



AVERTISSEMENT

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

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

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

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

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

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

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

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

T / PH / N / 2008 / 81

UNIVERSITE HENRI POINCARÉ – NANCY 1

2008

FACULTE DE PHARMACIE

**BALANCE SODEE ET VASOREACTIVITE CEREBRALE
A L'ANGIOTENSINE II**

THESE

Présentée et soutenue publiquement

le 24 octobre 2008

pour obtenir

le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie

par **Sébastien Foulquier**

né le 18 juillet 1984, à Mont de Marsan (40).

Membres du jury

Président : J. ATKINSON, Professeur, Faculté de Pharmacie, Nancy.

Directeur : I. LARTAUD, Professeur, Faculté de Pharmacie, Nancy.

Juges : S. THORNTON, Professeur, Faculté des Sciences et Techniques, Nancy.

A. RUPIN, Docteur en Pharmacie, Institut De Recherches Servier, Suresnes.

UNIVERSITE HENRI POINCARÉ – NANCY 1

2008

FACULTE DE PHARMACIE

**BALANCE SODEE ET VASOREACTIVITE CEREBRALE
A L'ANGIOTENSINE II**

THESE

Présentée et soutenue publiquement

le 24 octobre 2008

pour obtenir

le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie

par **Sébastien Foulquier**

né le 18 juillet 1984, à Mont de Marsan (40).

Membres du jury

Président : J. ATKINSON, Professeur, Faculté de Pharmacie, Nancy.

Directeur : I. LARTAUD, Professeur, Faculté de Pharmacie, Nancy.

Juges : S. THORNTON, Professeur, Faculté des Sciences et Techniques, Nancy.

A. RUPIN, Docteur en Pharmacie, Institut De Recherches Servier, Suresnes.

UNIVERSITE Henri Poincaré - Nancy 1
FACULTE DE PHARMACIE

DOYEN

Chantal FINANCE

Vice-Doyen

Francine PAULUS

Président du Conseil de la Pédagogie

Pierre LABRUDE

Responsable de la Commission de la Recherche

Jean-Claude BLOCK

Directeur des Etudes

Gérald CATAU

Responsable de la Commission des Relations Internationales

Janine SCHWARTZBROD

Responsable de la Communication

Francine KEDZIEREWICZ

Responsable de la Commission Hygiène Sécurité

Laurent DIEZ

Responsable de la filière Officine :

Gérald CATAU

Responsables de la filière Industrie :

Isabelle LARTAUD

Jean-Bernard REGNOUF de VAINS

Responsable du CEPH :

(Collège d'Enseignement Pharmaceutique Hospitalier)

Jean-Michel SIMON

Doyen Honoraire : Claude VIGNERON

Professeur Emérite : Gérard SIEST

Professeurs Honoraires

Thérèse GIRARD
Michel JACQUE
Lucien LALLOZ
Pierre LECTARD
Vincent LOPPINET
Marcel MIRJOLET
François MORTIER
Maurice PIERFITTE
Louis SCHWARTZBROD

Maîtres de Conférences Honoraires

Marie-Claude FUZELLIER
Françoise HINZELIN
Marie-Andrée IMBS
Marie-Hélène LIVERTOUX
Jean-Louis MONAL
Marie-France POCHON
Anne ROVEL
Maria WELLMAN-ROUSSEAU

Assistante Honoraire

Marie-Catherine BERTHE

ENSEIGNANTS

PROFESSEURS

Gilles AULAGNER	Pharmacie clinique
Alain BAGREL	Biochimie
Jean-Claude BLOCK	Santé publique
Christine CAPDEVILLE-ATKINSON	Pharmacologie cardiovasculaire
Chantal FINANCE	Virologie, Immunologie
Pascale FRIANT-MICHEL	Mathématiques, Physique, Audioprothèse
Marie-Madeleine GALTEAU	Biochimie clinique
Christophe GANTZER	Microbiologie environnementale
Max HENRY	Botanique, Mycologie
Jean-Yves JOUZEAU	Bioanalyse du médicament
Pierre LABRUDE	Physiologie, Orthopédie, Maintien à domicile
Dominique LAURAIN-MATTAR	Pharmacognosie
Isabelle LARTAUD	Pharmacologie
Pierre LEROY	Chimie physique générale
Philippe MAINCENT	Pharmacie galénique
Alain MARSURA	Chimie thérapeutique
Patrick MENU	Physiologie et physiopathologie humaine
Jean-Louis MERLIN	Biologie cellulaire oncologique
Alain NICOLAS	Chimie analytique
Jean-Bernard REGNOUF de VAINS	Chimie thérapeutique
Bertrand RIHN	Biochimie, Biologie moléculaire
Janine SCHWARTZBROD	Bactériologie, Parasitologie
Jean-Michel SIMON	Economie de la santé, Législation
pharmaceutique	
Claude VIGNERON	Hématologie, Physiologie

MAITRES DE CONFERENCES

Monique ALBERT	Bactériologie, Virologie
Sandrine BANAS	Parasitologie
Mariette BEAUD	Biologie cellulaire
Emmanuelle BENOIT	Communication et Santé
Michel BOISBRUN	Chimie thérapeutique
Catherine BOITEUX	Biophysique, Audioprothèse
François BONNEAUX	Chimie thérapeutique
Cédric BOURA	Physiologie
Gérald CATAU	Pharmacologie
Jean-Claude CHEVIN	Chimie générale et minérale
Igor CLAROT	Chimie analytique
Jocelyne COLLOMB	Parasitologie, Organisation animale
Joël COULON	Biochimie
Sébastien DADE	Bio-informatique
Dominique DECOLIN	Chimie analytique
Béatrice DEMORE	Pharmacie clinique
Joël DUCOURNEAU	Biophysique, Audioprothèse, Acoustique
Florence DUMARCAY	Chimie thérapeutique
François DUPUIS	Pharmacologie

Raphaël DUVAL.....	Microbiologie clinique
Béatrice FAIVRE.....	Hématologie
Adel FAIZ.....	Biophysique-acoustique
Luc FERRARI.....	Toxicologie
Stéphane GIBAUD.....	Pharmacie clinique
Françoise HINZELIN.....	Mycologie, Botanique
Thierry HUMBERT.....	Chimie organique
Frédéric JORAND.....	Santé et Environnement
Francine KEDZIEREWICZ.....	Pharmacie galénique
Alexandrine LAMBERT.....	Informatique, Biostatistiques
Brigitte LEININGER-MULLER.....	Biochimie
Faten MEHRI-SOUSSI.....	Hématologie biologique
Christophe MERLIN.....	Microbiologie environnementale et moléculaire
Blandine MOREAU.....	Pharmacognosie
Maxime MOURER.....	Pharmacochimie supramoléculaire
Dominique NOTTER.....	Biologie cellulaire
Francine PAULUS.....	Informatique
Christine PERDICAKIS.....	Chimie organique
Caroline PERRIN-SARRADO.....	Pharmacologie
Virginie PICHON.....	Biophysique
Anne SAPIN.....	Pharmacie galénique
Marie-Paule SAUDER.....	Mycologie, Botanique
Nathalie THILLY.....	Santé publique
Gabriel TROCKLE.....	Pharmacologie
Noëlle VAULTIER.....	Biodiversité végétale et fongique
Mohamed ZAIYOU.....	Biochimie et Biologie moléculaire
Colette ZINUTTI.....	Pharmacie galénique

PROFESSEUR ASSOCIE

Anne MAHEUT-BOSSER.....	Sémiologie
-------------------------	------------

PROFESSEUR AGREGÉ

Christophe COCHAUD.....	Anglais
-------------------------	---------

ASSISTANT

Annie PAVIS.....	Bactériologie
------------------	---------------

SERVICE COMMUN DE DOCUMENTATION DE L'UNIVERSITE (SCD)

Anne-Pascale PARRET.....	Directeur
Jeannine GOLEC.....	Responsable de la section Pharmacie- Odontologie

SERMENT DES APOTHICAIRES



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

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

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

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

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

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



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

REMERCIEMENTS

Aux membres du jury :

Je remercie **Monsieur le Professeur Jeffrey Atkinson** d'avoir accepté de juger ce travail et de m'avoir fait l'honneur de présider ce jury de thèse. Je vous remercie aussi pour m'avoir accueilli au sein de votre laboratoire. Je vous suis reconnaissant et vous exprime mon plus profond respect.

