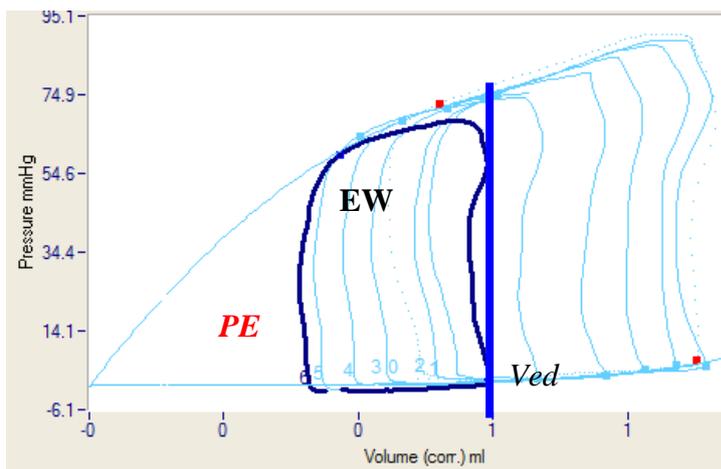


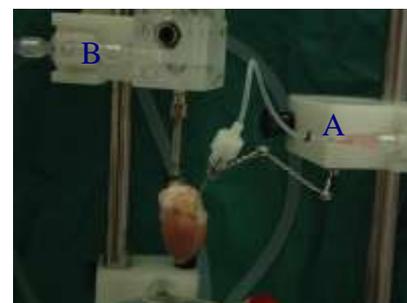
Figure 16. Pour un niveau de charge V_{ed} donné, PVA est égale à la somme PE (zone hachurée) + EW (aire de la boucle surlignée). Le même calcul est réalisé pour chaque volume télé-diastolique déterminé lors d'une occlusion de la VCI.

II.B. Etude ex vivo sur cœur isolé-perfusé

Le cœur est prélevé sous anesthésie inhalée (isoflurane 4 %) en ventilation spontanée, après exploration hémodynamique *in vivo*. Une injection intra-péritonéale de 3750 UI.kg^{-1} d'héparine (Héparine Choay®) a été effectuée préalablement au prélèvement. Une incision cutanée ventrale médiane est réalisée et le tissu sous-cutané est décollé du plan musculaire et récliné latéralement. La paroi abdominale est ouverte sous l'appendice xyphoïde de façon à exposer la coupole diaphragmatique qui est alors incisée. Le gril costal est coupé de bas en haut, de part et d'autre du sternum, et le volet thoracique ainsi obtenu est récliné vers le haut. Une cardioplégie est alors réalisée par inondation de la cavité thoracique par une solution

physiologique de Tyrode à 4°C (NaCl 137 mM ; KCl 5,4 mM ; MgCl₂ 1,2 mM ; Na₂HPO₄ 1,2 mM ; Hepes 20 mM ; glucose 10 mM ; CaCl₂ 1,00 mM ; pH 7,40). L'aorte ascendante peut alors être exposée et sectionnée le plus à distance possible de la base du cœur de façon à faciliter sa canulation. Les autres vaisseaux (artère pulmonaire, veines caves, veines pulmonaires) sont sectionnés plus grossièrement, libérant le cœur entier de la cavité thoracique. Celui-ci est alors placé dans la solution de Tyrode où il est rincé et rapidement lavé de son sang, l'aorte est ensuite canulée et fixée de façon à ce que l'extrémité distale de la canule se trouve au-dessus des *ostias* coronaires. Le cœur ainsi canulé est installé dans une chambre maintenue à 37°C par un bain-marie, où il est perfusé de manière rétrograde selon la technique décrite par Langendorff en 1895 par une solution physiologique lui permettant de maintenir une activité contractile prolongée. Cette solution a la composition suivante : NaCl 116 mM ; KCl 5 mM ; MgSO₄ 1,1 mM ; NaH₂PO₄ 0,35 mM ; NaHCO₃ 27 mM ; glucose 10 mM ; mannitol 16 mM ; acide pyruvique 2 mM ; CaCl₂ 1,8 mM. Un mélange gazeux contenant 95 % d'O₂ et 5 % de CO₂ (Carbogène) est dissous en continu dans la solution. Les paramètres hémodynamiques sont recueillis par deux capteurs de pression (pression intra-VG et pression de perfusion coronaire) reliés à un amplificateur (Emka technologies). Le signal est analysé par le logiciel d'acquisition de données IOX 1.7.0 (Emka technologies). Le capteur de pression intra-VG est connecté à un ballonnet en latex, introduit dans le VG à travers la valve mitrale après résection de l'oreillette gauche (Figure 17).

Figure 17. Positionnement du ballonnet intra-VG relié à un capteur de pression (A), et du capteur de pression de perfusion coronaire relié à la canule aortique *via* le piège à bulles (B).

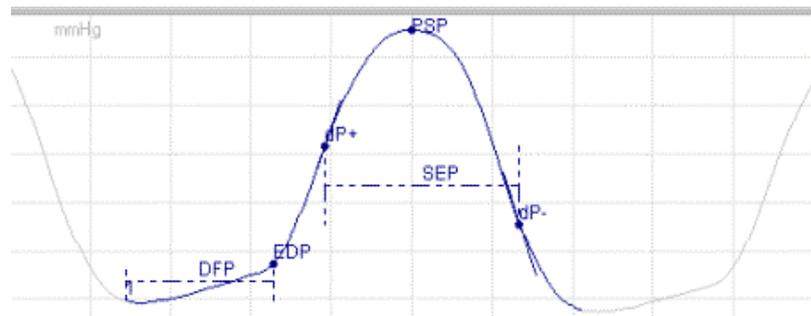


Ce ballonnet est gonflé d'eau de façon à ce que la pression minimale régnant à l'intérieur de celui-ci soit comprise entre 10 et 15 mmHg, valeurs pour lesquelles la pression développée par le VG tend vers un maximum

[84]. Le capteur de pression de perfusion coronaire est relié à la canule aortique *via* le piège à bulles. Les paramètres de fonction du VG étudiés sont les suivants :

- pour la fonction systolique, l'otropisme est évalué par la pression développée par le VG, notée DP en mmHg, et la vitesse maximale de contraction du VG, dérivée première de la pression du VG en systole, notée DP/dt max en mmHg/s (Figure 18).

Figure 18. Pression intra-VG en fonction du temps, représentation graphique des paramètres DP /dt max (dP+) et DP/dt min (dP-)



- pour la fonction diastolique, seule l'étude de la relaxation du VG (lusitropisme) est accessible à travers la mesure de la constante de temps de relaxation VG, notée Tau en ms, et la vitesse maximale de relaxation du VG, dérivée première de la pression du VG en diastole, notée DP/dt min en mmHg/s (Fig.). La compliance du VG n'est pas évaluée.
- L'effet chronotrope d'une substance est étudié par la mesure de la fréquence cardiaque (FC, en min^{-1}), calculée par le logiciel à partir des variations de pression intra-VG.

La fonction vasculaire est évaluée par les variations de pression de perfusion coronaire.

Dans les modèles d'IC aiguë et chronique induite par IDM, la réponse à des concentrations croissantes d'isoprénaline (1 nM à 10 μM) sous forme de courbes concentration-réponse est étudiée.

II.C. Etude de la vasoréactivité d'anneaux d'aorte thoracique *in vitro*

L'aorte thoracique descendante est prélevée après excision du cœur battant, libérée de la graisse et du tissu conjonctif environnant et découpée en anneaux de 3 mm d'épaisseur. Les

anneaux sont alors posés sur deux crochets en acier inoxydable, puis immergés dans une cuve contenant une solution physiologique de Krebs composée de la manière suivante : NaCl 118,3 mM; KCl 4,7 mM; MgSO₄ 1,2 mM; KH₂PO₄ 1,2 mM; NaHCO₃ 15mM; EDTA 0,016 mM; glucose 11,1 mM et CaCl₂ 2,5 (pH 7.4). La température du bain est maintenue à 37 ± 0,5°C et est oxygénée en permanence par un mélange gazeux contenant 95% d'O₂ et 5% de CO₂. Les anneaux sont progressivement étirés jusqu'à une tension de repos de 2g. La tension isométrique développée par l'anneau ainsi mis en place est enregistrée par un capteur de force (IT2, EMKA Technologies, Paris) et transmise au logiciel d'acquisition IOX 1.5.7 (EMKA Technologies). Les données sont analysées sur le logiciel Datanalyst (EMKA technologies). Les anneaux sont contractés à la phényléphrine (agoniste α_1 -AR). La concentration de phényléphrine (1 à 2 μ M) est ajustée pour obtenir un niveau de tension similaire pour chaque condition expérimentale correspondant à environ 80% de la réponse maximale. La présence d'endothélium fonctionnel est alors vérifiée par l'obtention d'une relaxation des anneaux pré-contractés à la phényléphrine d'au moins 70% en réponse à 1 μ M d'acétylcholine (ach). Une courbe concentration-réponse à des concentrations croissantes d'ach ou d'isoprénaline (1 nM à 30 μ M pour chaque agent) est alors obtenue. Les valeurs sont exprimées en pourcentage de variation par rapport à la tension maximale du vaisseau obtenue après contraction à la phényléphrine.

III. QUANTIFICATION RELATIVE DES ARN MESSAGERS DES TROIS SOUS-TYPES DE RECEPTEURS β -ADRENERGIQUES PAR PCR QUANTITATIVE EN TEMPS REEL

La RT-PCR quantitative en temps réel permet la quantification de transcrits. Dans une RT-PCR classique, les produits amplifiés sont quantifiés en fin de réaction. Or, à ce stade, les

produits réactionnels sont limitants et la quantité de produit amplifié a atteint un plateau, si bien que les quantités détectées ne sont plus proportionnelles aux quantités initiales. La RT-PCR quantitative en temps réel permet de suivre l'accumulation des produits au cours de la phase exponentielle d'amplification. Nous quantifions les ARNm des gènes β_1 -, β_2 - et β_3 -AR par rapport au gène HPRT (Hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase), dont l'expression est ubiquitaire et constante. Cette étude est réalisée afin de déterminer les modifications d'expression des trois sous-types de β -AR dans les cœurs et les aortes thoraciques de notre modèle pathologique.

Après prélèvement des cœurs, les oreillettes sont retirées, les ventricules et le septum sont séparés et congelés dans de l'azote liquide. Les aortes thoraciques sont libérées des tissus conjonctifs et graisseux environnants, séchées et congelées dans l'azote liquide.

Les échantillons de tissus sont broyés avec un ultra-thurax dans un tampon de lyse (*Kit Rneasy fibrous tissue*, Qiagen, Courtabœuf, France). Les ARN sont ensuite extraits selon le protocole du kit commercial *Kit Rneasy* (Qiagen), puis dosés au spectrophotomètre NanoDrop ND-1000 (*NanoDrop Technologies*). Afin d'éviter une contamination par l'ADN, les échantillons d'ARN sont traités par la Dnase I puis purifiés grâce aux ensembles *Rnase-Free Dnase Set* et *Rneasy Mini Kit* (Qiagen).

La procédure de transcription inverse est celle recommandée par *Applied Biosystem* : 1 μg des ARN totaux extraits des tissus sont incubés 10 min à 25°C, puis 2h à 37°C dans un volume de 100 μL dans le mélange réactionnel contenant 10 μL de Random Primers, 10 μL de tampon, 4 μL de dNTPs (100 mM), 5 μL de transcriptase inverse (50 $\text{U}\cdot\mu\text{L}^{-1}$) (*high capacity cDNA RT Kit*, *Applied Biosystem*). Des incubations contrôles sont réalisées sur la base du même milieu réactionnel mais l'enzyme est remplacée par un volume équivalent d'eau. Ces réactions ont pour but de mettre en évidence d'éventuelles présences d'ADN génomique, source d'artéfact pour l'analyse des résultats.

La PCR en temps réel est réalisée dans 1x du mélange *Taqman universal master mix* et un mélange des deux oligonucléotides spécifiques de la séquence cible et d'une sonde couplée à un fluorochrome (6-carboxy-fluorescéine) (Tableau 5).

Après 2 min à 50°C et 10 min à 95°C, 40 cycles d'amplification sont réalisés grâce au thermocycleur ABI PRISM 7900HT (*Applied Biosystems*). Un cycle est composé d'une période de dénaturation de 15 min à 95°C et d'une période associant l'hybridation et l'élongation réalisées à 60°C pendant 1 min. A chaque cycle de PCR, la quantité d'amplicons est en théorie multipliée par deux et le niveau de fluorescence augmente en conséquence. L'appareil PCR est équipé d'une caméra détectant la fluorescence qui est pilotée par un ordinateur. Les résultats sont analysés grâce au logiciel SDS 2.1 software (*Applied Biosystems*).

Amorces	Référence	Séquence
β_1 -AR-s β_1 -AR-as Sonde β_1 -AR	rn00824536-s1	Propriété <i>Applied Biosystems</i>
β_2 -AR-s β_2 -AR-as Sonde β_2 -AR	rn00560650-s1	Propriété <i>Applied Biosystems</i>
β_3 -AR-s	-	5' AGTAGTCCTGGTGTGGATCGT 3'
β_3 -AR-as	-	5' GCCACCACTGGCTCATGAT 3'
Sonde β_3 -AR	-	5' TCCGCCACCGTGTCTCT 3'
HPRT-s HPRT-as Sonde HPRT	rn01527840-m1	Propriété <i>Applied Biosystems</i>

Tableau 5. Séquences des oligonucléotides utilisés pour les RT-PCR quantitatives en temps réel pour des échantillons de rats. -as : -antisens ; -s : -sens . Les séquences des oligonucléotides et des sondes utilisées pour les récepteurs β_1 -, β_2 -AR et HPRT ne sont pas connues. Pour le récepteur β_3 -AR, les séquences des oligonucléotides et de la sonde ont été fournies par notre laboratoire à *Applied Biosystems*, elles ont été choisies dans le premier exon pour éviter tout risque de ne pas prendre en compte des transcrits issus d'épissage alternatif du β_3 -AR.

Les premiers cycles de PCR sont caractérisés par une faible variation de l'émission de fluorescence. L'évolution de la fluorescence est représentée sous forme de \square Rn (où \square Rn

symbolise la variation de fluorescence par rapport à une fluorescence basale) en fonction du nombre de cycles de PCR. Après un certain nombre de cycles, la quantité de produit amplifié augmente et l'émission de fluorescence devient plus importante. La méthode d'analyse consiste à fixer un seuil de fluorescence déterminé de manière à ce que la quantité de produit amplifié soit, à ce stade, en phase d'augmentation exponentielle sur une représentation graphique logarithmique. La quantification des ARN est réalisée en calculant le paramètre Ct. Celui-ci correspond au nombre de cycles nécessaires pour que le niveau de fluorescence atteigne le seuil fixé. Plus un échantillon possède un nombre élevé de copies initiales de la séquence ARN considérée, plus la valeur de Ct sera faible. Nous quantifions les ARN des différents β -AR par rapport à un gène de référence HPRT. L'utilisation de ce gène est préalablement validée par vérification de la stabilité de son expression dans chaque tissu dans le modèle étudié. Les résultats sont exprimés sous forme de $2^{-\Delta\Delta Ct}$ et représentent l'expression des ARNm cibles par rapport au gène de référence et rapporté aux individus témoins [Livak & Schmittgen, 2001]. Pour chaque échantillon, β_1 -, β_2 -, β_3 -AR et HPRT sont quantifiés en doublet. Seul β_3 -AR est quantifié en triplet dans les échantillons de cœur compte tenu de son très faible niveau d'expression dans les cœurs de rats non pathologiques.

IV. SUBSTANCES PHARMACOLOGIQUES

Les différentes substances pharmacologiques utilisées dans cette étude ainsi que leurs modalités de mise en solution sont résumées dans le Tableau 6.