Je remercie **Madame le Professeur Isabelle Lartaud** pour avoir encadré mon travail de thèse. Vous m'avez fait confiance et vous avez toujours été disponible pour me conseiller. Je suis heureux de pouvoir continuer à travailler avec vous encore quelques années.

Je remercie **Monsieur le Docteur Alain Rupin** pour avoir accepté de juger ce travail. Vous m'aviez bien accueilli et conseillé à Suresnes. Votre avis m'est important et je suis content que vous fassiez partie de ce jury.

Je remercie **Monsieur le Professeur Simon Thornton** pour avoir accepté de juger ce travail.

Je tiens à remercier **Madame le Professeur Christine Capdeville-Atkinson**, pour l'intérêt qu'elle a porté à mon travail et pour les conseils qu'elle m'a donnés durant mon master.

Je tiens à remercier **Monsieur le Docteur François Dupuis**, pour sa disponibilité, son aide et ses conseils au quotidien : merci beaucoup François.

Je tiens également à exprimer ma reconnaissance et ma sympathie aux personnes suivantes :

Caroline Perrin-Sarrado,

Philippe Giummelly,

Martine Grasset,

Patrick Liminana,

Jean-Martin Vincent,

ainsi qu'à Dominique, Julie et Anja, étudiants que j'ai côtoyés au sein du laboratoire durant mon année de Master Recherche.

Un grand merci aux enseignants et responsables de la Faculté de Pharmacie qui, à un moment ou à un autre de mon cursus universitaire et/ou associatif, m'ont soutenu et pour qui j'ai un profond respect :

Madame Le Doyen Chantal Finance, Madame Le Vice-Doyen Francine Paulus, Monsieur le Professeur Philippe Maincent, Monsieur le Professeur Jean-Michel Simon, Monsieur le Professeur Jean-Bernard Regnouf de Vains, Madame Francine Kedzierewicz.

A l'Association Amicale des Etudiants en Pharmacie de Nancy – Filière Industrie.

A Hélène,

ma fiancée, ma future femme, que j'aime plus que tout au monde. Tu as su être là pour moi, et ce, depuis plus de 3 ans. Tu m'as transformé en m'insufflant de la confiance : sans toi je n'étais rien.

A mes parents,

vous voyez j'y suis arrivé! Merci pour votre soutien. J'espère que vous êtes fiers de ce que je suis devenu. J'essaierai de ne jamais vous décevoir. Merci pour votre amour.

A mes beaux-parents,

qui m'ont tout de suite accepté, aimé et soutenu... J'ai de la chance de vous avoir comme belle-famille.

A mes amis de la fac pour m'avoir soutenu ces 6 années durant et qui ont fait de ces années sur les bancs de la fac des années merveilleuses :

Bastien, Arnaud, Thibaut, Aude, Amandine, Nadine, Carole, Jean-Baptiste, Xavier, ...

SOMMAIRE

SOMMAIRE.....	1
LISTE DES FIGURES	3
LISTE DES TABLEAUX	5
LISTE DES ABBREVIATIONS	6
INTRODUCTION GENERALE.....	9
PARTIE 1 : INTRODUCTION BIBLIOGRAPHIQUE	11
I – LE SYSTEME RENINE ANGIOTENSINE ALDOSTERONE.....	12
I 1) GENERALITES	13
I 2) SYSTEMES RENINE ANGIOTENSINE ALDOSTERONE TISSULAIRES	19
I 3) SYSTEME RENINE ANGIOTENSINE ALDOSTERONE VASCULAIRE	22
I 31) Système rénine angiotensine aldostérone vasculaire	22
I 32) Système rénine angiotensine aldostérone cérébrovasculaire	23
II – LA CIRCULATION CEREBRALE	24
III – ISCHEMIE CEREBRALE ET SRAA CEREBROVASCULAIRE	28
III 1) SRAA CEREBROVASCULAIRE ET AUTOREGULATION DU DEBIT SANGUIN CEREBRAL.....	28
III 2) ROLE DU SRAA CEREBROVASCULAIRE AU COURS DE L'ISCHEMIE CEREBRALE	30
III 3) RECEPTEURS AT ₂ ET CEREBROPROTECTION.....	31
IV – LE SEL.....	34
IV 1) CONSEQUENCES CARDIO-VASCULAIRES LIEES AU SEL.....	35
IV 11) Sel et hypertension artérielle	35
IV 12) Sel et hypertrophie ventriculaire gauche	37
IV 13) Sel et paroi vasculaire	40
IV 2) SEL, FACTEUR DE RISQUES POUR LA SURVENUE D'ACCIDENTS VASCULAIRES CEREBRAUX	43
IV 3) SEL ET SRAA CEREBROVASCULAIRE : REGULATIONS DES RECEPTEURS A L'ANGIOTENSINE	43
V- OBJECTIFS.....	46

PARTIE 2 : TRAVAUX EXPERIMENTAUX	47
I - MATERIEL ET METHODES	48
I 1) ANIMAUX ET TRAITEMENTS	48
I 11) Animaux	48
I 12) Traitements	49
I 2) MESURES DE LA DIURESE, DE LA CONSOMMATION ALIMENTAIRE ET HYDRIQUE, DU POIDS CORPOREL ET DETERMINATION DE LA BALANCE SODEE.....	50
I 3) MESURES DES PARAMETRES HEMODYNAMIQUES ET DE LA REACTIVITE DES ARTERIOLES CEREBRALES CHEZ LE RAT ANESTHESIE	52
I 31) Anesthésie et chirurgie.....	52
I 32) Réalisation de la fenêtre crânienne pour la mesure du diamètre interne des artérioles cérébrales.....	53
I 33) Protocole d'étude de la réactivité cérébro-artériolaire	54
I 34) Prélèvement et euthanasie	55
I 35) Substances utilisées	56
I 4) DOSAGE DU Na^+, DU K^+, DU Ca^{2+}, DU Cl^-, DE LA CREATININE, DE L'UREE ET DE L'ALDOSTERONE.....	57
I 5) EXPRESSION DES RESULTATS ET ANALYSES STATISTIQUES	57
II - RESULTATS.....	59
II 1) VASOREACTIVITE DES ARTERIOLES CEREBRALES DES RATS DE LA SERIE « MISE AU POINT »	59
II 2) EFFETS DES REGIMES VARIES EN SODIUM SUR L'EVOLUTION DU POIDS CORPOREL, DES CONSOMMATIONS HYDRIQUE ET ALIMENTAIRE ET SUR LA BALANCE SODEE	61
II 21) Evolution du poids corporel et des consommations alimentaire et hydrique au cours des 30 jours de régimes.....	61
II 22) Evolution du Na^+ ingéré, de la diurèse, de la concentration urinaire de Na^+ et du Na^+ excrété au cours des 30 jours de régimes.	63
II 23) Evolution de la balance sodée au cours des 30 jours de régime	64
II 3) EFFETS DES REGIMES VARIES EN SODIUM SUR LES PARAMETRES HEMODYNAMIQUES ET LA REACTIVITE DES ARTERIOLES CEREBRALES.....	66
III - DISCUSSION	72
III 1) MODELE DE MODIFICATION DE LA BALANCE SODEE	73
III 2) REACTIVITE CEREYRO-ARTERIOLAIRE EN REPONSE AUX MODIFICATIONS DE LA BALANCE SODEE	76
III 3) PORTEE PHYSIOPATHOLOGIQUE DE L'ETUDE	80
IV - CONCLUSION ET PERSPECTIVES	82
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	83
ANNEXE	104

LISTE DES FIGURES

<u>Figure 1</u> :	Les différentes voies de synthèse et de dégradation de l'angiotensine II.	p. 14
<u>Figure 2</u> :	Actions médiées par les récepteurs AT ₁ et AT ₂ à l'angiotensine II.	p. 17
<u>Figure 3</u> :	Représentation schématique du polygone de Willis et des différentes artères afférentes et efférentes à ce polygone.	p. 25
<u>Figure 4</u> :	Représentation de la courbe d'autorégulation du débit sanguin cérébral et de l'évolution du diamètre des artères cérébrales chez un individu jeune normotendu.	p. 26
<u>Figure 5</u> :	Relation entre l'excrétion sodée et le niveau de PA systolique chez l'Homme.	p. 35
<u>Figure 6</u> :	Effet de la diminution de l'apport sodé et d'une alimentation riche en végétaux (régime DASH = Dietary Approaches To Stop Hypertension) sur le niveau de pression artérielle systolique (A) et diastolique (B) chez l'Homme.	p. 36
<u>Figure 7</u> :	Hypothèses envisagées pour expliquer la croissance cellulaire provoquée par une augmentation de l'apport sodé, indépendamment de tout effet sur la pression artérielle.	p. 38
<u>Figure 8</u> :	Développement des hypothèses de travail.	p. 45
<u>Figure 9</u> :	Schéma représentant une cage métabolique et ses différents constituants.	p. 51
<u>Figure 10</u> :	Schéma de la fenêtre crânienne, avec la circulation de liquide céphalo-rachidien artificiel, le microscope et le système d'acquisition et aperçu d'une artériole cérébrale.	p. 55
<u>Figure 11</u> :	Protocole de perfusion des substances dans la fenêtre crânienne pour l'étude de la vasoréactivité cérébro-artériolaire.	p. 56
<u>Figure 12</u> :	Courbes concentration-réponse vasoconstrictrice et vasodilatatrice à l'angiotensine II (respectivement en absence et en présence de losartan, 10 ⁻⁵ M) chez des rats mâles adultes Wistar contrôles.	p. 60
<u>Figure 13</u> :	Poids corporel, consommation alimentaire et hydrique de rats Wistar au cours des 30 jours d'un régime alimentaire et hydrique normal ou modifié en Na ⁺ .	p. 62

- Figure 14 : Taux de Na^+ ingéré, diurèse, concentration urinaire de Na^+ et taux de Na^+ excrété de rats Wistar au cours des 30 jours d'un régime alimentaire et hydrique normal ou modifié en Na^+ . p. 64
- Figure 15 : Balance sodée, exprimée en différence par rapport au groupe NSD du même jour de rats Wistar au cours des 30 jours d'un régime alimentaire et hydrique normal ou modifié en Na^+ . p. 65
- Figure 16 : Vasoconstriction et vasodilatation des artérioles cérébrales, respectivement à la phényléphrine et au nitroprussiate de sodium, chez des rats Wistar anesthésiés, 4 et 30 jours après un régime alimentaire et hydrique normal ou modifié en Na^+ . p. 68
- Figure 17 : Courbes concentration-réponse vasoconstrictrices et vasodilatatrices à l'angiotensine II (respectivement en absence et en présence de losartan, 10^{-5} M) chez des rats Wistar anesthésiés, 4 et 30 jours après un régime alimentaire et hydrique normal ou modifié en Na^+ . p. 70

LISTE DES TABLEAUX

<u>Tableau 1 :</u>	Etudes cliniques comparant différentes stratégies thérapeutiques sur l'incidence des accidents vasculaires cérébraux.	p. 33
<u>Tableau 2 :</u>	Taille des groupes, descriptif des régimes et traitement au sein de la série « balance sodée » et de la série « réactivité cérébro-artériolaire ».	p. 50
<u>Tableau 3 :</u>	Pression artérielle moyenne, fréquence cardiaque, diamètre interne artériolaire de base, variations de diamètre interne à la phényléphrine et au nitroprussiate de sodium, moyenne de l'effet maximal de l'angiotensine II et moyenne du logarithme de la concentration efficace 50 de l'angiotensine II, déterminés pour chaque rat par le modèle logistique à 4 facteurs, pour les réponses vasoconstrictrices et vasodilatatrices à l'angiotensine II (respectivement en absence et en présence de losartan, 10^{-5} M) chez des rats mâles adultes Wistar contrôles.	p. 60
<u>Tableau 4 :</u>	Pression artérielle moyenne, fréquence cardiaque, pH et gaz du sang, diamètre interne artériolaire de base, ionogramme, concentration plasmatique d'aldostérone, concentration plasmatique de créatinine et d'urée et clairance de la créatinine chez des rats Wistar anesthésiés, 4 et 30 jours après un régime alimentaire et hydrique normal ou modifié en Na^+ .	p. 67
<u>Tableau 5 :</u>	Moyenne de l'effet maximal de l'angiotensine II et moyenne du logarithme de la concentration efficace 50 de l'angiotensine II, déterminés pour chaque rat par le modèle logistique à 4 facteurs, pour les réponses vasoconstrictrices à l'angiotensine II (en absence de losartan) chez des rats Wistar anesthésiés, 4 et 30 jours après un régime alimentaire et hydrique normal ou modifié en Na^+ .	p. 71
<u>Tableau 6 :</u>	Diamètre interne artériolaire de base, pH et gaz du sang, réactivité au nitroprussiate de sodium et à la phényléphrine, effet maximal de la constriction à l'angiotensine II, effet maximal de la dilatation à l'angiotensine II chez des rats mâles adultes Wistar, contrôles dans des travaux précédents réalisés au laboratoire.	p. 77

LISTE DES ABBREVIATIONS

All :	Angiotensine II
ACCESS:	<i>Acute Candesartan Cilxetil Therapy in Stroke Survivors</i>
ANOVA :	<i>ANalysis Of VAriance</i>
AP :	AminoPeptidase
APA :	AminoPeptidase A
APN :	AminoPeptidase N
AVC :	Accident Vasculaire Cérébral
BKCa :	canal potassique calcium dépendant
BSA :	<i>Bovine Serum Albumine</i>
Ca ²⁺ :	Calcium ionisé
CAGE :	<i>Chymostatin-sensitive Angiotensin II Generating Enzyme</i>
Cl ⁻ :	Chlore ionisé
DAG :	Diacylglycérol
DASH :	<i>Dietary Approaches To Stop Hypertension</i>
DI :	Diamètre Interne
DOCA :	<i>DeOxyCorticosterone Acetate</i>
DSC :	Débit Sanguin Cérébral
EC ₅₀ :	concentration efficace 50%
ECA :	Enzyme de Conversion de l'Angiotensine
E _{max} :	Effet maximum
E _{min} :	Effet minimum
FC :	Fréquence Cardiaque
GCs :	Guanylate Cyclase soluble
GMPc :	Guanosine MonoPhosphate cyclique
HSD :	<i>High Salt Diet</i>
HTA :	HyperTension Artérielle
HVG :	Hypertrophie Ventriculaire Gauche
HYVET :	<i>Hypertension in the Very Elderly Trial</i>