Substance	Fournisseur	Type d'exploration	Doses ou concentrations utilisées	Solvant
Néбиволол	Menarini® France	Traitement rats IC	0,5 mg/kg/j x 2 /j	PEG
Bisoprolol	Merck®	Traitement rats IC	0,5 mg/kg/j x 2 /j	PEG
PEG		Placebo rats IC	2 inj/j	
Isoprénaline	Sigma Chemical Co.® (St. Louis, MO, U.S.A.)	Cœur isolé perfusé	1 nM-10 µM	Eau distillée
Isoprénaline	Sigma Chemical Co.® (St. Louis, MO, U.S.A.)	Préparations d'anneaux d'aorte thoracique	1 nM-30 µM	Eau distillée
Acétylcholine	Sigma Chemical Co.® (St. Louis, MO, U.S.A.)	Préparations d'anneaux d'aorte thoracique	1 nM-30 µM	Eau distillée
BRL 37344	Sigma-Aldrich Chimie®, France	Cœur isolé perfusé	10^{-10} M- 10^{-6} M	Eau distillée
Nadolol	Sigma-Aldrich Chimie®, France	Cœur isolé perfusé	10 µM	Eau distillée + HCl

Tableau 6. Substances pharmacologiques utilisées

V. ANALYSES STATISTIQUES

Les résultats sont exprimés sous la forme moyenne \pm erreur standard. Les paramètres de base sont comparés par une analyse de variance ANOVA suivie d'un test t non apparié. Les courbes concentration-réponse sont comparées par une analyse de variance ANOVA à deux voies avec mesures répétées suivies d'un test t non apparié. Les données de PCR quantitative des différents groupes sont comparées par une analyse de variance ANOVA à 1 voie suivie d'un test de Student-Newman-Keuls. Une valeur de $p < 0,05$ est considérée comme statistiquement significative. Tous les calculs statistiques et les graphiques ont été réalisés respectivement avec les logiciels *SigmaStat 2.03* et *SigmaPlot 2000* (SSPS, Chicago, USA).

RESULTATS

I. EFFETS DIFFERENTIELS DU NEBIVOLOL ET DU BISOPROLOL AU STADE AIGU DE L'INSUFFISANCE CARDIAQUE

I.A. Quantification relative des transcrits des récepteurs béta-adrénergiques dans le ventricule gauche

Pour les trois sous-types de récepteurs β -AR, l'expression des transcrits n'est modifiée par aucun traitement pour les rats contrôle (SHAM).

Les transcrits codant les récepteurs β_1 -AR sont significativement réduits d'environ 40 % dans tous les groupes IDM, sans effet significatif des différents traitements (Figure 18). Le niveau d'expression des ARNm β_2 -AR n'est pas modifié par rapport aux contrôles dans les groupes IDM-P et IDM-N, mais significativement augmenté dans le groupe IDM-B. Le niveau de transcription du récepteur β_3 -AR est augmenté de manière significative dans les trois groupes IDM, avec une tendance à une moindre augmentation sous nébivolol que sous bisoprolol ou placebo.

I.B. Quantification relative des transcrits des récepteurs béta-adrénergiques dans l'aorte thoracique

Chez les rats contrôle (SHAM), quel que soit le traitement, il n'existe pas de modification des transcrits codant les récepteurs β_1 -, β_2 - et β_3 -AR. Il en est de même pour les transcrits codant les récepteurs β_1 -AR dans les trois groupes IDM.

Concernant les transcrits des récepteurs β_2 - et β_3 -AR, leurs niveaux d'expression sont significativement augmentés chez les IDM-P par rapport aux rats contrôle SHAM-P. Seul le nébivolol réduit significativement cette augmentation comparativement au bisoprolol (Figure 19).

I.C. Effets hémodynamiques *in vivo*

I.C.1. Fréquence cardiaque

La fréquence cardiaque est significativement diminuée sous nébivolol, mais non sous bisoprolol, dans les deux groupes IDM et contrôle (Figure 20).

I.C.2. Pré- et post-charge ventriculaire gauche

La pression télé-diastolique VG (PTDVG) est significativement augmentée dans les groupes IDM-N et IDM-B, sans différence entre les deux traitements (SHAM-P = $10,93 \pm 1,1$ mmHg ; IDM-P = $15,61 \pm 1,81$ mmHg ; IDM-N = $17,92 \pm 2,11$ mmHg ; IDM-B = $19,00 \pm 2,43$ mmHg). L'élastance artérielle (Ea), reflétant la post-charge du VG, est significativement abaissée dans le groupe IDM-N par rapport aux rats contrôle (SHAM-P = $406,85 \pm 43,2$ mmHg.ml⁻¹ ; IDM-N = $232,0 \pm 18,9$ mmHg.ml⁻¹, $p < 0,05$, Figure 21) et non modifiée dans les groupes IDM-P et IDM-B (IDM-P = $349,08 \pm 40,5$ mmHg.ml⁻¹ ; IDM-B = $329,1 \pm 43,7$ mmHg.ml⁻¹ ; $p = NS$ vs SHAM-P).

I.C.3. Contractilité intrinsèque du ventricule gauche

La contractilité intrinsèque du VG (PES mid), n'est modifiée dans aucun des trois groupes IDM par rapport aux contrôles (SHAM-P = $29,2 \pm 2,4$ mmHg ; IDM-P = $21,4 \pm 2,5$ mmHg ; IDM-N = $24,2 \pm 2,5$ mmHg ; IDM-B = $23,1 \pm 1,6$ mmHg).

I.D. Effets hémodynamiques *ex vivo* sur cœur isolé perfusé

I.D.1. Paramètres hémodynamiques de base

Dans tous les groupes IDM, la valeur de DP/dt max, reflétant la contractilité du VG, est altérée par rapport aux contrôles, sans effet bénéfique des traitements que sont le nébivolol ou le bisoprolol. On note cependant une tendance à une amélioration de la DP/dt max sous nébivolol, alors que celle du groupe IDM-B est très proche du groupe IDM-P (SHAM-P =

$2146 \pm 160 \text{ mmHg.s}^{-1}$; IDM-P = $1201 \pm 150 \text{ mmHg.s}^{-1}$; IDM-N = $1551 \pm 202 \text{ mmHg.s}^{-1}$; IDM-B = $1170 \pm 181 \text{ mmHg.s}^{-1}$; Figure 22);

La relaxation du VG, représentée par la valeur de DP/dt min, est significativement altérée dans les groupes IDM-P et IDM-B par rapport aux contrôles alors qu'elle n'est pas différente dans le groupe IDM-N (SHAM-P = $-1209 \pm 139 \text{ mmHg.s}^{-1}$; IDM-P = $-662 \pm 117 \text{ mmHg.s}^{-1}$; IDM-N = $-912 \pm 140 \text{ mmHg.s}^{-1}$; IDM-B = $-669 \pm 134 \text{ mmHg.s}^{-1}$; Figure 22).

I.D.2. Réponse inotrope à l'isoprénaline

Dans le groupe contrôle (SHAM-P), la perfusion de doses croissantes d'isoprénaline induit une réponse inotrope positive sur le paramètre DP/dt max. Cette réponse inotrope positive est significativement altérée dans le groupe IDM non traité IDM-P (Figure 23).

Le traitement par nébivolol prévient en partie l'altération de cette réponse inotrope positive à l'isoprénaline, alors que celle-ci reste significativement altérée sous bisoprolol (Figure 23).

I.D.3. Réponse lusitrope à l'isoprénaline

La perfusion de concentrations croissantes d'isoprénaline sur les cœurs isolés-perfusés contrôle (SHAM-P) induit une amélioration de la relaxation du VG (réponse lusitrope positive). Dans le groupe IDM non traité IDM-P, cette réponse lusitrope à l'isoprénaline est significativement altérée (Figure 23).

L'altération de la réponse lusitrope positive à l'isoprénaline est prévenue en partie par le traitement par nébivolol, alors que celle-ci reste significativement altérée dans le groupe traité par bisoprolol (Figure 23).

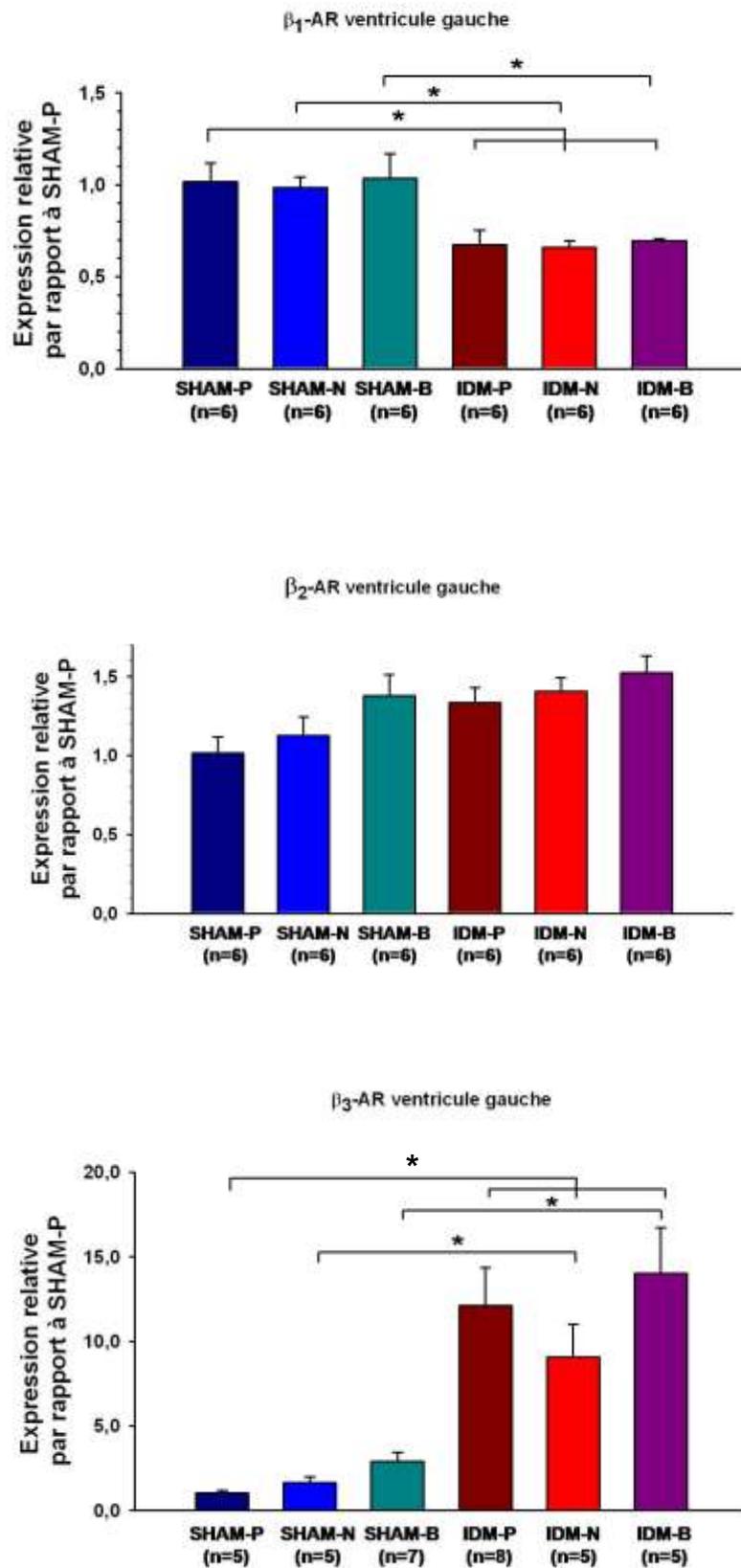
I.E. Effets vasculaires *in vitro*

Dans le groupe contrôle SHAM-P, l'acétylcholine à doses croissantes entraîne une vasorelaxation concentration-dépendante des anneaux d'aorte thoracique (Figure 24).

La vasodilatation induite par l'acétylcholine est significativement altérée sous placebo et bisoprolol par rapport aux contrôles, mais pas sous nébivolol (E_{\max} : SHAM-P = $90,6 \pm 0,8$ %, IDM-P = $82,0 \pm 3,2$ % *, IDM-N = $88,7 \pm 2,7$ %, IDM-B = $86,5 \pm 1,7$ % *, * = $p < 0,05$ vs SHAM-P ; Figure 24).

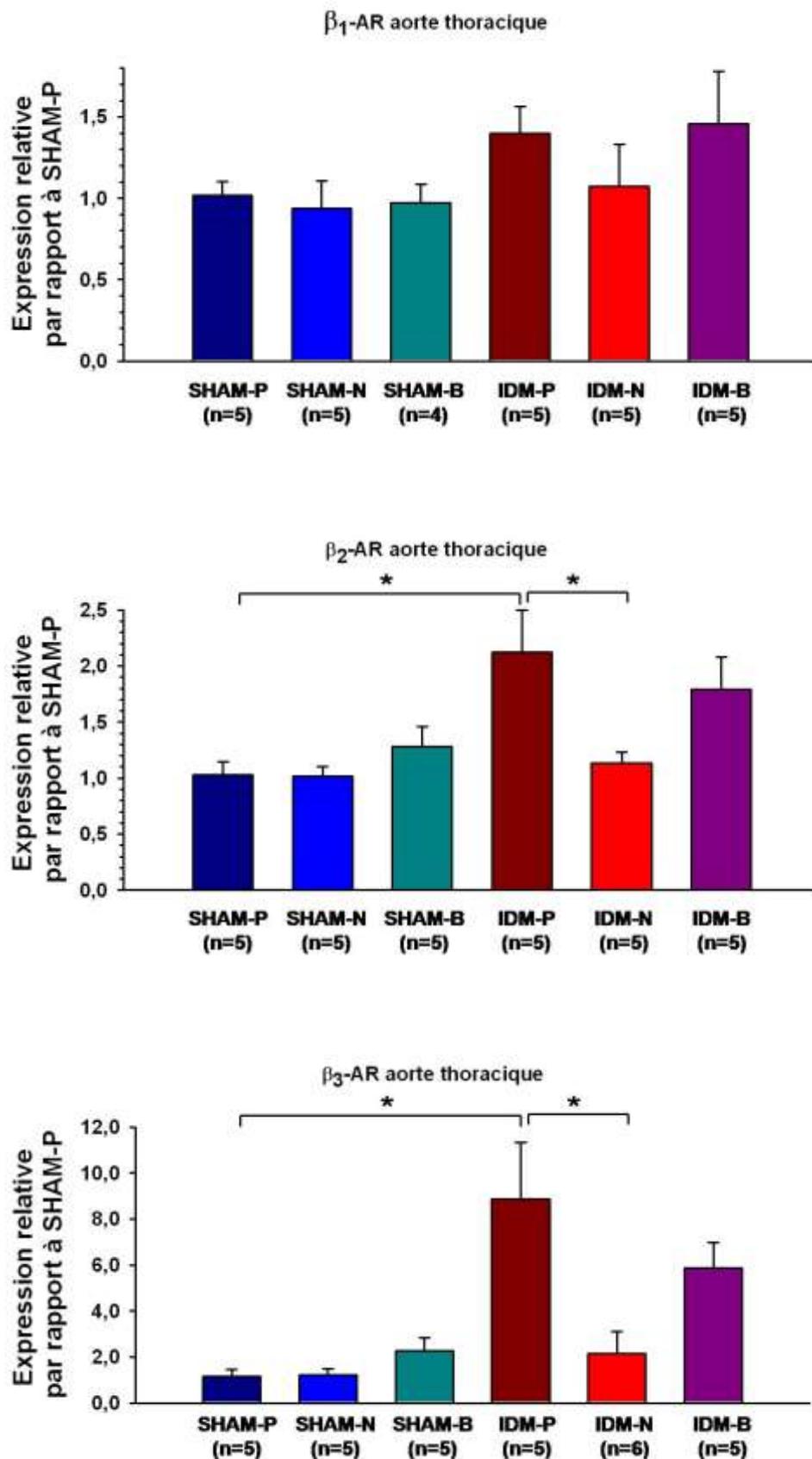
L'isoprénaline induit également une réponse vasodilatatrice dans le groupe contrôle SHAM-P, celle-ci n'est pas modifiée significativement dans aucun des trois groupes IDM, sans influence des traitements (Figure 24).

Figure 18. Quantification relative de l'expression des trois sous-types de récepteurs β -adrénergiques dans le ventricule gauche par RT-PCR quantitative en temps réel.