IEC :	Inhibiteur de l'Enzyme de Conversion
IP3 :	Inositol Triphosphate
K ⁺ :	Potassium ionisé
LCR :	Liquide Céphalo-Rachidien
LIFE :	<i>Losartan Intervention For Endpoint</i>
LOS :	Losartan
LSD+Furo :	<i>Low Salt Diet + Furosémide</i>
m ± esm :	moyenne ± écart standard à la moyenne
MCA :	<i>Middle Cerebral Artery</i>
μEq :	microEquivalent
mEq :	milliEquivalent
min :	minute
MOSES :	<i>Morbidity and Mortality after Stroke, Eprosartan compared with Nitrendipine for Secondary prevention</i>
MRC :	<i>Medical Research Council</i>
Na ⁺ :	Sodium ionisé
NaCl :	Chlorure de sodium
NCX :	Na ⁺ / Ca ²⁺ Exchanger
NHE :	Na ⁺ /H ⁺ Exchanger
NO :	monoxyde d'azote
NPS :	NitroPrussiate de Sodium
NSD :	<i>Normal Salt Diet</i>
PA :	Pression Artérielle
PATS :	<i>Post-stroke Antihypertensive Treatment Study</i>
PBS :	<i>Phosphate Buffer Saline solution</i>
PGI2 :	Prostacycline
PHE :	Phényléphrine
PKC :	Protéine Kinase C
PLA2 :	PhosphoLipase A2
PLC :	PhosphoLipase C
PROGRESS :	<i>Perindopril Protection Against Recurrent Stroke Study</i>
rt-qPCR :	<i>reverse transcriptase-quantitative Polymerase Chain Reaction</i>

SCOPE : *Study On Cognition and Prognosis in the Elderly*

SHR : *Spontaneously Hypertensive Rat*

SHR-SP : *Spontaneously Hypertensive Rat – Stroke Prone*

SNC : *Système Nerveux Central*

SRAA : *Système Rénine Angiotensine Aldostérone*

tPa : *tissue Plasminogen activator*

VHSD : *Very High Salt Diet*

INTRODUCTION GENERALE

Le sodium Na^+ remplit un rôle physiologique majeur au sein de l'organisme. Cependant il est consommé de façon excessive dans la société actuelle. Ainsi, aujourd'hui, la surconsommation de sel est devenue un débat d'actualité. En effet une consommation excessive de sel peut être considérée comme un facteur de risque pour la survenue d'Accidents Vasculaires Cérébraux (AVC) de façon indirecte et de façon directe. Une consommation excessive de sel entraîne indirectement l'apparition d'une Hypertension Artérielle (HTA) (Perera et Blood, 1947), qui est un facteur de risque d'AVC. Mais également, indépendamment de son action sur la Pression Artérielle (PA), le sel peut augmenter le risque d'AVC (Perry et Beevers, 1992 ; Xie et coll., 1992 ; Sasaki et coll., 1995).

Cependant les mécanismes responsables d'effets délétères au niveau cérébrovasculaire et impliquant le sel demeurent inconnus. Un des mécanismes en cause pourrait passer par le Système Rénine Angiotensine Aldostérone (SRAA) puisque le sodium (Na^+) est un élément de régulation du SRAA (et réciproquement) et puisqu'il existe un SRAA au niveau cérébrovasculaire. Au niveau vasculaire (hors cérébral), il a déjà été montré que le sel pouvait être responsable de modifications d'expressions des récepteurs à l'angiotensine mais également de modifications de la vasoréactivité. Au niveau des artères extra-cérébrales, un régime hypersodé, en diminuant l'Angiotensine II (All), est responsable d'une « up-regulation » des récepteurs AT_1 et d'une augmentation de la vasoconstriction AT_1 -dépendante à l'All. En parallèle, un régime hypersodé induit une « down-regulation » des récepteurs AT_2 et diminue donc la vasodilatation All dépendante. Ces modifications d'expression et de densité des récepteurs AT_1 et AT_2 suite aux changements d'apport en Na^+ dans l'alimentation modulent donc la réactivité des artères et artérioles extra-cérébrales à l'All.

Dans ce travail de thèse nous nous intéresserons à la réactivité cérébrovasculaire à l'All lors de régimes variés en Na^+ .

Dans une première partie bibliographique, nous présenterons, au travers de plusieurs descriptions, le contexte de cette problématique.

Dans un premier chapitre, nous nous attacherons à décrire les SRAA systémique et tissulaires et en particulier vasculaires. Dans un second temps, nous aborderons les caractéristiques anatomiques et fonctionnelles de la circulation cérébrale. Puis, nous nous consacrerons à l'étude d'une situation pathologique de la circulation cérébrale : l'ischémie cérébrale. Nous nous intéresserons en particulier à la place du SRAA cérébrovasculaire dans cette situation pathologique. Ensuite nous étudierons les conséquences cardiovasculaires délétères liées à une surconsommation de Na^+ . Nous en verrons les conséquences au niveau cérébral et nous postulerons des hypothèses de travail quant à la régulation du SRAA cérébrovasculaire et ses conséquences en terme de vasoréactivité face à une surconsommation de Na^+ .

Dans une seconde partie expérimentale, nous présenterons les travaux effectués afin de vérifier nos hypothèses de travail et les résultats obtenus. Et enfin nous discuterons de ces résultats avant de conclure sur cette étude.

PARTIE 1 : INTRODUCTION BIBLIOGRAPHIQUE

I – LE SYSTEME RENINE ANGIOTENSINE ALDOSTERONE

Une des meilleures illustrations du passé aquatique des espèces actuellement terrestres est la forte concentration en sodium du milieu extra-cellulaire. Sa composition est dans l'ensemble assez proche de celle des océans. Des évolutions anatomiques ont été nécessaires pour arriver à cette adaptation (Nishimura, 1978). Notamment au niveau rénal, la *macula densa* est apparue à partir des premiers vertébrés terrestres. Les cellules de la *macula densa*, ayant un rôle d'osmorécepteur, sont responsables de la libération de rénine au niveau juxtaglomérulaire. Elles sont présentes au sein des autres cellules juxtaglomérulaires, qui étaient, elles, déjà présentes chez les poissons. Il apparaît donc, à la vue de ces éléments, que le SRAA a évolué avec l'adaptation à la vie sur Terre. Ainsi à l'origine, le SRAA jouait un rôle unique dans le contrôle de la PA. Puis, avec l'adaptation au monde terrestre, le SRAA a joué un rôle important dans le maintien de la concentration sodique extra-cellulaire (Nishimura, 1978).

L'histoire de la découverte du SRAA a débuté en 1898 avec les études de Tigerstedt et Bergman (1898), qui ont montré l'effet presseur d'extraits rénaux : la substance rénale identifiée fut appelée rénine en raison de son origine (Tigerstedt et Bergman, 1898 ; Marks et Maxwell, 1979). Puis grâce à la technique de Goldblatt et coll. (1934) pour produire expérimentalement une hypertension (par constriction bilatérale des artères rénales chez le chien), deux équipes de chercheurs indépendantes (*the Medical School of the University of Buenos Aires* et *the Eli-Lilly Laboratories in Indianapolis*) ont découvert le polypeptide actif, produit de la rénine : il fut appelé « *hypertensin* » en Argentine et « *angiotonin* » aux Etats-Unis (Braun-Menendez et coll., 1940 ; Page et Helmer, 1940). Et c'est en 1958 que les représentants de ces équipes de recherche (Eduardo Braun Menéndez d'Argentine et Irving Page des Etats-Unis) se mirent d'accord pour appeler ensemble ce peptide « *angiotensin* ». C'est ainsi que commença l'exploration du SRAA.

1) GENERALITES

Par son implication dans la régulation de la PA, le SRAA a un rôle important dans la physiologie du système cardiovasculaire puisque son hyperactivité peut conduire notamment au développement d'une HTA (Taquini et Taquini, 1961). Le SRAA est un système hormonal qui suit une cascade de régulation enzymatique aboutissant à la formation de peptides dont le principal est l'Angiotensine II (Ang II). La place prépondérante du SRAA est située dans le rein où il sert à préserver l'homéostasie hydrosodée. Le point de départ du métabolisme du SRAA est l'angiotensinogène, un tétradécapeptide principalement produit et sécrété par le foie (Weigand et coll., 1977). L'activation du SRAA débute avec la libération de rénine principalement synthétisée au niveau du rein sous la forme d'une prépro-rénine de 406 acides aminés. Ce précurseur subit une maturation en pro-rénine dans l'appareil de Golgi puis la pro-rénine (ou rénine inactive) subit alors une deuxième phase de maturation dans les granules de sécrétion avant d'être libérée dans la circulation sous forme de rénine active.

Plusieurs stimuli peuvent être à l'origine de la libération de rénine : une diminution de la pression de perfusion glomérulaire, une diminution de la concentration urinaire en sodium au niveau de la macula densa, une diminution de la sécrétion d'Ang II (rétrocontrôle négatif) et une activation sympathique rénale. La rénine, libérée dans la circulation, catalyse la dégradation de l'angiotensinogène (Skeggs L. T. et coll., 1957). Cette hydrolyse donne naissance à l'angiotensine I, peptide de 10 acides aminés. Lors de son passage dans la circulation pulmonaire, l'angiotensine I plasmatique subit l'action de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA), localisée à la surface de l'endothélium vasculaire et particulièrement abondante au niveau des poumons (Skeggs L. T. et coll., 1967 ; Touyz et Schiffrin, 2000). L'ECA prend en charge l'angiotensine I pour la transformer en Ang II en lui ôtant deux acides aminés du côté N-terminal (Figure 1) (Weir et Dzau, 1999).

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

(«Chymotrypsin-like serine protease»), de la cathepsine G ou d'autres carboxypeptidases (Figure 1) (Weir et Dzau, 1999 ; Touyz et Schiffrin, 2000).

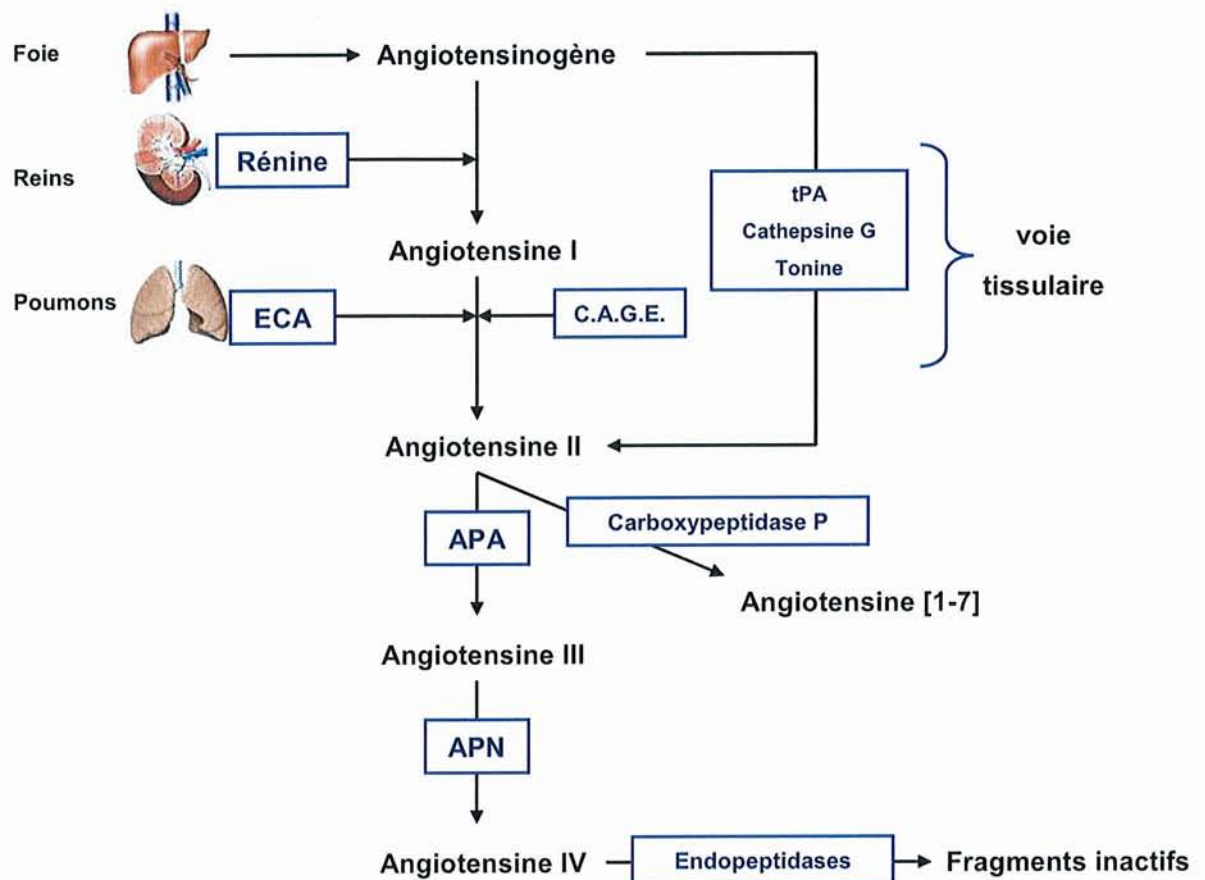


Figure 1 : Les différentes voies de synthèse et de dégradation de l'angiotensine II (AII). ECA : enzyme de conversion de l'angiotensine ; tPA : activateur tissulaire du plasminogène ; C.A.G.E. : « Chymostatin-sensitive Angiotensin II Generating Enzyme » : enzyme de génération de l'AII sensible à la chymostatine ; APA : aminopeptidase A ; APN : aminopeptidase N. D'après Touyz et Schiffrin (2000).

L'AII ainsi produite exerce plusieurs actions qui participent à la régulation de la PA à court comme à long terme. En réponse à une diminution de PA détectée au niveau rénal, l'AII est produite selon le mécanisme détaillé ci-dessus. L'AII exerce alors une action directe et immédiate sur les cellules musculaires lisses de la paroi artérielle et induit une vasoconstriction. Cela a pour conséquence une augmentation des résistances périphériques et donc une augmentation de la PA (Guyton, 1991). Cet effet sur la vasoréactivité contribue à la régulation à court terme de la PA.

La deuxième voie par laquelle l'AII augmente la PA est son action sur la physiologie rénale. L'AII entraîne une diminution de l'excrétion d'eau et de sodium. Ce contrôle de la volémie par l'AII intervient

dans la régulation à long terme de la PA et s'avère plus puissante que l'action vasoconstrictrice pour ramener la PA à des valeurs normales (Guyton, 1991). L'All induit la rétention d'eau et de sodium au niveau rénal par l'augmentation de la sécrétion d'aldostérone, hormone minéralocorticoïde, par la glande corticosurrénale (Weir et Dzau, 1999 ; Touyz et Schiffrin, 2000). La libération d'aldostérone induit la réabsorption rénale du sodium et de l'eau au niveau du tubule distal (Choki et coll., 1977).

A côté de ses effets directs ou indirects sur la physiologie rénale, l'All a un rôle trophique (Lever et coll., 1992). L'étude de Bunkenburg et coll. (1992) a montré, sur des cellules musculaires lisses vasculaires de rat, l'effet à la fois hypertrophique et prolifératif médié par l'action AT_1 dépendante de l'All. En effet, en présence d'un antagoniste des récepteurs AT_1 , l'hypertrophie et la prolifération cellulaire étaient bloquées. Ainsi la liaison de l'All aux récepteurs AT_1 aboutit à long terme à une hypertrophie vasculaire (Griffin et coll., 1991) qui amplifie la vasoconstriction et pérennise l'HTA (Unger, 2002). Des études *in vivo* (Dostal et Baker, 1992) ont par ailleurs montré que l'All peut également induire une hypertrophie au niveau cardiaque toujours *via* l'activation des récepteurs AT_1 .

Les fonctions de l'All passent par sa liaison avec ses récepteurs (Figure 2). Le premier récepteur à l'All a été cloné en 1988 (Jackson et coll., 1988) puis l'année suivante, il a été proposé l'existence de deux types de récepteurs, AT_1 et AT_2 (Chiu et coll., 1989 ; Whitebread et coll., 1989). Ils appartiennent à la superfamille des récepteurs à sept hélices transmembranaires, couplés aux protéines G.