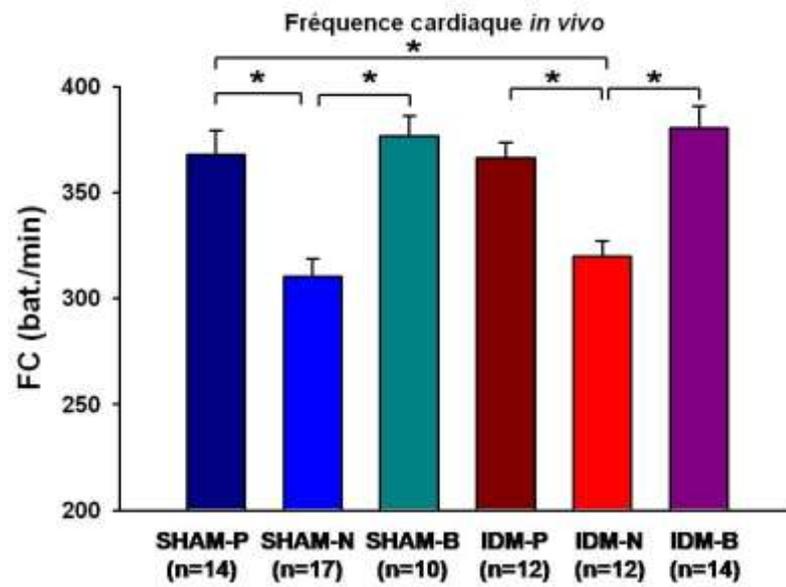
* p < 0,05

Figure 19. Quantification relative de l'expression des trois sous-types de récepteurs β -adrénergiques dans l'aorte thoracique par RT-PCR quantitative en temps réel.



* p < 0,05

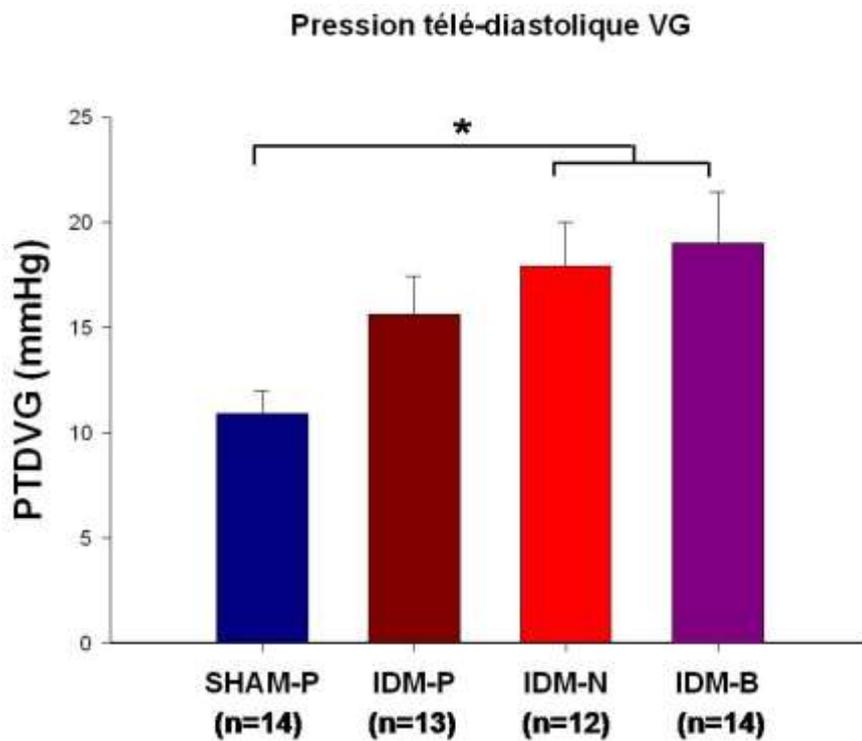
Figure 20. Mesures de fréquence cardiaque *in vivo* par cathétérisme VG.



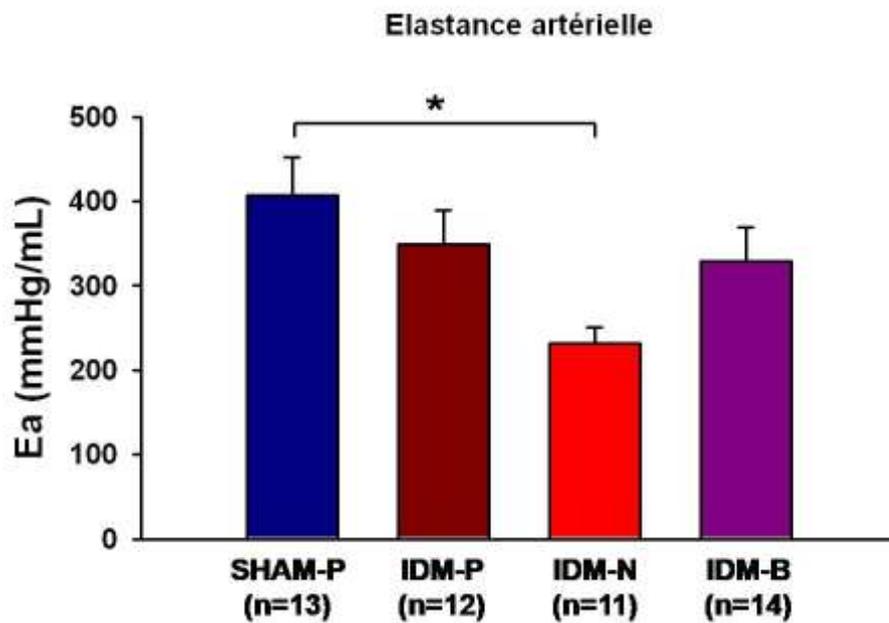
* p < 0,05

Figure 21. Pré-(A) et post-charge (B) VG évaluées par cathétérisme cardiaque gauche *in vivo*.

A



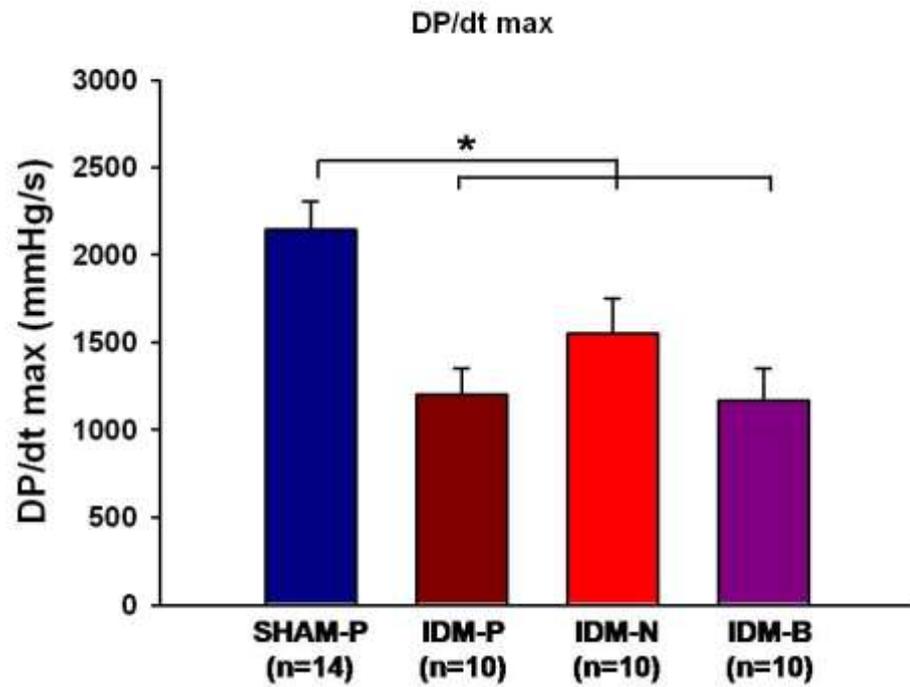
B



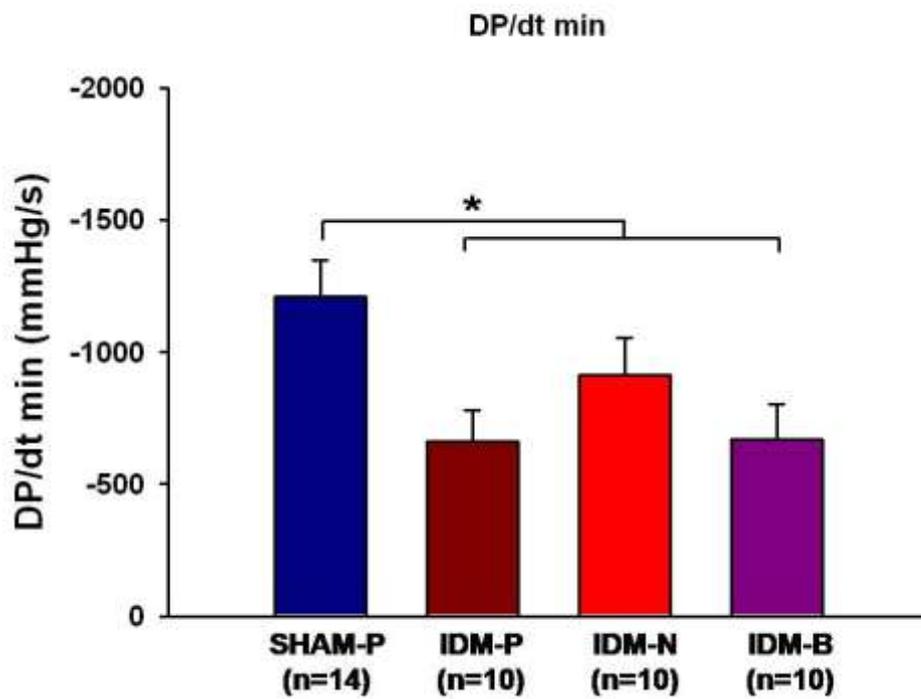
* $p < 0,05$

Figure 22. Paramètres inotropes (A) et lusitropes (B) du VG en état basal sur cœur isolé-perfusé.

A



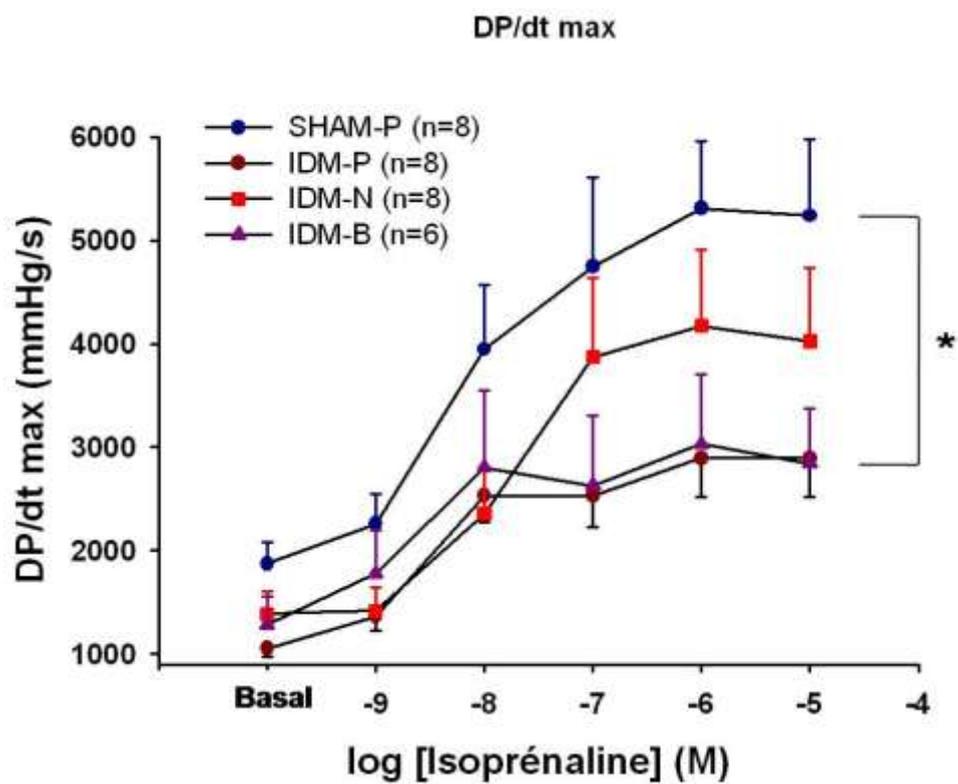
B



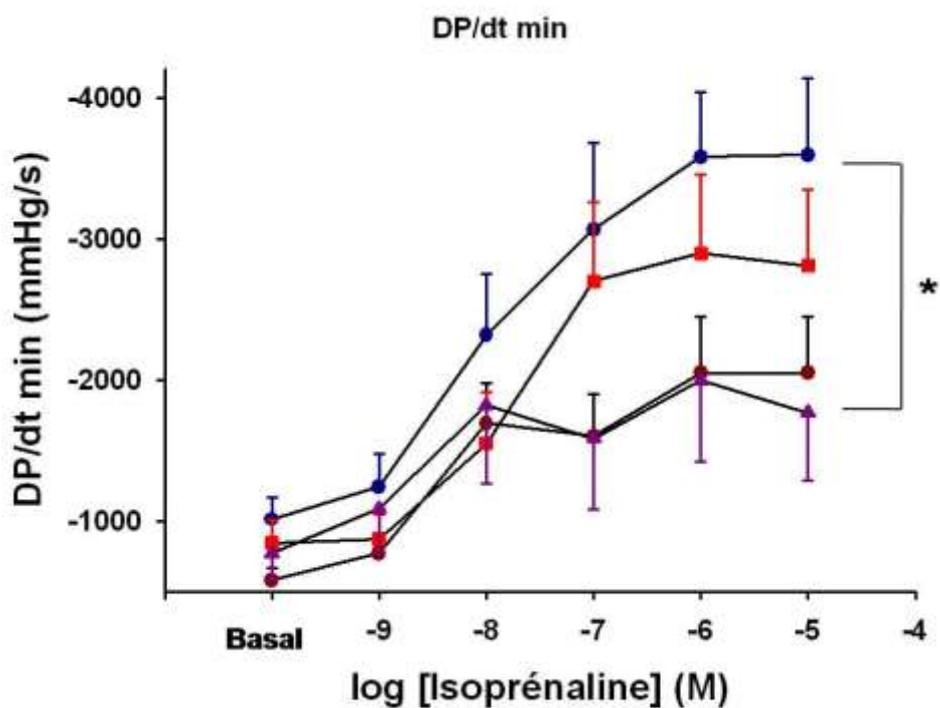
* $p < 0,05$

Figure 23. Réponse inotrope (A) et lusitrope (B) du VG à l'isoprénaline sur cœur isolé perfusé.