Le récepteur AT_1 est ubiquitaire, avec des localisations préférentielles au niveau des vaisseaux, du cœur, du cerveau et des reins. Il est couplé à une protéine G_q associée à une phospholipase C (PLC). L'All induit par sa fixation au récepteur AT_1 la formation rapide d'inositol-1,4,5-triphosphate (IP3) et de diacylglycérol (DAG) à partir de phospholipides membranaires par un mécanisme dépendant de la PLC (Alexander et coll., 1985 ; Griendling et coll., 1986).

L'élévation transitoire de la concentration en IP3 induite par l'All précède une augmentation du calcium intracellulaire qui est responsable de la contraction des cellules musculaires lisses par phosphorylation de la chaîne légère de la myosine, activée par le complexe Ca^{2+} -calmoduline.

Le DAG produit par la PLC, de même que le calcium, permettent l'activation de la PKC. La PKC cytosolique, une fois activée, assure la phosphorylation de protéines spécifiques impliquées notamment

dans la contraction ou la croissance des cellules musculaires lisses vasculaires (Rasmussen et coll., 1987).

Un grand nombre d'effets de l'Angiotensine II (Ang II) sont médiés par le récepteur AT_1 (Figure 2) :

- sécrétion d'aldostérone,
- vasoconstriction,
- hypertrophie, prolifération cellulaire,
- réabsorption rénale du sodium,
- augmentation de la libération de vasopressine,
- modulation de l'activité du système nerveux sympathique central et autonome.

Après leur découverte et leur caractérisation moléculaire, le rôle des récepteurs AT_2 est resté longtemps énigmatique. Comme ils sont fortement exprimés chez le fœtus, il a été supposé qu'ils étaient impliqués dans le développement embryonnaire et qu'ils contrôlaient la différenciation cellulaire. Il a ensuite été admis la possibilité d'une balance fonctionnelle, tout au long de la vie, entre la stimulation des récepteurs AT_1 et AT_2 par l'Ang II (Figure 2).

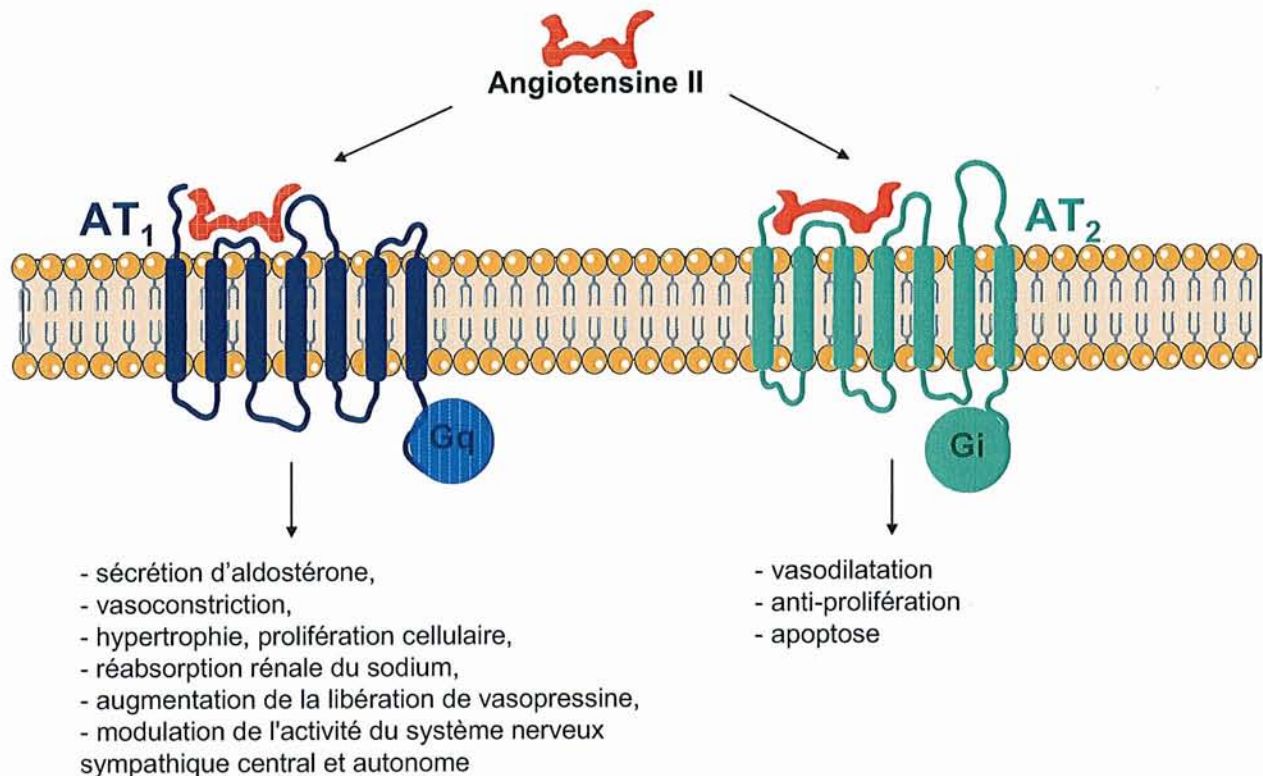


Figure 2 : Actions médiées par les récepteurs AT₁ et AT₂ à l'angiotensine II.

Chez l'adulte, ils ne sont prépondérants qu'au niveau de certains organes comme les glandes surrénales, certaines aires du cerveau, les ovaires ou l'utérus. Cependant, les récepteurs AT₂ sont également exprimés à un taux faible mais fonctionnel, dans d'autres tissus, notamment les reins, les vaisseaux et le cœur (Widdop et coll., 2003). Les protéines G associées aux récepteurs AT₂ sont des protéines Gi (Zhang et Pratt, 1996).

Les récepteurs AT₂ provoquent l'activation de diverses protéines à activité tyrosine phosphatase (Bottari et coll., 1992) qui sont responsables de la déphosphorylation et donc de l'inactivation des résidus tyrosyls de différentes protéines (Widdop et coll., 2003). Ce mécanisme permettrait l'inactivation de la fonction de croissance-prolifération activée par les récepteurs AT₁. De même la stimulation des récepteurs AT₂ inhiberait la phosphorylation de Bcl-2, ce qui contribuerait à produire un effet pro-apoptotique (Horiuchi et coll., 1997).

Par ailleurs, plusieurs études ont montré que les récepteurs AT₂ sont susceptibles d'accroître la concentration intracellulaire en guanosine monophosphate cyclique (GMPc) dans les cellules musculaires lisses, par un mécanisme impliquant la libération de NO au niveau endothélial (Wiemer et coll., 1993 ; Gohlke et coll., 1998 ; Pueyo et coll., 1998). Cette augmentation du GMPc participerait à la vasodilatation induite par les récepteurs AT₂ (Widdop et coll., 2003).

Une autre étude a pu montrer que la vasodilatation induite par stimulation des récepteurs AT₂ peut également être liée à l'activation des canaux potassiques calcium-dépendant dans les petits vaisseaux de résistance (Dimitropoulou et coll., 2001).

Enfin, des études réalisées sur des cardiomyocytes ont permis de montrer que les récepteurs AT₂ induisent la libération d'acide arachidonique et de prostacycline, probablement par activation de la phospholipase A2 (PLA2) (de Gasparo et coll., 2000).

Ainsi la stimulation des récepteurs AT₂ s'oppose aux actions induites par les récepteurs AT₁ car ils activent d'autres voies de signalisation que celles activées par les récepteurs AT₁. Les récepteurs AT₂ provoquent une vasodilatation et exercent des actions anti-prolifératives et proapoptotiques (Horiuchi et coll., 1999) (Figure 2).