A



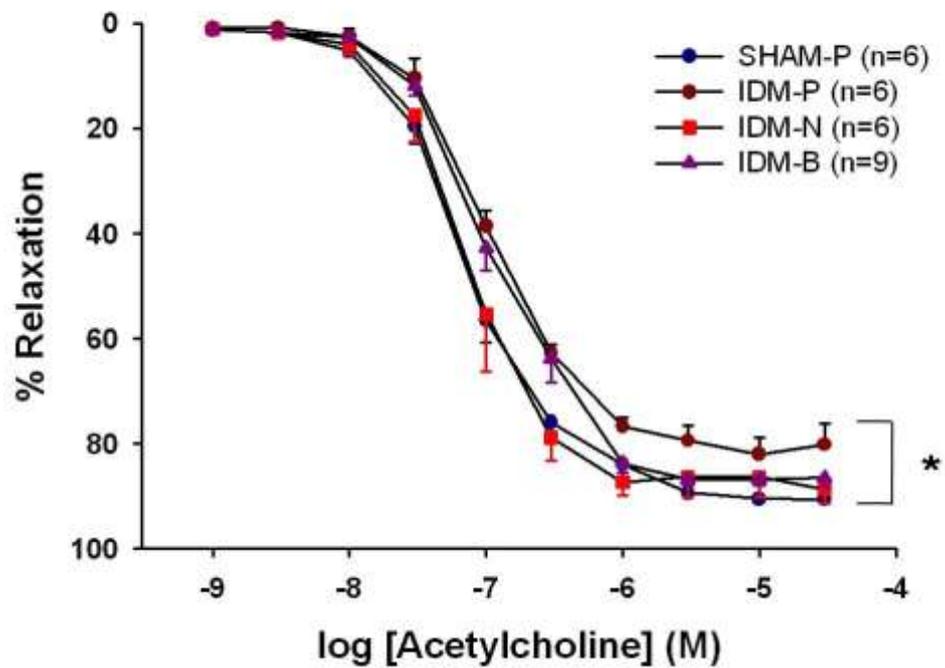
B



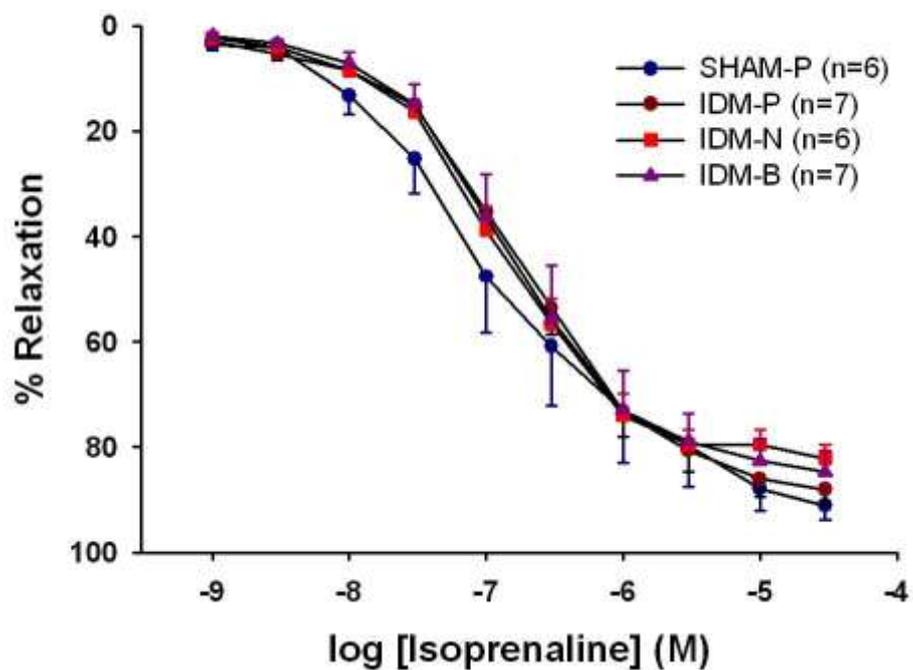
* $p < 0,05$

Figure 24. Réponse vasomotrice d'anneaux d'aorte thoracique *in vitro* à l'acétylcholine (A) et à l'isoprénaline (B).

A



B



* $p < 0,05$

II. EFFETS DIFFERENTIELS DU NEBIVOLOL ET DU BISOPROLOL AU STADE CHRONIQUE DE L'INSUFFISANCE CARDIAQUE

II.A. Quantification relative des transcrits des récepteurs béta-adrénergiques dans le ventricule gauche

Il n'existe pas de différence d'expression des transcrits des récepteurs β_1 -AR entre les rats contrôles SHAM-P et les rats IDM-P non traités. Les deux traitements nébivolol et bisoprolol ne modifient pas ces niveaux d'expression. Le niveau d'expression des récepteurs β_2 -AR est significativement augmenté dans les trois groupes IDM par rapport aux contrôles SHAM-P, sans influence des traitements béta-bloquants. Il existe une augmentation très significative du niveau d'expression du récepteur β_3 -AR dans les trois groupes IDM par rapport aux contrôles, sans influence du traitement, que ce soit le nébivolol ou le bisoprolol (Figure 25).

II.B. Quantification relative des transcrits des récepteurs béta-adrénergiques dans l'aorte thoracique

Il n'existe pas de différence dans les niveaux d'expression des récepteurs β_1 - et β_2 -AR entre les rats contrôle et les trois groupes IDM, les traitements béta-bloquants ne modulent pas de manière significative ces niveaux d'expression. Les rats IDM-N et IDM-B voient les niveaux d'expression des récepteurs β_3 -AR diminués de manière non significative par rapport aux rats IDM non traités (Figure 26).

II.C. Effets hémodynamiques *in vivo*

Les données hémodynamiques obtenues à l'état basal *in vivo* sont présentées dans le tableau 7.

	<u>SHAM-P</u>	<u>IDM-P</u>	<u>IDM-N</u>	<u>IDM-B</u>
FC (min ⁻¹)	391 ± 13	375 ± 14	345 ± 6 * ¥	353 ± 16 ¥
FEVG (%)	63 ± 5	22 ± 4 ¥	36 ± 2 ¥ *	36 ± 7 ¥ *
Volume télé- diastolique VG (ml)	0,64 ± 0,09	0,90 ± 0,13 ¥	0,64 ± 0,05 *	0,69 ± 0,13 *
DP/dt max (mmHg.s ⁻¹)	7351 ± 645	5953 ± 200 ¥	5850 ± 332 ¥	5977 ± 391 ¥
- DP/dt min (mmHg.s ⁻¹)	7339 ± 715	4951 ± 223 ¥	4740 ± 245 ¥	4879 ± 411 ¥
PTDVG (mmHg)	8,86 ± 1,89	24,43 ± 2,00 ¥	19,92 ± 2,78 ¥	19,80 ± 3,90 ¥
Index de résistances sytémiques (TPRI)	5,22 ± 0,97	9,26 ± 2,62 ¥	4,45 ± 0,41	4,80 ± 1,03
PES mid (mmHg, contractilité intrinsèque VG)	31,38 ± 2,77	30,64 ± 4,32	20,81 ± 1,16 ¥	21,50 ± 3,20 ¥
Index cardiaque (ml.min ⁻¹ .100g ⁻¹)	22,26 ± 3,24	16,31 ± 3,97	21,60 ± 1,76	22,17 ± 3,59

Tableau 7. * p < 0,05 vs IDM-P ; ¥ p < 0,05 vs SHAM-P

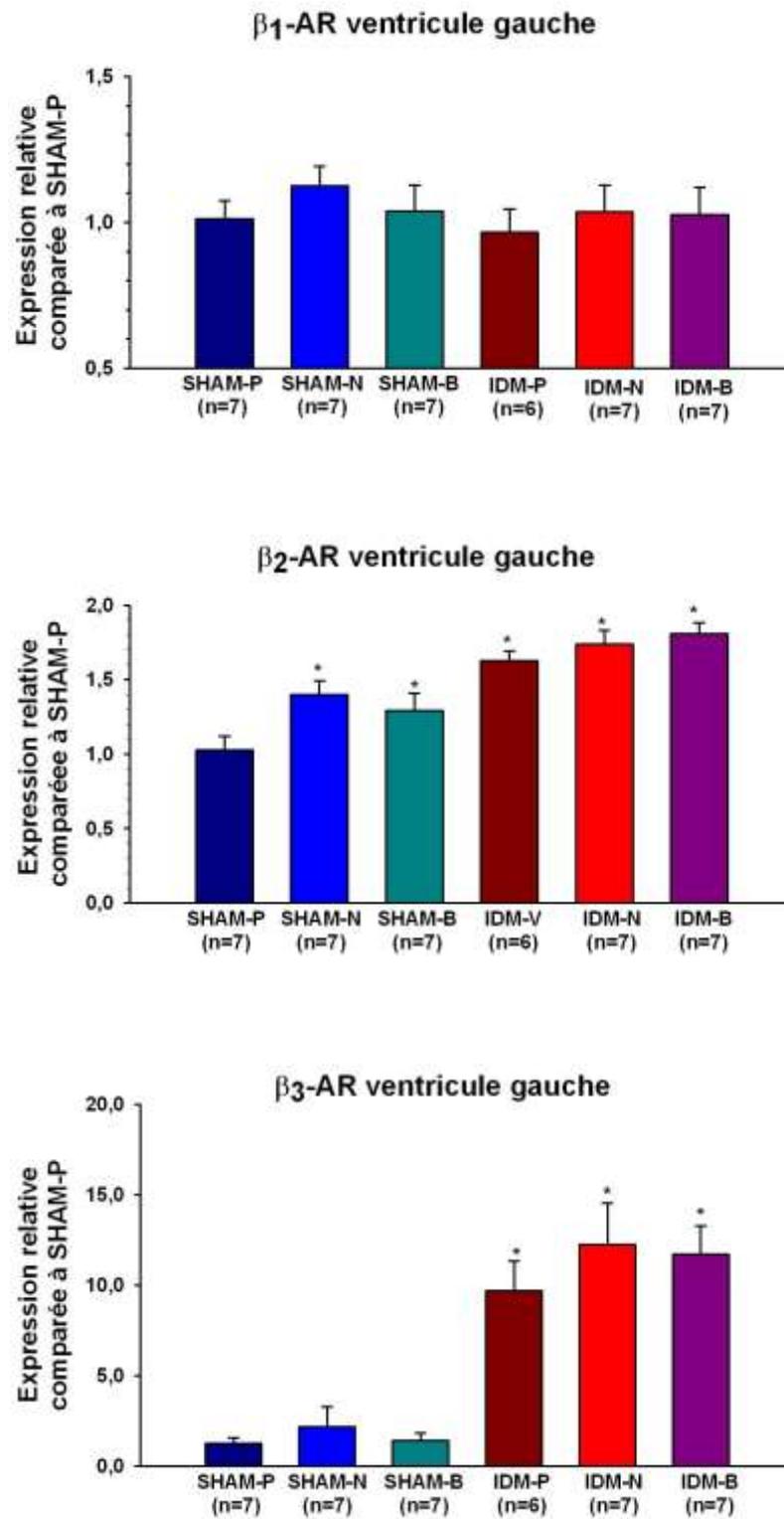
II.D. Effets vasculaires *in vitro*

Dans le groupe contrôle SHAM-P, l'acétylcholine et l'isoprénaline entraînent une réponse vasodilatatrice sur des anneaux d'aorte thoracique (Figure 27).

Il existe une diminution significative de la réponse vasodilatatrice à l'acétylcholine sur les anneaux d'aorte thoracique de rats IDM-P ($E_{\max} = 82.42 \pm 2.20\%$,) par rapport aux anneaux aortiques de rats contrôle SHAM-P ($E_{\max} = 91.70 \pm 2.32$, $p < 0.05$). Dans le groupe IDM traité par nébivolol IDM-N, la réponse vasodilatatrice à l'acétylcholine est significativement améliorée par rapport au groupe IDM-P non traité ($E_{\max} = 93.65 \pm 1.12$, *vs* $E_{\max} = 82.42 \pm 2.20\%$, $p < 0.05$). Le traitement par bisoprolol n'induit pas de différence significative sur ce paramètre avec le groupe IDM-P, mais la même tendance à une préservation de la réponse vasodilatatrice à l'acétylcholine se dessine dans ce petit groupe préliminaire de 3 rats traités par bisoprolol ($E_{\max} = 90.02 \pm 3.13$, *vs* $E_{\max} = 82.42 \pm 2.20\%$, NS) (Figure 27).

Concernant la réponse vasodilatatrice à l'isoprénaline, il n'existe aucune différence entre les trois groupes IDM-P, IDM-N et IDM-B et le groupe contrôle (Figure 27).

Figure 25. Niveaux d'expression des ARN m des trois sous-types de récepteurs β -AR à J14 post-IDM dans le VG



* $p < 0,05$ vs SHAM-P

Figure 26. Niveaux d'expression des ARN m des trois sous-types de récepteurs β -AR à J14 post-IDM dans l'aorte thoracique.

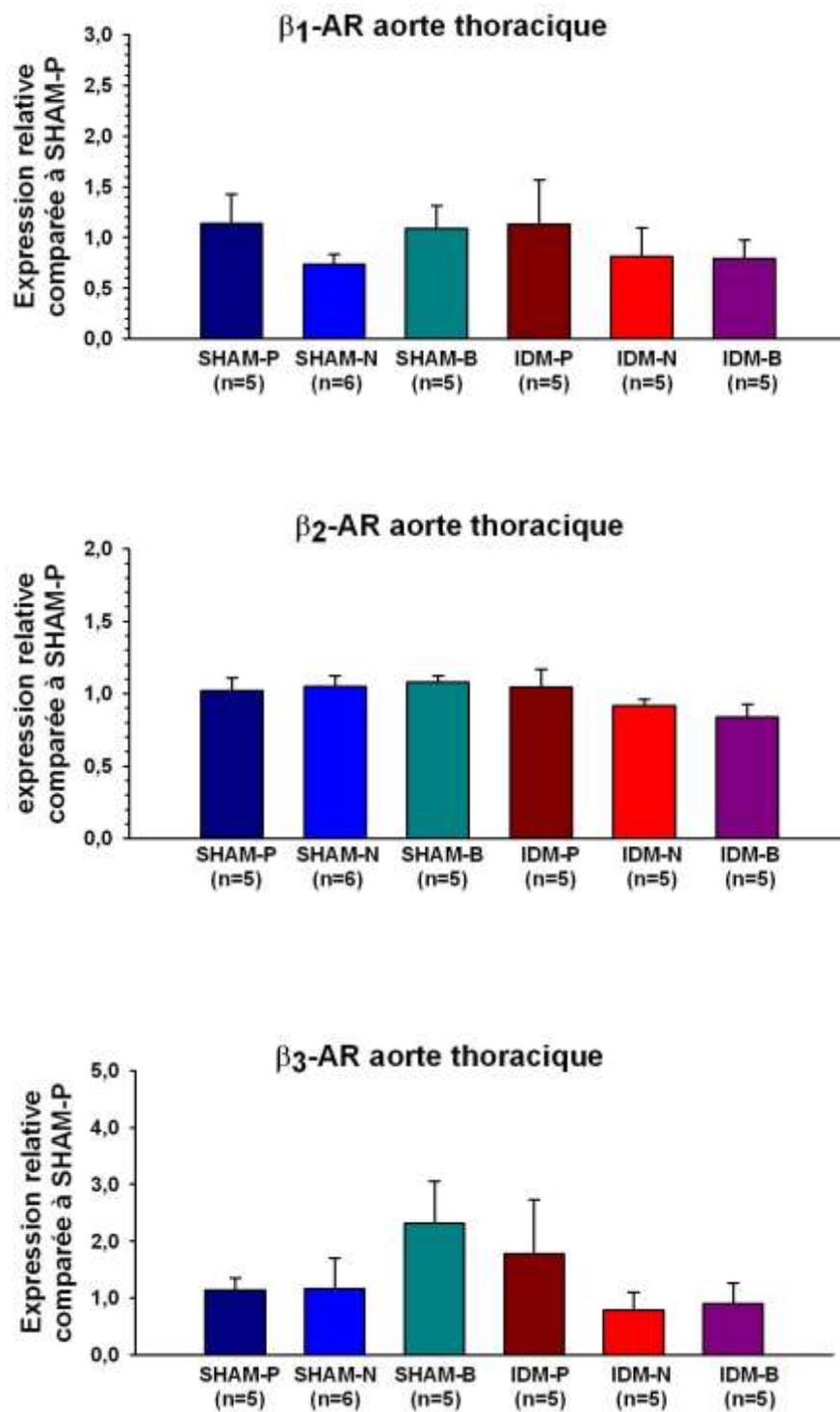
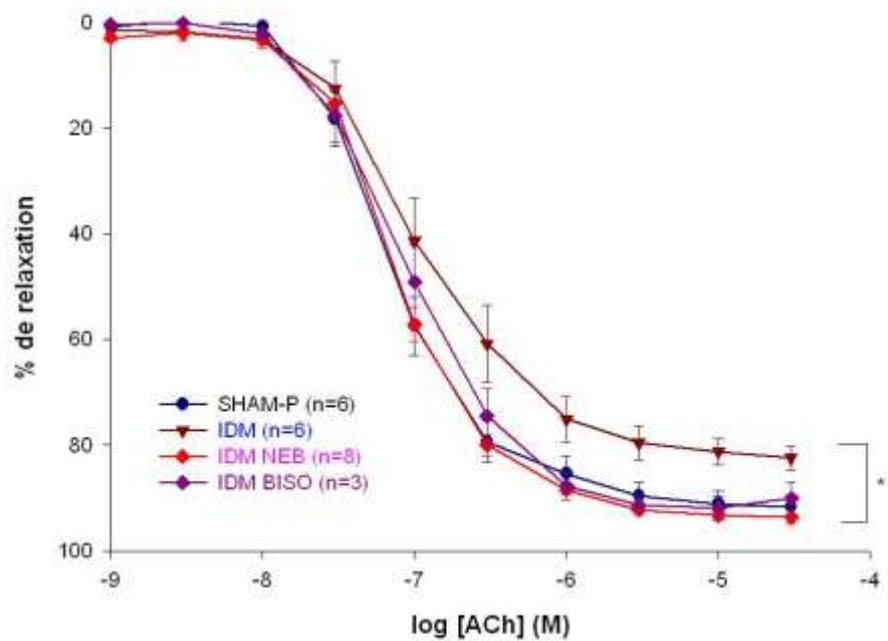
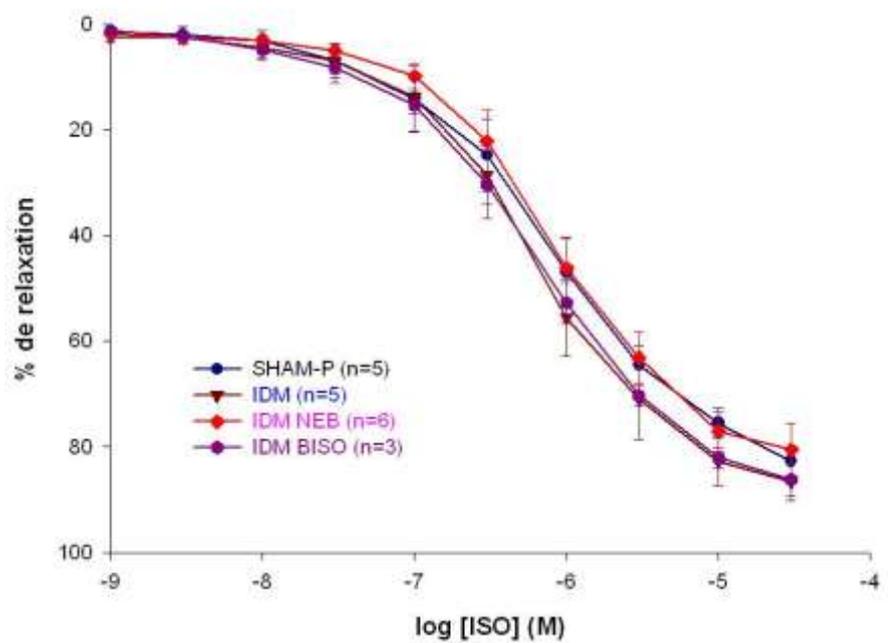


Figure 27. Réponse vasomotrice d'anneaux d'aorte thoracique *in vitro* à l'acétylcholine et à l'isoprénaline



* $p < 0,05$ vs IDM-P



III. EFFETS DE LA SUREXPRESSSION DU RECEPTEUR BETA-3

ADRENERGIQUE HUMAIN AU NIVEAU ENDOTHELIAL CHEZ LE RAT

III.A. Exploration de l'état basal *in vivo*

III.A.1. Fonction vasculaire

On observe une augmentation de l'indice de résistances systémiques périphériques et de la pression artérielle moyenne (PAM) dans le groupe transgénique (TPRI : $Tg\beta_3 = 8,82 \pm 1,39$ vs WT = $3,75 \pm 0,86$; $p=0,048$, PAM : $Tg\beta_3 = 114,83 \pm 4,50$ mmHg vs WT = $95,08 \pm 6,02$ mmHg ; $p= 0,03$) (Figure 28).

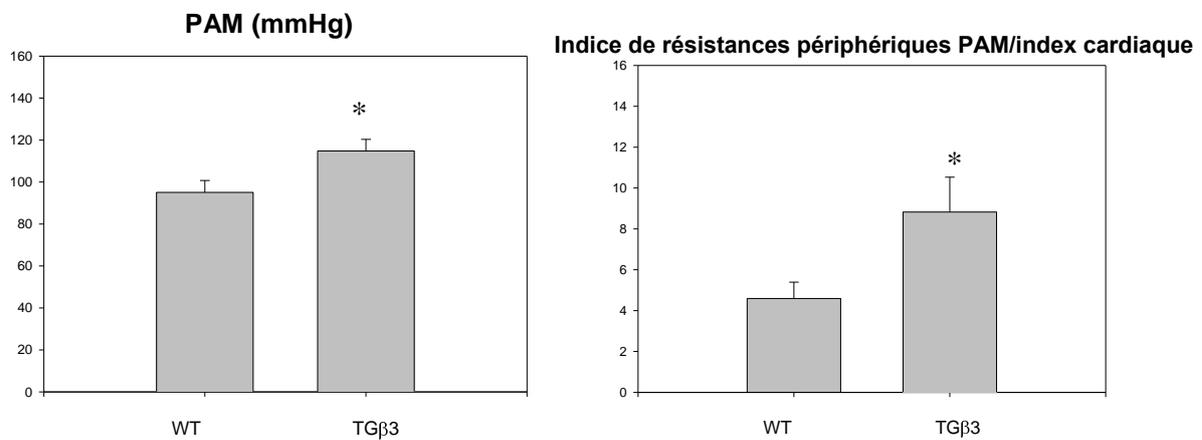
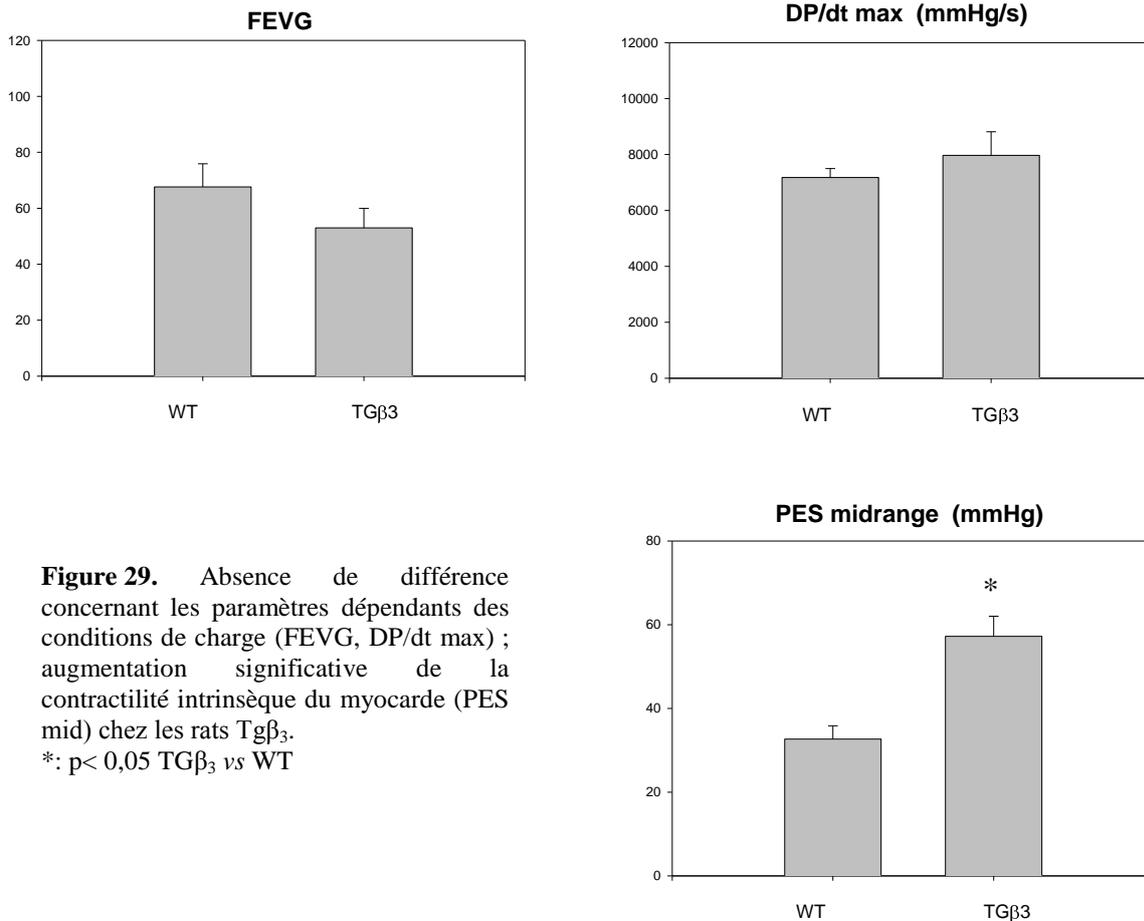


Figure 28. Augmentation des résistances systémiques et de la PAM chez les rats $Tg\beta_3$.
*: $p < 0,05$ $TG\beta_3$ vs WT

III.A.2. Fonction cardiaque

Pour la fonction systolique VG, il n'existe pas de différence significative entre les deux groupes pour les paramètres charge dépendants DP/dt max et FEVG (DP/dt max : $Tg\beta_3 = 7968 \pm 660$ mmHg/s vs WT = 7176 ± 320 mmHg/s ; FEVG : $Tg\beta_3 = 53,00 \pm 5,68\%$ vs WT = $67,6 \pm 8,84\%$; $p= 0,111$).

En revanche, la contractilité intrinsèque, indépendante des conditions de charge du VG est augmentée dans le groupe $Tg\beta_3$ (PES mid : $Tg\beta_3 = 57,22 \pm 3,57$ mmHg vs WT = $32,68 \pm 3,39$ mmHg ; $p < 0,001$), (Figure 29).



En ce qui concerne la fonction diastolique, il n'existe pas de différence significative entre les deux groupes concernant l'indice de relaxation DP/dt min et la constante de temps de relaxation Tau, ainsi que pour l'indice de compliance VG β ($-DP/dt$ min : Tgβ₃ = 8075 ± 722 mmHg/s vs WT = 6781 ± 475 mmHg/s ; p= 0,228 ; Tau : Tgβ₃= 8,17 ± 0,25 ms vs WT = 8,37 ± 0,40 ms ; β Tgβ₃= 2,12 ± 0,58 vs 1,71 ± 0,47 ; p= 0,66).

Il n'existe pas de différence entre le volume télé-diastolique mesuré chez les rats Tgβ₃ et les rats sauvages : *Ved* Tgβ₃ = 0,71 ± 0,06 ml vs *Ved* WT = 0,68 ± 0,13 ml (p=0,89). Le *ratio* poids du VG sur poids du corps est de 1,69 ± 0,06 mg/g chez les rats Tgβ₃ vs 1,63 ± 0,12 mg/g chez les rats sauvages, ces deux dernières données attestant d'une absence de remodelage structural macroscopique du VG chez les rats Tgβ₃.

On observe une tendance à une moindre consommation en oxygène du myocarde chez les rats Tgβ₃ par rapport aux rats sauvages (Figure 30).

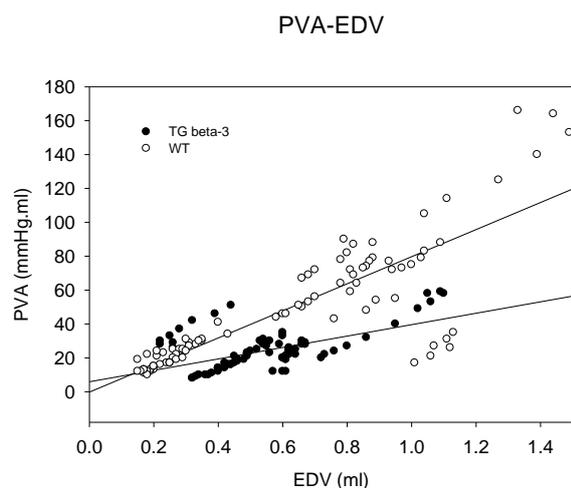


Figure 30. Aires déterminées par les relations P-V télé-systolique et télé-diastolique (PVA) pour chaque animal et pour chaque niveau de charge (EDV). Tendence à une supériorité du travail du myocarde sauvage (WT), notamment dans les niveaux de charge physiologiques (0,6-0,8 ml).

III.B. Exploration de la fonction cardiaque *ex vivo* : état basal sur cœur isolé perfusé

Des résultats préliminaires ont été obtenus sur deux rats transgéniques et cinq rats sauvages.

Les résultats sont présentés dans le Tableau 8. Il existe une tendance à une augmentation de la pression développée et de la contractilité (DP/dt max) dans le groupe Tg β_3 . La pression de perfusion coronaire ne semble pas être différente dans les deux groupes. Il n' a pas été réalisé d'analyse statistique devant le petit effectif de rats transgéniques analysés (n=2).

	WT	Tg β_3
DP (mmHg)	74,80 \pm 9,49	96,50 \pm 2,50
DP/dt max (mmHg/s)	2153 \pm 267	3196 \pm 391
-DP/dt min (mmHg/s)	1206 \pm 171	1793 \pm 21
Tau (ms)	18,40 \pm 2,29	13,00 \pm 2,00
FC (/min)	288,40 \pm 3,80	314,67 \pm 25,45
PP (mmHg)	53,93 \pm 4,45	50,95 \pm 4,17
Pmin (mmHg)	10,80 \pm 0,37	11,50 \pm 1,50

Tableau 8. paramètres de base obtenus sur cœur isolé perfusé

DISCUSSION

I. Effets différentiels du nébivolol et du bisoprolol au stade aigu de l'insuffisance cardiaque

La principale limite de cette étude réside dans le fait que la fréquence cardiaque des rats traités par bisoprolol n'est pas différente de celle des rats traités par placebo. Une explication possible de ce résultat se trouve dans la demi-vie différente des deux bêta-bloquants étudiés. En effet, les traitements n'étaient pas injectés le jour de l'exploration hémodynamique et le bisoprolol présente une demi-vie plus courte que le nébivolol (12 heures contre 27) ce qui pourrait expliquer cette non diminution de fréquence cardiaque sous bisoprolol. Il n'est cependant pas possible d'éliminer le fait que les différences observées entre les deux traitements bêta-bloquants soient dues à une concentration plasmatique insuffisante de bisoprolol, mais nous pouvons tirer de réelles conclusions sur les différences observées entre les rats non traités et ceux traités par nébivolol.

Sur le plan du remodelage moléculaire, cette étude est la première à mettre en évidence un remodelage aussi précoce de l'expression des ARNm des récepteurs β -ARs, dès le troisième jour suivant un infarctus du myocarde. En effet, dans le ventricule gauche, nous mettons en évidence d'une part une diminution d'environ 30 % de l'expression des transcrits du récepteur β_1 -AR, comme déjà décrit par Bristow et al. à des stades plus avancés [9], mais également une augmentation très significative des transcrits du récepteur β_3 -AR, qui est très peu exprimé dans le cœur de rat sain. Cette observation se rapproche fortement de celle de Moniotte et al. effectuée sur des biopsies endo-myocardiques humaines au stade d'IC avancée [11]. Ce remodelage précoce est également amorcé dans notre étude au niveau vasculaire, à travers une augmentation significative d'expression des transcrits des récepteurs β_2 - et β_3 -ARs dans l'aorte thoracique chez les rats non traités. Les traitements bêta-bloquants étudiés présentent

dès ce stade des effets différentiels. En effet, dans le ventricule gauche, le nébivolol tend nettement à prévenir l'augmentation d'expression du récepteur β_3 -AR, bien que cette tendance ne soit pas significative, alors que le bisoprolol ne la modifie pas. De ce fait, on peut supposer que cet effet est dû, au moins en partie, à l'effet direct de la stimulation du récepteur β_3 -AR par le nébivolol. Cependant, une étude récente sur un modèle d'insuffisance cardiaque chronique chez le rat a mis en évidence le même effet différentiel de prévention de l'augmentation d'expression du récepteur β_3 -AR par le carvedilol, bêta-bloquant de troisième génération non β_3 -agoniste, comparé au métoprolol, bêta-bloquant de deuxième génération [85]. D'autres mécanismes, peut-être liés aux propriétés vasodilatatrices des bêta-bloquants de troisième génération, doivent donc participer à ce remodelage moléculaire différentiel, qui pourrait donc être autant lié à un effet classe des bêta-bloquants de troisième génération qu'à un effet moléculaire propre du nébivolol.