Le métabolisme des angiotensines est assuré par les aminopeptidases (AP) : l'aminopeptidase A (APA) clive l'acide aspartique situé à l'extrémité N-terminale de l'Angiotensine I (Ang I) pour former l'angiotensine III. L'aminopeptidase N (APN), elle, clive le résidu arginine N-terminal de l'angiotensine III pour la transformer en angiotensine IV. L'angiotensine IV est ensuite dégradée en fragments inactifs par l'action d'endopeptidases. D'autre part l'Ang I peut également être métabolisée en angiotensine [1-7] par le biais d'un carboxypeptidase (Figure 1).

L'angiotensine III possède la plupart des propriétés de l'Ang I et partage les mêmes récepteurs AT₁ et AT₂ mais son activité biologique est moindre (10% de celle de l'Ang I). Ce peptide est particulièrement important au niveau cérébral pour le contrôle de la PA car il joue un rôle majeur dans la sécrétion de vasopressine. Ainsi plusieurs équipes travaillent sur des inhibiteurs d'APA puisque l'APA semble être une cible candidate pour le traitement de l'HTA (Fournie-Zaluski et coll., 2004). Quant à l'angiotensine IV, elle jouerait un rôle dans cinq domaines spécifiques, parfois sans rapport direct avec le système

cardiovasculaire : la croissance cellulaire, les fonctions cognitives, la thrombolyse, le transport du sodium dans le rein et la perfusion des tissus. L'angiotensine [1-7], qui possède un récepteur spécifique, intervient dans le contrôle de la balance hydroélectrolytique en augmentant le taux de filtration glomérulaire, le débit urinaire et l'excrétion urinaire de sodium.

2) SYSTEMES RENINE ANGIOTENSINE ALDOSTERONE TISSULAIRES

Des investigations débutées tout d'abord au niveau du rein puis rapidement étendues à d'autres organes comme le cerveau, les surrénales, l'hypophyse ou le cœur ont montré que le SRAA ne serait pas un système unique. Il résulterait plutôt de l'association d'un SRAA circulant et d'un ensemble de plusieurs SRAA tissulaires indépendants possédant chacun leurs propres régulation, expression tissulaire et effets physiologiques (Bader et coll., 2001).

Ekker et coll. (1989) ont recherché la transcription du gène de la rénine dans de nombreux tissus extra-rénaux chez le rat et la souris. En plus des glandes surrénales, des testicules et des ovaires, des transcrits de la rénine ont été détectés dans le foie, le cerveau, l'hypothalamus et, à des niveaux plus faibles, dans la rate, le thymus, les poumons et la prostate.

Chez la femme, les ovaires sont la source principale de prorénine plasmatique (Glorioso et coll., 1986). L'ECA est abondante dans les ovaires de rat (Cushman et Cheung, 1971) et de l'All a été détecté au niveau des fluides folliculaires chez la femme (Culler et coll., 1986).

Rénine, ACE, angiotensine I, All et angiotensine III ont été détectés par plusieurs techniques au sein de cellules de Leydig purifiées issues de rats (Pandey et coll., 1984). Chez l'Homme, Naruse et coll. (1985) ont mis en évidence par immunohistologie la présence de rénine sur des cellules de Leydig. La concentration d'ECA dans les testicules du rat est la plus élevée de tous les organes (Cushman et Cheung, 1971). Et Aguilera et coll. (1989) ont démontré l'existence de récepteurs à l'All dans les testicules de rat.

L'expression ou non de la rénine au niveau cardiaque a été débattue au travers de nombreuses études aux conclusions divergentes comme le décrit Paul et coll (2006) dans sa revue. En fait une isoforme tronquée de la rénine a été détectée au niveau du cœur de rats (Clausmeyer et coll., 2000), ce

qui explique probablement la controverse qu'il y eut sur le sujet. L'existence d'une ECA cardiaque n'a, à l'inverse de la rénine, causé aucune controverse puisque l'ARNm de l'ECA a été détecté par de nombreux auteurs chez le rat (Schunkert et coll., 1990 ; Hirsch et coll., 1991 ; Kreutz et coll., 1995) et chez l'Homme (Paul et coll., 1993). Par ailleurs, différentes angiotensines ont été détectées dans le cœur (Lindpaintner et coll., 1988 ; Danser et coll., 1994), à des concentrations plus élevées que dans le plasma. Pour finir, à la fois les récepteurs AT₁ et les récepteurs AT₂ sont exprimés dans le cœur, au niveau des cardiomyocytes (Booz et Baker, 1996 ; Bader et coll., 2001).

L'AII cardiaque a un effet inotrope positif (augmentation de la contractilité cardiaque) *via* la stimulation du système sympathique et la libération de noradrénaline (Koch-Weser, 1964) mais aurait également un effet inotrope positif direct puisque sur des préparations myocardiques humaines, cet effet n'est pas influencé par un pré-traitement avec un alpha- et un bêta-bloquant alors qu'il est bloqué par un antagoniste de l'AII (Holubarsch et coll., 1993). L'AII agirait également sur l'hypertrophie et le remodelage cardiaque (Schelling et coll., 1991 ; van Kesteren et coll., 1997) et serait impliquée dans des phénomènes fibrotiques (Sun et coll., 1997) et apoptotiques (Cigola et coll., 1997).

Parmi les différents SRAA locaux, le SRAA cérébral est atypique de par la présence de la barrière hémato-encéphalique. Le concept de l'existence d'un SRAA cérébral est né au début des années 70 grâce aux travaux de Ganten et coll. (1971a ; 1971b) montrant que l'AII pouvait être produite dans le cerveau lui-même et avoir un rôle dans le développement de l'hypertension. Cependant, comme le soulignait récemment Ganten (2002), la possibilité d'une synthèse intrinsèque d'AII dans le cerveau a été longtemps réfutée. L'hypothèse d'un SRAA cérébral était pourtant probable puisque la barrière hémato-encéphalique est imperméable aux peptides et aux protéines. Au début, de nombreux auteurs ont démontré la présence d'une interaction entre l'AII et le système nerveux autonome (Ferrario et coll., 1970). Ces données ont mené à l'identification des composants du SRAA dans le cerveau. L'existence et les preuves fonctionnelles d'un SRAA cérébral ont maintenant été établies (Phillips et coll., 1979 ; Saavedra, 1992 ; Wright et Harding, 1995 ; Sakai et Sigmund, 2005) :

L'angiotensinogène a été largement retrouvé dans le cerveau, supportant le fait qu'il est synthétisé au niveau du système nerveux central (SNC) (Thomas et Sernia, 1988). Il a été montré que ce sont principalement les astrocytes qui expriment l'angiotensinogène (Milsted et coll., 1990 ; Humpel et coll., 1994).

Des mesures d'activité (Husain et coll., 1981) ou immunohistochimiques (Inagami, 1982) ont suggéré une localisation intraneuronale de la rénine, indiquant un mécanisme intracellulaire de la formation d'angiotensines dans les neurones. A côté de ces populations de neurones localisés en différentes régions du SNC, il a été montré que certaines populations d'astrocytes pouvaient aussi exprimer la rénine (Morimoto et coll., 2002a).

L'ECA est exprimée dans le cerveau (Whiting et coll., 1991). Historiquement il avait été montré que l'activité spécifique de l'ECA existait dans plusieurs régions du cerveau (Chevillard et Saavedra, 1982).

Et par ailleurs, des neurones contenant de l'angiotensine (angiotensinogène, angiotensine I et II) ont été identifiés par immunohistochimie dans différentes régions cérébrales (Healy et Printz, 1984 ; Lind et coll., 1984 ; Pickel et Chan, 1995).