Sur le plan hémodynamique, nous montrons que ces effets différentiels en termes moléculaires ont des effets bénéfiques sur le plan fonctionnel. En effet, sur cœur isolé perfusé, le traitement par nébivolol permet de restaurer en partie les réponses inotrope et lusitrope positives à l'isoprénaline, alors que celles-ci restent significativement altérées par rapport aux témoins sous bisoprolol ou placebo. Une hypothèse explicative de ce résultat peut être formulée en extrapolant les travaux de Moniotte et al. dans l'IC avancée [11] à ce travail portant sur l'IC aiguë. En effet, cette équipe a démontré sur biopsies endo-myocardiques humaines sur cœurs explantés lors d'une transplantation cardiaque que, parallèlement aux modifications d'expression des récepteurs β_1 - et β_3 -ARs décrites ci-dessus, la réponse inotrope non spécifique à l'isoprénaline était réduite d'environ 75 % par rapport au cœur normal alors que la réponse inotrope négative à un agoniste préférentiel β_3 n'était que très modérément réduite [11]. A la lumière du remodelage précoce des transcrits des récepteurs

β_1 - et β_3 -ARs dans le VG mis en évidence dans notre étude, nous pouvons donc tenter d'expliquer nos résultats de la manière suivante (Figure 31) :

- sous traitement placebo, les modifications d'expression inverses des transcrits des récepteurs β_1 - et β_3 -ARs se traduisent sur le plan fonctionnel par une nette augmentation de la part de réponse inotrope négative à l'isoprénaline due à la stimulation β_3 . La sommation des effets inotropes positif et négatif des stimulations β_1 et β_3 a alors pour effet global une nette altération de la réponse inotrope positive à l'isoprénaline. Le bisoprolol n'ayant pas d'effet sur ce remodelage moléculaire, celui-ci n'améliore pas la réponse inotrope à l'isoprénaline par rapport au traitement placebo.
- Sous nébivolol, l'augmentation d'expression du récepteur β_3 -AR tend à être freinée, la part inotrope négative de la stimulation β_3 -AR par l'isoprénaline tend donc à être moindre que sous placebo. La somme des effets inotropes positif et négatif aboutit alors à une réponse globale induite par l'isoprénaline moins altérée que sous placebo.

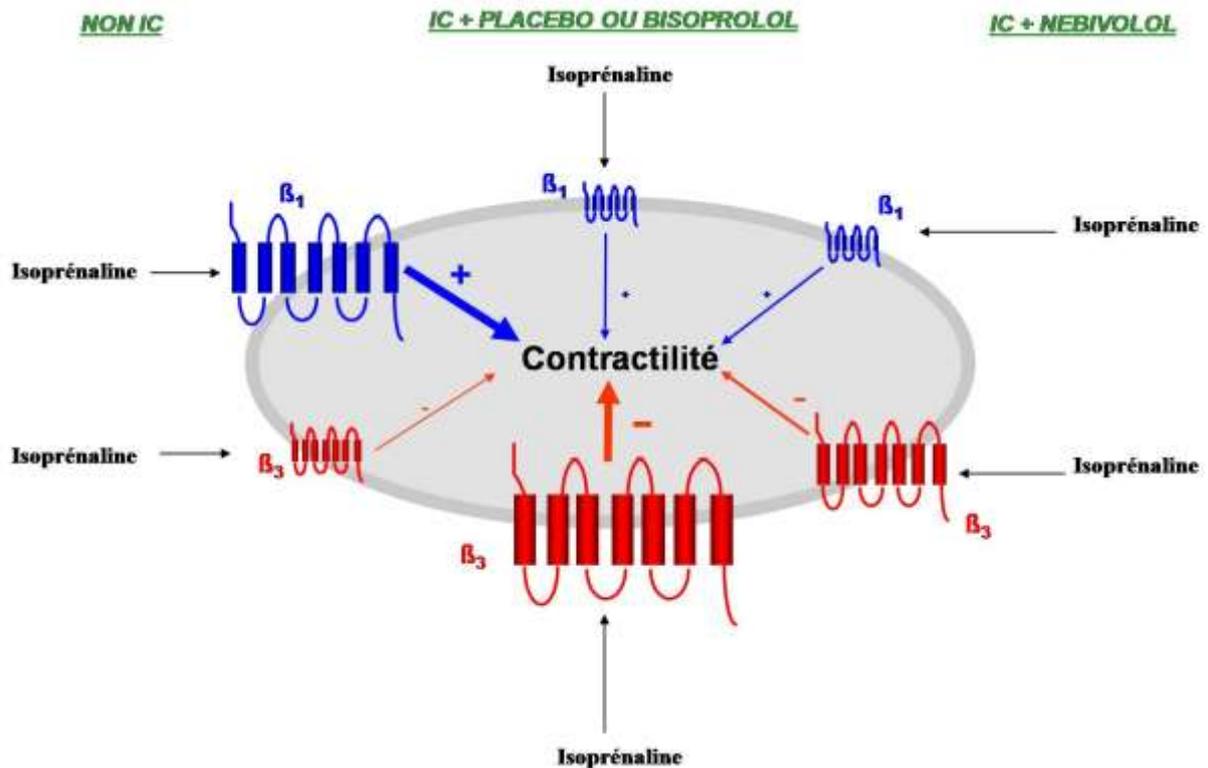


Figure 31. Hypothèse explicative du mécanisme d'action positif du nébivolol par rapport au bisoprolol sur la préservation de la réponse inotrope positive à l'isoprénaline sur cœur isolé-perfusé dans l'IC aiguë

Au niveau vasculaire, la réponse vasodilatatrice à l'isoprénaline est altérée dans des proportions identiques, tant sous nébivolol que sous bisoprolol ou placebo. La modulation du remodelage des récepteurs β_2 - et β_3 -AR que nous observons dans l'aorte thoracique ne semble donc pas avoir de conséquences fonctionnelles à ce stade de la pathologie. Cependant, *in vivo* à l'état basal, l'élastance artérielle, reflétant la post-charge du VG et qui est corrélée au niveau des résistances systémiques, est significativement altérée chez les rats IC traités par bisoprolol ou placebo par rapport aux témoins non IC, alors que les rats IC traités par nébivolol ne sont pas différents des témoins. Ce résultat suppose donc un autre effet bénéfique du nébivolol au niveau vasculaire dans cette étude. La restauration de la réponse vasodilatatrice à l'acétylcholine *in vitro*, endothélium-dépendante, suggère comme mécanisme d'action bénéfique une autre voie que le remodelage des récepteurs β -ARs, qui pourrait être celle du

NO, dont on sait qu'elle participe aux effets vasodilatateurs du nébivolol, en partie par le biais de la stimulation β_3 mais également par d'autres mécanismes, comme l'augmentation de la bio-disponibilité du NO par l'intermédiaire d'une diminution des espèces réactives de l'oxygène [12, 68, 86]. Cette amélioration de la fonction vasculaire sous nébivolol pourrait également contribuer à l'amélioration de la réponse inotrope et lusitrope positive par l'intermédiaire d'une meilleure perfusion coronaire.

En pratique clinique, ces résultats suggèrent que le traitement par le nébivolol comparé au bisoprolol et au placebo, en améliorant les réponses inotrope et lusitrope positives du VG aux catécholamines ainsi que la fonction vasculaire, pourrait être un traitement bénéfique dans l'insuffisance cardiaque aiguë. L'absence d'effet inotrope négatif sur la contractilité intrinsèque du VG *in vivo* à l'état basal dans cette étude, mis en évidence sur l'étude des boucles pression-volume du VG, est d'ailleurs rassurant vis-à-vis du doute que l'on pourrait émettre sur l'impact délétère de l'effet inotrope négatif supposé des bêta-bloquants dans l'IC aiguë ou décompensée. Une étude chez l'homme a d'ailleurs montré que le céliprolol, bêta-bloquant de troisième génération, administré chez des patients en IC décompensée avec dysfonction systolique sévère, ne modifiait pas l'index cardiaque [87].

II. Effets différentiels du nébivolol et du bisoprolol au stade chronique de l'insuffisance cardiaque

Les deux bêta-bloquants étudiés ne modulent pas de manière significative le remodelage des récepteurs β -adrénergiques au niveau ventriculaire gauche et vasculaire. Dans le VG, on assiste à une augmentation très significative des transcrits du récepteur β_3 -AR sans effet des traitements dans les trois groupes IC, alors que le niveau de transcription du récepteur β_1 -AR n'est pas différent entre les trois groupes IC et les rats contrôle. Ce dernier résultat suggère que nous nous trouvons à un stade compensé où l'augmentation des taux de catécholamines

ne se traduit pas en termes de désensibilisation et « down-régulation » significative des récepteurs β_1 -AR comme c'est le cas dans l'IC avancée [9, 11].

Dans l'étude hémodynamique *in vivo*, il apparaît que les deux bêta-bloquants étudiés présentent des effets bénéfiques significatifs sur le remodelage VG inverse, sans différence entre les deux molécules. Nous retrouvons les effets bénéfiques déjà bien décrits en termes de remodelage VG inverse dans les grandes études cliniques sur les bêta-bloquants (amélioration de la FEVG et réduction des diamètres ventriculaires) [69, 73-75]. L'utilisation de la technique des boucles pression-volume permet ici d'analyser précisément de manière intégrée les mécanismes hémodynamiques potentiels à l'origine de cette amélioration. En effet, l'étude de la relation pression-volume télé-systolique (PES mid) montre que les deux traitements bêta-bloquants étudiés ont bel et bien, à ce stade, un réel effet inotrope négatif sur la contractilité VG intrinsèque indépendante des conditions de charge, significatif par rapport aux contrôles et IC non traités. L'effet β_3 -AR agoniste du nébivolol ne se traduit pas par un effet inotrope négatif plus marqué que celui du bisoprolol. Il est intéressant de noter que la contractilité intrinsèque du VG des rats IC non traités est proche de celle des rats contrôle, ce qui suggère qu'un des mécanismes adaptatifs mis en jeu à ce stade serait bien une augmentation du tonus adrénergique à l'origine de cette augmentation de contractilité, cette augmentation de contractilité intrinsèque indépendante des conditions de charge étant prévenue de manière équivalente par les deux bêta-bloquants étudiés.

L'amélioration de la fonction systolique VG globale et du débit cardiaque semble liée dans cette étude à une amélioration significative des conditions de charge (élastance artérielle et résistances systémiques, reflétant la post-charge, et PTDVG, reflétant la pré-charge VG). Les deux traitements bêta-bloquants n'améliorent pas la relaxation ventriculaire gauche dans ce modèle.

Dans l'étude vasculaire *in vitro*, l'absence d'amélioration de la réponse vasodilatatrice à l'isoprénaline dans les groupes IC traités par rapport aux IC non traités est concordante avec l'absence de remodelage β -adrénergique observé à ce stade dans l'aorte thoracique. En revanche, l'amélioration de la réponse vasodilatatrice à l'acétylcholine chez les IC traités par nébivolol par rapport aux IC non traités et traités par bisoprolol suggère un effet bénéfique du nébivolol sur la fonction endothéliale. Les rapports déjà démontrés du nébivolol avec la libération endothéliale de NO sont probablement impliqués dans cet effet [86], de prochaines études utilisant des agonistes et antagonistes plus spécifiques du récepteur β_3 -AR devront permettre d'évaluer plus précisément son rôle dans cet effet.

Pour des raisons techniques, il n'a pas été possible à ce stade de mener en parallèle à l'étude hémodynamique *in vivo* une étude sur cœur isolé-perfusé de réponse à l'isoprénaline.

En résumé, à ce stade chronique compensé de l'IC, le bisoprolol et le nébivolol ont des effets bénéfiques similaires sur les différents paramètres de fonction VG comparés à ceux présentés par les IC non traités (amélioration des conditions de charge, inotropisme négatif intrinsèque à l'origine d'une probable moindre consommation myocardique en oxygène), et il n'existe pas de différence dans leur modulation du remodelage β -adrénergique. Le seul effet différentiel observé à ce stade entre les deux béta-bloquants se situe au niveau vasculaire où le nébivolol semble améliorer significativement la fonction endothéliale, cet effet ne semblant pas impliquer le récepteur β_3 -AR.

III. Surexpression endothéliale du récepteur β_3 -adrénergique humain : un modèle particulier d'insuffisance cardiaque à fonction systolique préservée

Dans cette étude, la caractérisation fonctionnelle *in vivo* de ce modèle par la technique des boucles pression-volume du VG aboutit aux résultats suivants. Sur le plan vasculaire, il existe une augmentation significative des résistances systémiques et de la pression artérielle moyenne (PAM) dans le groupe Tg β_3 . Plusieurs hypothèses peuvent être avancées pour expliquer cette observation : découplage récepteur β_3 -AR-eNOS, remodelage β_1 , β_2 et α -AR et/ou remodelage des récepteurs à l'endothéline ou à l'angiotensine 2, en réponse à la surexpression du récepteur β_3 -AR au niveau endothélial. Mallem et al. (2004) ont montré chez le rat SHR (*spontaneously hypertensive rats*) que la relaxation aortique induite *in vivo* par la stimulation β_3 -AR n'était pas modifiée malgré une augmentation d'expression du récepteur β_3 -AR [64]. Ainsi, nous sommes en présence d'un second modèle où les résistances systémiques et la pression artérielle sont supérieures à la normale alors que le récepteur β_3 -AR voit son niveau d'expression augmenté. Il est donc possible d'envisager que, malgré ses propriétés vasodilatatrices clairement démontrées *in vitro* et *in vivo* en physiologie [20, 47, 49] et en physiopathologie (normalisation de la pression artérielle chez le chien hypertendu après perfusion d'un agoniste β_3 -AR [88]), le récepteur β_3 -AR soit impliqué de façon complexe dans la physiopathologie de l'hypertension artérielle.

Au niveau cardiaque, l'augmentation des résistances systémiques et de la PAM représente une augmentation de la post-charge du VG. En réponse à cette augmentation de post-charge VG, nous obtenons le même résultat que chez le rat SHR au même âge concernant le remodelage VG [42], à savoir préservation de la fonction systolique globale charge dépendante (FEVG, DP /dt max) au prix d'une augmentation de la contractilité intrinsèque du myocarde VG (PES mid, paramètre indépendant des conditions de charge). Ces caractéristiques hémodynamiques sont identiques à celles qui ont été mises en évidence

chez l'homme présentant un IC à fonction systolique préservée [58], le rat SHR ayant lui-même été proposé comme modèle d'étude de cette pathologie [42]. Cependant, il faut souligner trois différences notables entre les deux modèles : (i) contrairement au rat SHR de même âge, la constante de temps de relaxation VG *Tau* n'est pas augmentée chez les rats Tg β_3 par rapport au groupe témoin, soulignant l'absence de trouble de relaxation chez les rats Tg β_3 à 12 semaines (noter également que l'indice de compliance du VG β n'est pas altéré chez les rats Tg β_3 vs WT, ce qui est également le cas chez le rat SHR vs témoin à cet âge), (ii) il n'existe pas de différence entre le volume télé-diastolique du VG mesuré chez les rats Tg β_3 et les rats sauvages alors que celui-ci est significativement augmenté chez les rats SHR vs témoins à l'âge de 12 semaines, (iii) nous observons une tendance à une moindre consommation énergétique du VG Tg β_3 vs WT alors que celle du VG du rat SHR est supérieure à celle des rats témoin au même âge. Ces différences amènent à émettre l'hypothèse que le récepteur β_3 -AR localisé au niveau endothélial favoriserait un remodelage myocardique bénéfique en cas d'altération du couplage ventriculo-artériel, comme c'est le cas dans notre modèle, et chez l'homme présentant une IC à fonction systolique préservée [58].

L'étude clinique SENIORS [76], qui a étudié les effets du nébivolol chez des patients âgés de plus de 70 ans présentant une IC quel que soit le niveau de FEVG, comportait donc une certaine proportion de patients présentant une IC à fonction systolique préservée. Dans cette étude, 35 % des patients avaient une FEVG > 35 % et le niveau de FEVG n'influçait pas la réduction significative du critère primaire (mortalité toute cause et hospitalisations pour causes cardio-vasculaires) sous nébivolol vs placebo. Ce résultat suggère un effet bénéfique de ce traitement dans l'IC à fonction systolique préservée mais, en l'absence d'essai randomisé-contrôlé s'adressant spécifiquement à cette pathologie, il

n'existe pas de preuve suffisamment forte pour y recommander de façon incontestable un traitement bêta-bloquant.

IV. Autres rôles potentiels du récepteur β_3 -adrénergique dans l'insuffisance cardiaque : le syndrome de Tako-Tsubo ?

L'étude des effets différentiels du nébivolol et du bisoprolol au stade précoce de l'IC ouvre une voie de recherche sur les effets bénéfiques potentiels du nébivolol dans l'IC aiguë qui a été discutée ci-dessus. L'hypothèse du mécanisme d'action bénéfique de ce traitement à ce stade fait largement intervenir le rôle du récepteur β_3 -adrénergique à travers l'effet inotrope négatif de sa stimulation, mis en balance avec l'effet inotrope positif de la stimulation β_1 -AR, la sommation des deux effets influençant le degré de la réponse inotrope globale aux catécholamines (Figure 31).

A la lumière de ces constatations, il paraît important de discuter l'implication potentielle du récepteur β_3 -AR dans une entité particulière d'IC aiguë : la cardiomyopathie de stress ou syndrome de Tako-Tsubo, ou encore syndrome de ballonnisation apicale. Depuis 2006, le syndrome de ballonnisation apicale (SBA) est classé parmi les cardiomyopathies acquises primitives par l'American Heart Association. Son incidence n'est pas clairement connue mais on estime qu'entre 1 et 2 % des patients admis pour syndrome coronarien aigu présentent en réalité un SBA [89]. La prévalence féminine dans la population des patients présentant un SBA est très importante, supérieure à 90 %, l'âge moyen allant de 58 à 75 ans [89]. La présentation clinique est celle d'un syndrome douloureux thoracique dans 50 à 60 % des cas, associé dans 46 à 100 % des cas selon les séries à un sus-décalage du segment ST [89]. Des

signes d'IC congestive sont très fréquemment associés, rarement un état de choc cardiogénique [89]. Sur le plan morphologique, la présentation classique est celle d'une akinésie de tous les segments moyens et distaux ainsi que de l'apex du VG, alors que les segments proximaux conservent une cinétique normale [89] (Figure 32). Des anomalies similaires de la cinétique du ventricule droit sont associées dans 30 % des cas [89].

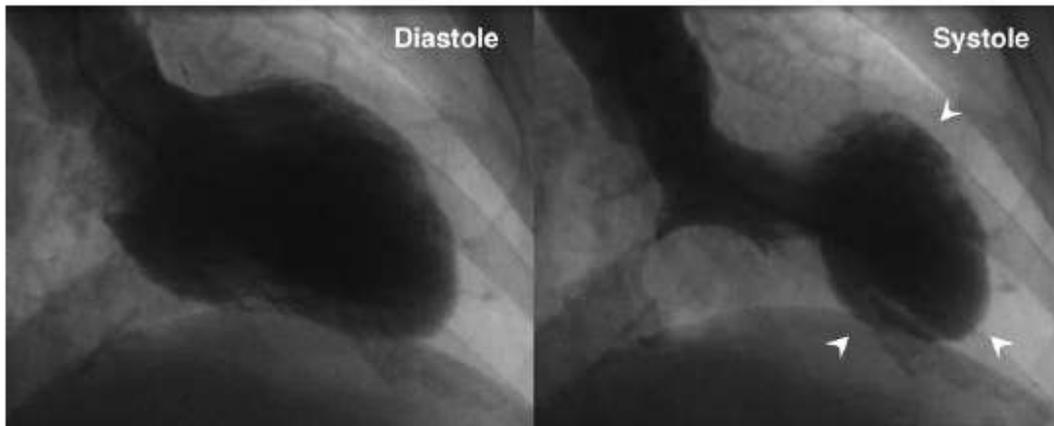


Figure 32. Ventriculographie gauche montrant les troubles de cinétique caractéristiques d'un syndrome de Tako-Tsubo, sans systématisation coronaire (d'après [89]).

Le SBA est très fréquemment précédé d'un intense stress émotionnel ou physique, mais l'absence de cet élément n'élimine pas le diagnostic [89]. La coronarographie élimine une occlusion ou une sténose critique d'un ou plusieurs troncs coronaires épicaudiques [89]. Le SBA est toujours transitoire et une récupération complète est obtenue entre quatre et huit semaines, le taux de récurrences est inférieur à 10 % [89].

La physiopathologie du SBA est encore très mal connue. L'imagerie par résonance magnétique ne montre aucun réhaussement tardif au gadolinium, ce qui élimine une cause ischémique ou inflammatoire (myocardite) dans cette pathologie [89], l'hypothèse d'un spasme de gros troncs coronaires épicaudiques a également été éliminée dans de grandes séries [89]. Des études isotopiques ont suggéré des anomalies de la microcirculation coronaire, sans qu'il ne soit possible de prouver s'il s'agit du mécanisme primaire de la maladie ou d'un épiphénomène [89]. Dans ce contexte de pathologie induite par le stress, il a

été démontré dans une série de patients présentant un SBA des taux sanguins très élevés de catécholamines, persistant durant sept à neuf jours. Chez ces patients, des biopsies endomyocardiques étaient réalisées et retrouvaient des stigmates de nécrose en bande traduisant la toxicité des catécholamines [89]. Ces anomalies ne sont toutefois pas retrouvées de façon constante dans toutes les séries de SBA.

Devant la présentation clinique du SBA et sa relation étroite avec le stress et une décharge brutale de catécholamines, les données fondamentales que nous avons recueillies sur le récepteur β_3 -AR et ses rôles potentiels en physiologie et en physiopathologie cardiaque doivent appeler à formuler une nouvelle hypothèse physiopathologique. En effet, (i) le récepteur β_3 -AR, de par sa structure moléculaire, est moins sensible que les deux autres sous-types aux phénomènes de désensibilisation à court et moyen terme, et il est activé particulièrement par des taux élevés de catécholamines [7] ; (ii) sa stimulation chez l'homme engendre *in vitro* un effet inotrope négatif ; (iii) les travaux réalisés chez l'homme dans l'IC avancée [11] et dans la présente étude chez le rat dans l'IC aiguë suggèrent un rôle fondamental de la balance entre les effets opposés inotropes positif et négatif des stimulations β_1 - et β_3 -AR dans la détermination de la résultante qu'est la réponse inotrope à la stimulation non spécifique β -AR par les catécholamines.

A la lumière de ces éléments, il est possible de formuler l'hypothèse physiopathologique suivante : le SBA serait la conséquence d'une désensibilisation majeure avec perte de fonction, désensibilisation brutale et/ou découplage des récepteurs β_1 -AR myocardiques, alors que les récepteurs β_3 -AR, plus résistants à la désensibilisation, verraient leur niveau d'expression et leur fonction peu ou pas modifiés, voire augmenté comme nous venons de le démontrer chez le rat dans l'IC aiguë post-IDM, résultant en une réponse paradoxale inotrope négative aux catécholamines qui se traduirait par les troubles de cinétique observés et les signes cliniques d'IC.

Plusieurs éléments, outre la responsabilité du stress et des catécholamines bien connue, peuvent aller dans le sens de cette hypothèse : (i) la réversibilité permanente de l'atteinte cardiaque, (ii) les résultats d'une étude dans un modèle de rat qui a montré la réversibilité de la ballonnisation apicale et des anomalies électriques sous traitement alpha et β -antagoniste [90].

La grande prévalence féminine dans le SBA et sa faible incidence dans la population générale font appel à une autre notion d'intérêt dans les études actuelles sur les récepteurs β -adrénergiques en pathologie cardio-vasculaire qu'est la notion de polymorphismes. En effet, la prédisposition féminine suggère un possible polymorphisme lié au sexe, soit dans le récepteur β_1 -AR, soit dans le récepteur β_3 -AR, qui favoriserait la sur-expression exagérée de l'un (β_3 -AR), ou une désensibilisation trop importante de l'autre (β_1 -AR), en réponse à une décharge catécholergique intense, et qui pourrait entraîner la survenue du syndrome dans le cadre de notre hypothèse. Plusieurs polymorphismes ont déjà été identifiés pour les gènes codant les récepteurs β -AR. Certains polymorphismes dans le gène du récepteur β_1 -AR notamment ont pour conséquence une accentuation du phénomène de désensibilisation [19], ce qui pourrait également constituer un polymorphisme de susceptibilité au SBA et viendrait accréditer notre hypothèse physiopathologique. Des polymorphismes sont également connus pour le gène codant le récepteur β_3 -AR [20] et sont plutôt impliqués dans la prédisposition au syndrome métabolique. Toutefois, il est tout à fait possible d'imaginer qu'il en existe un ou plusieurs favorisant la surexpression, ou tout au moins une extrême résistance à la désensibilisation, de ce récepteur en réponse à une décharge catécholergique intense.

Pour confirmer ou infirmer cette hypothèse physiopathologique dans le SBA, il convient d'imaginer une étude clinique. Sur le plan fonctionnel, celle-ci pourrait consister en un recueil de tissus par biopsies endo-myocardiques (BEM) chez les sujets présentant un syndrome de Tako-Tsubo, qui pourraient être exploitées grâce au savoir-faire de notre unité INSERM à la

recherche d'une participation prédominante de la réponse inotrope négative β_3 -AR chez ces patients. Les nouvelles recommandations ACC/AHA/ESC pour la réalisation des BEM, qui proposent en recommandation de classe I niveau de preuve B la réalisation d'une BEM en cas de nouvel épisode d'IC datant de moins de deux semaines associé à un ventricule de taille normale ou dilaté et à une hémodynamique compromise [91], devraient nous permettre d'obtenir l'autorisation de prélever ces tissus dans le cadre d'une étude clinique. De plus, il conviendrait également d'envisager un versant génétique dans ce projet à travers la recherche de nouveaux polymorphismes dans le gène codant le récepteur β_3 -AR et/ou β_1 -AR chez des sujets sains et atteints afin d'identifier les éléments favorisant l'apparition du syndrome dans une certaine catégorie de patients.

CONCLUSION

Ce travail met en lumière un rôle physiopathologique potentiel important du récepteur β_3 -adrénergique à des stades particuliers de l'insuffisance cardiaque s'accompagnant d'un taux circulant élevé de catécholamines, comme l'insuffisance cardiaque aiguë ou l'insuffisance cardiaque avancée. A ces stades de la maladie, la sur-expression de ce récepteur semble avoir un effet délétère en terme de réponse inotrope aux catécholamines. Cette observation nous amène à formuler une hypothèse physiopathologique explicative d'une entité particulière d'insuffisance cardiaque aiguë, la cardiomyopathie de stress, qui pourra être évaluée lors d'une éventuelle étude clinique ultérieure chez l'homme.

La sur-expression du récepteur β_3 -AR endothélial dans un modèle de rat transgénique reproduit un phénotype moléculaire d'expression des récepteurs β -adrénergiques observé dans l'hypertension artérielle. Nous démontrons dans ce modèle des conséquences sur la fonction ventriculaire gauche très proches de celles observées dans l'insuffisance cardiaque à fonction systolique préservée, bien qu'il existe certaines différences d'importance telles qu'une préservation de la fonction diastolique et une amélioration de l'énergétique myocardique, suggérant un effet potentiellement bénéfique de la stimulation β_3 -adrénergique dans cette pathologie.

En termes d'impact thérapeutique, le nébivolol, bêta-bloquant doté de propriétés β_3 -agonistes, prévient la sur-expression du récepteur β_3 -AR cardiaque et vasculaire au stade aigu de l'insuffisance cardiaque post-infarctus du myocarde, permettant d'améliorer plusieurs paramètres essentiels de fonction cardiaque en réponse aux catécholamines ainsi que la fonction endothéliale, alors qu'un bêta-bloquant β_1 -antagoniste pur ne présente pas ces effets moléculaires et fonctionnels. Ces données suggèrent une action bénéfique de ce traitement à ce stade de la pathologie, celle-ci provenant au moins en partie directement de son action sur le récepteur β_3 -AR. Des études complémentaires seront nécessaires pour déterminer le rôle du

récepteur β_3 -AR et ses implications thérapeutiques à un stade plus avancé de l'insuffisance cardiaque, ainsi que dans l'insuffisance cardiaque à fonction systolique préservée.

REFERENCES

1. Burkhoff, D., I. Mirsky, and H. Suga, *Assessment of systolic and diastolic ventricular properties via pressure-volume analysis: a guide for clinical, translational, and basic researchers*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2005. **289**(2): p. H501-12.
2. Frielle, T., et al., *Cloning of the cDNA for the human beta 1-adrenergic receptor*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1987. **84**(22): p. 7920-4.
3. Dixon, R.A., et al., *Cloning of the gene and cDNA for mammalian beta-adrenergic receptor and homology with rhodopsin*. Nature, 1986. **321**(6065): p. 75-9.
4. Emorine, L.J., et al., *Molecular characterization of the human beta 3-adrenergic receptor*. Science, 1989. **245**(4922): p. 1118-21.
5. Strosberg, A.D. and F. Pietri-Rouxel, *Function and regulation of the beta 3-adrenoceptor*. Trends Pharmacol Sci, 1996. **17**(10): p. 373-81.
6. Brodde, O.E., H. Bruck, and K. Leineweber, *Cardiac adrenoceptors: physiological and pathophysiological relevance*. J Pharmacol Sci, 2006. **100**(5): p. 323-37.
7. Strosberg, A.D., *Structure and function of the beta 3-adrenergic receptor*. Annu Rev Pharmacol Toxicol, 1997. **37**: p. 421-50.
8. Evans, B.A., et al., *Alternative splicing generates two isoforms of the beta3-adrenoceptor which are differentially expressed in mouse tissues*. Br J Pharmacol, 1999. **127**(6): p. 1525-31.
9. Bristow, M.R., et al., *Beta 1- and beta 2-adrenergic-receptor subpopulations in nonfailing and failing human ventricular myocardium: coupling of both receptor subtypes to muscle contraction and selective beta 1-receptor down-regulation in heart failure*. Circ Res, 1986. **59**(3): p. 297-309.
10. de Boer, R.E., et al., *Influence of adrenomedullation on beta 2- and beta 3-adrenoceptors mediating relaxation of oesophageal smooth muscle of spontaneously hypertensive rats*. Br J Pharmacol, 1996. **119**(7): p. 1355-60.
11. Moniotte, S., et al., *Upregulation of beta(3)-adrenoceptors and altered contractile response to inotropic amines in human failing myocardium*. Circulation, 2001. **103**(12): p. 1649-55.
12. Rozec, B., et al., *Mixed beta3-adrenoceptor agonist and alpha1-adrenoceptor antagonist properties of nebivolol in rat thoracic aorta*. Br J Pharmacol, 2006. **147**(7): p. 699-706.
13. Kaumann, A.J. and P. Molenaar, *Differences between the third cardiac beta-adrenoceptor and the colonic beta 3-adrenoceptor in the rat*. Br J Pharmacol, 1996. **118**(8): p. 2085-98.
14. Xiao, R.P., et al., *Subtype-specific alpha1- and beta-adrenoceptor signaling in the heart*. Trends Pharmacol Sci, 2006. **27**(6): p. 330-7.
15. Pavoine, C. and N. Defer, *The cardiac beta2-adrenergic signalling a new role for the cPLA2*. Cell Signal, 2005. **17**(2): p. 141-52.
16. Pacher, P., et al., *Left ventricular pressure-volume relationship in a rat model of advanced aging-associated heart failure*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2004. **287**(5): p. H2132-7.
17. Gauthier, C., et al., *The negative inotropic effect of beta3-adrenoceptor stimulation is mediated by activation of a nitric oxide synthase pathway in human ventricle*. J Clin Invest, 1998. **102**(7): p. 1377-84.
18. Gauthier, C., et al., *Functional beta3-adrenoceptor in the human heart*. J Clin Invest, 1996. **98**(2): p. 556-62.
19. Muthumala, A., et al., *Role of beta adrenergic receptor polymorphisms in heart failure: systematic review and meta-analysis*. Eur J Heart Fail, 2008. **10**(1): p. 3-13.

20. Rozec, B. and C. Gauthier, *beta3-adrenoceptors in the cardiovascular system: putative roles in human pathologies*. Pharmacol Ther, 2006. **111**(3): p. 652-73.
21. Steinberg, S.F., *beta(2)-Adrenergic receptor signaling complexes in cardiomyocyte caveolae/lipid rafts*. J Mol Cell Cardiol, 2004. **37**(2): p. 407-15.
22. Wheeldon, N.M., D.G. McDevitt, and B.J. Lipworth, *Investigation of putative cardiac beta 3-adrenoceptors in man*. Q J Med, 1993. **86**(4): p. 255-61.
23. Wheeldon, N.M., D.G. McDevitt, and B.J. Lipworth, *Cardiac effects of the beta 3-adrenoceptor agonist BRL35135 in man*. Br J Clin Pharmacol, 1994. **37**(4): p. 363-9.
24. Moniotte, S., et al., *Sepsis is associated with an upregulation of functional beta3 adrenoceptors in the myocardium*. Eur J Heart Fail, 2007. **9**(12): p. 1163-71.
25. Skeberdis, V.A., et al., *beta3-adrenergic receptor activation increases human atrial tissue contractility and stimulates the L-type Ca²⁺ current*. J Clin Invest, 2008. **118**(9): p. 3219-27.
26. Cheng, H.J., et al., *Upregulation of functional beta(3)-adrenergic receptor in the failing canine myocardium*. Circ Res, 2001. **89**(7): p. 599-606.
27. Gauthier, C., et al., *Interspecies differences in the cardiac negative inotropic effects of beta(3)-adrenoceptor agonists*. J Pharmacol Exp Ther, 1999. **290**(2): p. 687-93.
28. Shen, Y.T., et al., *Differences in beta 3-adrenergic receptor cardiovascular regulation in conscious primates, rats and dogs*. J Pharmacol Exp Ther, 1996. **278**(3): p. 1435-43.
29. Tavernier, G., et al., *The positive chronotropic effect induced by BRL 37344 and CGP 12177, two beta-3 adrenergic agonists, does not involve cardiac beta adrenoceptors but baroreflex mechanisms*. J Pharmacol Exp Ther, 1992. **263**(3): p. 1083-90.
30. Takayama, S., et al., *Positive chronotropic and inotropic responses to BRL 37344, a beta 3-adrenoceptor agonist in isolated, blood-perfused dog atria*. Eur J Pharmacol, 1993. **231**(3): p. 315-21.
31. Angelone, T., et al., *Beta3-adrenoceptors modulate left ventricular relaxation in the rat heart via the NO-cGMP-PKG pathway*. Acta Physiol (Oxf), 2008. **193**(3): p. 229-39.
32. Barbier, J., et al., *Existence of beta(3)-adrenoceptors in rat heart: functional implications*. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2007. **34**(8): p. 796-8.
33. Varghese, P., et al., *beta(3)-adrenoceptor deficiency blocks nitric oxide-dependent inhibition of myocardial contractility*. J Clin Invest, 2000. **106**(5): p. 697-703.
34. Tavernier, G., et al., *beta3-Adrenergic stimulation produces a decrease of cardiac contractility ex vivo in mice overexpressing the human beta3-adrenergic receptor*. Cardiovasc Res, 2003. **59**(2): p. 288-96.
35. Kohout, T.A., et al., *Augmentation of cardiac contractility mediated by the human beta(3)-adrenergic receptor overexpressed in the hearts of transgenic mice*. Circulation, 2001. **104**(20): p. 2485-91.
36. Barbuti, A. and D. DiFrancesco, *Control of cardiac rate by "funny" channels in health and disease*. Ann N Y Acad Sci, 2008. **1123**: p. 213-23.
37. Murphy, B.J., et al., *cAMP-dependent phosphorylation of two sites in the alpha subunit of the cardiac sodium channel*. J Biol Chem, 1996. **271**(46): p. 28837-43.
38. Palygin, O.A., J.M. Pettus, and E.F. Shibata, *Regulation of caveolar cardiac sodium current by a single Gsalpha histidine residue*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2008. **294**(4): p. H1693-9.
39. Dorian, P., *Antiarrhythmic action of beta-blockers: potential mechanisms*. J Cardiovasc Pharmacol Ther, 2005. **10 Suppl 1**: p. S15-22.
40. Kitamura, T., et al., *The negative inotropic effect of beta3-adrenoceptor stimulation in the beating guinea pig heart*. J Cardiovasc Pharmacol, 2000. **35**(5): p. 786-90.

41. Au, A.L. and Y.W. Kwan, *Modulation of L-type Ca²⁺ channels by beta₃-adrenoceptor activation and the involvement of nitric oxide*. *J Card Surg*, 2002. **17**(5): p. 465-9.
42. Klotz, S., et al., *Development of heart failure in chronic hypertensive Dahl rats: focus on heart failure with preserved ejection fraction*. *Hypertension*, 2006. **47**(5): p. 901-11.
43. Kathofer, S., et al., *Functional coupling of human beta₃-adrenoreceptors to the KvLQT1/MinK potassium channel*. *J Biol Chem*, 2000. **275**(35): p. 26743-7.
44. Bosch, R.F., et al., *beta₃-Adrenergic regulation of an ion channel in the heart-inhibition of the slow delayed rectifier potassium current I(K_s) in guinea pig ventricular myocytes*. *Cardiovasc Res*, 2002. **56**(3): p. 393-403.
45. Leblais, V., et al., *beta₃-adrenoceptor control the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator through a cAMP/protein kinase A-independent pathway*. *J Biol Chem*, 1999. **274**(10): p. 6107-13.
46. Rautureau, Y., et al., *Beta₃-adrenoceptor in rat aorta: molecular and biochemical characterization and signalling pathway*. *Br J Pharmacol*, 2002. **137**(2): p. 153-61.
47. Trochu, J.N., et al., *Beta₃-adrenoceptor stimulation induces vasorelaxation mediated essentially by endothelium-derived nitric oxide in rat thoracic aorta*. *Br J Pharmacol*, 1999. **128**(1): p. 69-76.
48. Dessy, C., et al., *Endothelial beta₃-adrenoceptors mediate vasorelaxation of human coronary microarteries through nitric oxide and endothelium-dependent hyperpolarization*. *Circulation*, 2004. **110**(8): p. 948-54.
49. Rozec, B., et al., *Characterization of beta₃-adrenoceptors in human internal mammary artery and putative involvement in coronary artery bypass management*. *J Am Coll Cardiol*, 2005. **46**(2): p. 351-9.
50. Swedberg, K., et al., *Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic heart failure: executive summary (update 2005): The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Chronic Heart Failure of the European Society of Cardiology*. *Eur Heart J*, 2005. **26**(11): p. 1115-40.
51. Mosterd, A. and A.W. Hoes, *Clinical epidemiology of heart failure*. *Heart*, 2007. **93**(9): p. 1137-46.
52. McDonagh, T.A., et al., *Biochemical detection of left-ventricular systolic dysfunction*. *Lancet*, 1998. **351**(9095): p. 9-13.
53. Redfield, M.M., et al., *Burden of systolic and diastolic ventricular dysfunction in the community: appreciating the scope of the heart failure epidemic*. *Jama*, 2003. **289**(2): p. 194-202.
54. Hogg, K., K. Swedberg, and J. McMurray, *Heart failure with preserved left ventricular systolic function; epidemiology, clinical characteristics, and prognosis*. *J Am Coll Cardiol*, 2004. **43**(3): p. 317-27.
55. Cowie, M.R., et al., *The epidemiology of heart failure*. *Eur Heart J*, 1997. **18**(2): p. 208-25.
56. Cohn, J.N., R. Ferrari, and N. Sharpe, *Cardiac remodeling--concepts and clinical implications: a consensus paper from an international forum on cardiac remodeling. Behalf of an International Forum on Cardiac Remodeling*. *J Am Coll Cardiol*, 2000. **35**(3): p. 569-82.
57. Sanderson, J.E., *Heart failure with a normal ejection fraction*. *Heart*, 2007. **93**(2): p. 155-8.
58. Kawaguchi, M., et al., *Combined ventricular systolic and arterial stiffening in patients with heart failure and preserved ejection fraction: implications for systolic and diastolic reserve limitations*. *Circulation*, 2003. **107**(5): p. 714-20.

59. Swynghedauw, B., *Molecular mechanisms of myocardial remodeling*. *Physiol Rev*, 1999. **79**(1): p. 215-62.
60. Bristow, M.R., *Mechanism of action of beta-blocking agents in heart failure*. *Am J Cardiol*, 1997. **80**(11A): p. 26L-40L.
61. Gaballa, M.A., et al., *Vascular beta-adrenergic receptor system is dysfunctional after myocardial infarction*. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2001. **280**(3): p. H1129-35.
62. Michel, M.C., O.E. Brodde, and P.A. Insel, *Peripheral adrenergic receptors in hypertension*. *Hypertension*, 1990. **16**(2): p. 107-20.
63. Werstiuk, E.S. and R.M. Lee, *Vascular beta-adrenoceptor function in hypertension and in ageing*. *Can J Physiol Pharmacol*, 2000. **78**(6): p. 433-52.
64. Mallem, M.Y., et al., *Impairment of the low-affinity state beta1-adrenoceptor-induced relaxation in spontaneously hypertensive rats*. *Br J Pharmacol*, 2004. **143**(5): p. 599-605.
65. Toumaniantz, G., et al., [*Vascular beta-adrenergic remodeling in rat transgenic model over-expressing endothelial beta3-adrenoceptors*]. *Arch Mal Coeur Vaiss*, 2005. **98**(7-8): p. 836-40.
66. Reiter, M.J., *Cardiovascular drug class specificity: beta-blockers*. *Prog Cardiovasc Dis*, 2004. **47**(1): p. 11-33.
67. Dulin, B. and W.T. Abraham, *Pharmacology of carvedilol*. *Am J Cardiol*, 2004. **93**(9A): p. 3B-6B.
68. Dessy, C., et al., *Endothelial beta3-adrenoreceptors mediate nitric oxide-dependent vasorelaxation of coronary microvessels in response to the third-generation beta-blocker nebivolol*. *Circulation*, 2005. **112**(8): p. 1198-205.
69. Lechat, P., et al., *Clinical effects of beta-adrenergic blockade in chronic heart failure: a meta-analysis of double-blind, placebo-controlled, randomized trials*. *Circulation*, 1998. **98**(12): p. 1184-91.
70. Andersson, B., et al., *Changes in early and late diastolic filling patterns induced by long-term adrenergic beta-blockade in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy*. *Circulation*, 1996. **94**(4): p. 673-82.
71. Andersson, B., et al., *Exercise hemodynamics and myocardial metabolism during long-term beta-adrenergic blockade in severe heart failure*. *J Am Coll Cardiol*, 1991. **18**(4): p. 1059-66.
72. Packer, M., et al., *The effect of carvedilol on morbidity and mortality in patients with chronic heart failure. U.S. Carvedilol Heart Failure Study Group*. *N Engl J Med*, 1996. **334**(21): p. 1349-55.
73. *The Cardiac Insufficiency Bisoprolol Study II (CIBIS-II): a randomised trial*. *Lancet*, 1999. **353**(9146): p. 9-13.
74. *Effect of metoprolol CR/XL in chronic heart failure: Metoprolol CR/XL Randomised Intervention Trial in Congestive Heart Failure (MERIT-HF)*. *Lancet*, 1999. **353**(9169): p. 2001-7.
75. Packer, M., et al., *Effect of carvedilol on the morbidity of patients with severe chronic heart failure: results of the carvedilol prospective randomized cumulative survival (COPERNICUS) study*. *Circulation*, 2002. **106**(17): p. 2194-9.
76. Flather, M.D., et al., *Randomized trial to determine the effect of nebivolol on mortality and cardiovascular hospital admission in elderly patients with heart failure (SENIORS)*. *Eur Heart J*, 2005. **26**(3): p. 215-25.
77. Poole-Wilson, P.A., et al., *Comparison of carvedilol and metoprolol on clinical outcomes in patients with chronic heart failure in the Carvedilol Or Metoprolol European Trial (COMET): randomised controlled trial*. *Lancet*, 2003. **362**(9377): p. 7-13.

78. Charreau, B., et al., *Protection against hyperacute xenograft rejection of transgenic rat hearts expressing human decay accelerating factor (DAF) transplanted into primates*. Mol Med, 1999. **5**(9): p. 617-30.
79. Ito, H., et al., *Left ventricular volumetric conductance catheter for rats*. Am J Physiol, 1996. **270**(4 Pt 2): p. H1509-14.
80. Baan, J., et al., *Continuous measurement of left ventricular volume in animals and humans by conductance catheter*. Circulation, 1984. **70**(5): p. 812-23.
81. Sato, T., et al., *ESPVR of in situ rat left ventricle shows contractility-dependent curvilinearity*. Am J Physiol, 1998. **274**(5 Pt 2): p. H1429-34.
82. Suga, H., *Cardiac energetics: from E(max) to pressure-volume area*. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2003. **30**(8): p. 580-5.
83. Tachibana, H., et al., *New mechanoenergetic evaluation of left ventricular contractility in in situ rat hearts*. Am J Physiol, 1997. **272**(6 Pt 2): p. H2671-8.
84. Swynghedauw, B., et al., *Adaptational changes of sarcomere and sarcolemma during chronic cardiac overloading in rats and in humans*. J Cardiovasc Pharmacol, 1987. **10 Suppl 6**: p. S13-9.
85. Zhao, Q., et al., *Effect of beta-blockers on beta3-adrenoceptor expression in chronic heart failure*. Cardiovasc Drugs Ther, 2007. **21**(2): p. 85-90.
86. Veverka, A. and J.L. Salinas, *Nebivolol in the treatment of chronic heart failure*. Vasc Health Risk Manag, 2007. **3**(5): p. 647-54.
87. Felix, S.B., et al., *Acute hemodynamic effects of beta-blockers in patients with severe congestive heart failure: comparison of celiprolol and esmolol*. J Cardiovasc Pharmacol, 2001. **38**(5): p. 666-71.
88. Donckier, J.E., et al., *Cardiovascular effects of beta 3-adrenoceptor stimulation in perinephritic hypertension*. Eur J Clin Invest, 2001. **31**(8): p. 681-9.
89. Prasad, A., A. Lerman, and C.S. Rihal, *Apical ballooning syndrome (Tako-Tsubo or stress cardiomyopathy): a mimic of acute myocardial infarction*. Am Heart J, 2008. **155**(3): p. 408-17.
90. Ueyama, T., et al., *Emotional stress induces transient left ventricular hypocontraction in the rat via activation of cardiac adrenoceptors: a possible animal model of 'tako-tsubo' cardiomyopathy*. Circ J, 2002. **66**(7): p. 712-3.
91. Cooper, L.T., et al., *The role of endomyocardial biopsy in the management of cardiovascular disease: a scientific statement from the American Heart Association, the American College of Cardiology, and the European Society of Cardiology. Endorsed by the Heart Failure Society of America and the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology*. J Am Coll Cardiol, 2007. **50**(19): p. 1914-31.

NOM : PIRIOU PRENOM : Nicolas

Titre de Thèse : Récepteur β_3 -adrénergique cardiaque et vasculaire, nouvelle cible thérapeutique dans l'insuffisance cardiaque ? Application à différents modèles animaux

RESUME

La mise en jeu du système adrénergique dans l'insuffisance cardiaque comme mécanisme compensateur entraîne des effets délétères à long terme. Ce travail a pour objet d'étudier dans trois modèles animaux d'insuffisance cardiaque les effets potentiels du récepteur β_3 -adrénergique dont les effets physiologiques se distinguent nettement de ceux des deux autres sous-types, notamment à travers l'utilisation d'un bêta-bloquant de troisième génération doté de propriétés β_3 -agonistes, le nébivolol. Il apparaît qu'au stade aigu de l'insuffisance cardiaque le récepteur β_3 -adrénergique se trouve fortement exprimé en l'absence de traitement bêta-bloquant, ceci ayant une forte incidence sur le plan fonctionnel. Ce remodelage moléculaire et fonctionnel très précoce est prévenu par le nébivolol qui permet de restaurer en partie la réponse ventriculaire gauche adaptative aux catécholamines à ce stade de la maladie. Ces résultats ouvrent des perspectives importantes quant à l'implication de ce récepteur comme élément et cible thérapeutique potentiels dans l'insuffisance cardiaque aiguë.

MOTS-CLES

Insuffisance cardiaque, Bêta-bloquants, Récepteurs bêta-adrénergiques