Philips (1987) évoque les rôles fonctionnels du SRAA cérébral et classe les effets principaux de l'All au niveau central en trois groupes. Le premier groupe d'effets est associé à la régulation de la volémie corporelle en réponse à l'hypovolémie : cela inclut l'activation de la sensation de soif, le contrôle central de la PA, la libération de vasopressine (hormone anti-diurétique), la stimulation de l'appétit sodé, le contrôle de l'excrétion sodée et la libération d'Adreno CorticoTropic Hormone (ACTH). Cette fonction pourrait avoir un rôle important dans le contrôle de la PA et le développement de l'HTA (Morimoto et coll., 2002a). En effet, une suractivité du SRAA cérébral semble impliquée dans le développement de l'HTA, comme dans plusieurs modèles d'hypertension expérimentale et génétique tels que les rats spontanément hypertendus (SHR) ou les souris transgéniques exprimant des transgènes humains de la rénine (Davisson et coll., 1998).

Une autre fonction possible pour l'All cérébrale serait d'être impliquée dans l'activité hormonale pendant le cycle reproducteur et la grossesse. Un troisième groupe de fonctions est l'interaction de l'All au niveau synaptique avec des catécholamines, la sérotonine, des prostaglandines et d'autres peptides... Cette interaction pourrait avoir un rôle dans diverses fonctions cérébrales telles que la soif, la douleur, la mémoire, l'apprentissage, le stress (Baltatu et Bader, 2003) et l'appétit pour le sel (Morimoto et coll., 2002b). Par ailleurs, le SRAA cérébral pourrait également jouer un rôle dans le contrôle de la croissance et de la mort cellulaire (Kakinuma et coll., 1997).

3) SYSTEME RENINE ANGIOTENSINE ALDOSTERONE VASCULAIRE

31) Système rénine angiotensine aldostérone vasculaire

De nombreux éléments du SRAA sont exprimés localement au niveau de la paroi artérielle. Ainsi, l'ECA est retrouvée en forte concentration au niveau de l'adventice des vaisseaux mais également dans des cellules musculaires lisses ou endothéliales (Dzau, 1989 ; Ekker et coll., 1989). De même, l'ARN codant pour l'angiotensinogène ainsi que la protéine elle-même ont été mis en évidence dans les cellules musculaires lisses et endothéliales (Naftilan et coll., 1991 ; Morgan et coll., 1996). Par ailleurs une production de rénine au niveau de la paroi artérielle existe (Swales et Samani, 1989) : une activité enzymatique semblable à celle de la rénine a effectivement été démontrée au niveau de la paroi artérielle. Il s'agit des voies annexes (précédemment citées) : le système « renin-like », le système « CAGE »,

En ce qui concerne l'aldostérone, il existe, en dehors de sa synthèse par la glande surrénale, une voie de production tissulaire. Au niveau vasculaire, les cellules endothéliales et les cellules musculaires lisses semblent capables de produire de l'aldostérone. En effet, la présence de l'ARNm du gène codant pour l'aldostérone synthase a été mise en évidence dans des cellules musculaires lisses et endothéliales issues d'artères pulmonaires humaines (Hatakeyama et coll., 1994) : l'expression de ce gène est augmentée dans les cellules musculaires lisses en présence d'Ang II (Hatakeyama et coll., 1994). Une production locale d'aldostérone a également été rapportée au niveau des artères mésentériques (Takeda et coll., 1995). Dans cette étude, des artères mésentériques ont été perfusées *ex vivo*, et la présence d'aldostérone a pu être détectée dans le perfusat. Une ablation préalable des glandes surrénales ne modifie pas la quantité d'aldostérone récupérée dans le perfusat, tandis qu'un prétraitement des rats par un Inhibiteur de l'Enzyme de Conversion de l'angiotensine (IEC) la diminue. Ceci confirme que l'aldostérone est produite également au niveau de la paroi artérielle et suggère que l'Ang II régule cette production.

Ces voies de synthèse alternatives et tissulaires d'Ang II et d'aldostérone pourraient revêtir une importance capitale dans les processus de remodelage vasculaire fonctionnel et structural.

32) Système rénine angiotensine aldostérone cérébrovasculaire

L'existence d'un SRAA au niveau cérébrovasculaire a débuté avec la mise en évidence de l'activité de l'ECA au niveau de microvaisseaux cérébraux, suggérant la possibilité d'une synthèse locale d'Angiotensin II (Kobayashi et coll., 1984). Puis en 1985, Speth et coll. (Speth et Harik, 1985) ont évalué la liaison spécifique d'une Angiotensin II radiomarquée sur des fractions de microvaisseaux obtenues après isolement à partir de cerveaux de chiens. Ils ont montré qu'une liaison spécifique avait lieu avec l'Angiotensin II radiomarquée, supposant donc l'existence de récepteurs à l'Angiotensin II au niveau des microvaisseaux cérébraux. Ces résultats ont été confirmés par ceux de Grammas et coll. (1989) qui ont par ailleurs montré également une augmentation du nombre de récepteurs à l'Angiotensin II chez des rats hypertendus SHR comparativement à la réponse obtenue chez des rats normotendus Wistar. Cette constatation laisse supposer qu'une modification de la réactivité à l'Angiotensin II pour cette souche de rats hypertendus doit avoir en partie un rôle dans le développement de l'HTA. Récemment les travaux du groupe de Saavedra ont permis de confirmer l'expression de récepteurs AT_1 et AT_2 au sein des microvaisseaux cérébraux. La localisation des récepteurs semble être endothéliale pour les récepteurs AT_1 mais pas pour les récepteurs AT_2 (Ito et coll., 2001 ; Zhou et coll., 2006).

Sur le plan fonctionnel, les travaux du laboratoire ont effectué une série d'expérimentations au niveau des artérioles cérébrales *via* la technique de la fenêtre crânienne afin d'étudier les effets du SRAA sur la réactivité cérébro-artériolaire. Il a été montré que l'angiotensine I a un effet vasoconstricteur *via* sa conversion en Angiotensin II car en présence d'un IEC, l'angiotensine I n'a plus d'action. L'Angiotensin II vasoconstricte *via* sa liaison aux récepteurs AT_1 . Par contre lorsque ces derniers sont bloqués par un antagoniste des récepteurs AT_1 , il se produit une vasodilatation par le biais de la liaison de l'Angiotensin II avec les récepteurs AT_2 (Vincent et coll., 2005).

II – LA CIRCULATION CEREBRALE

Les besoins constants du cerveau en oxygène et en nutriments, rendent ses cellules particulièrement vulnérables à une diminution des apports sanguins. La circulation cérébrale revêt donc un caractère essentiel dans le bon fonctionnement de cet organe. Toutes les caractéristiques de cette circulation permettent d'assurer la protection du système nerveux central en assurant un apport sanguin constant. L'anatomie de la circulation sanguine cérébrale et l'autorégulation du débit sanguin cérébral (DSC) font partie de ces caractéristiques.

L'étude anatomique de la circulation cérébrale révèle une particularité qui contribue à la protection du cerveau, particulièrement sensible à l'hypoxie. La circulation cérébrale est dite tétrapodique. En effet, l'irrigation du cerveau est assurée par deux paires d'artères : les artères carotides internes droite et gauche, et les artères vertébrales droite et gauche. L'une des particularités anatomiques les plus remarquables de l'apport artériel au niveau du cerveau est le polygone (ou cercle) de Willis (Figure 3). Les deux artères vertébrales se rejoignent pour former l'artère basilaire. Celle-ci s'anastomose avec les deux carotides internes par le biais des artères communicantes postérieures. Le polygone de Willis est complété par l'artère communicante antérieure qui relie les deux carotides internes (Figure 3). Ce système d'anastomose unique permet de maintenir une irrigation complète du cerveau dans certaines conditions (Sokoloff, 1997 ; Edvinsson et Mackenzie, 2002). Ainsi, en cas d'occlusion ou d'obstruction d'une des quatre artères principales, la pression artérielle régnant dans les trois autres se répartit dans le cercle de Willis, ce qui permet une redistribution du sang dans toutes les artères issues de ce polygone. Le polygone de Willis peut donc rééquilibrer les apports artériels et les répartir de façon homogène pour tout le territoire cérébral. Il prévient ainsi les risques d'ischémie cérébrale sévère.

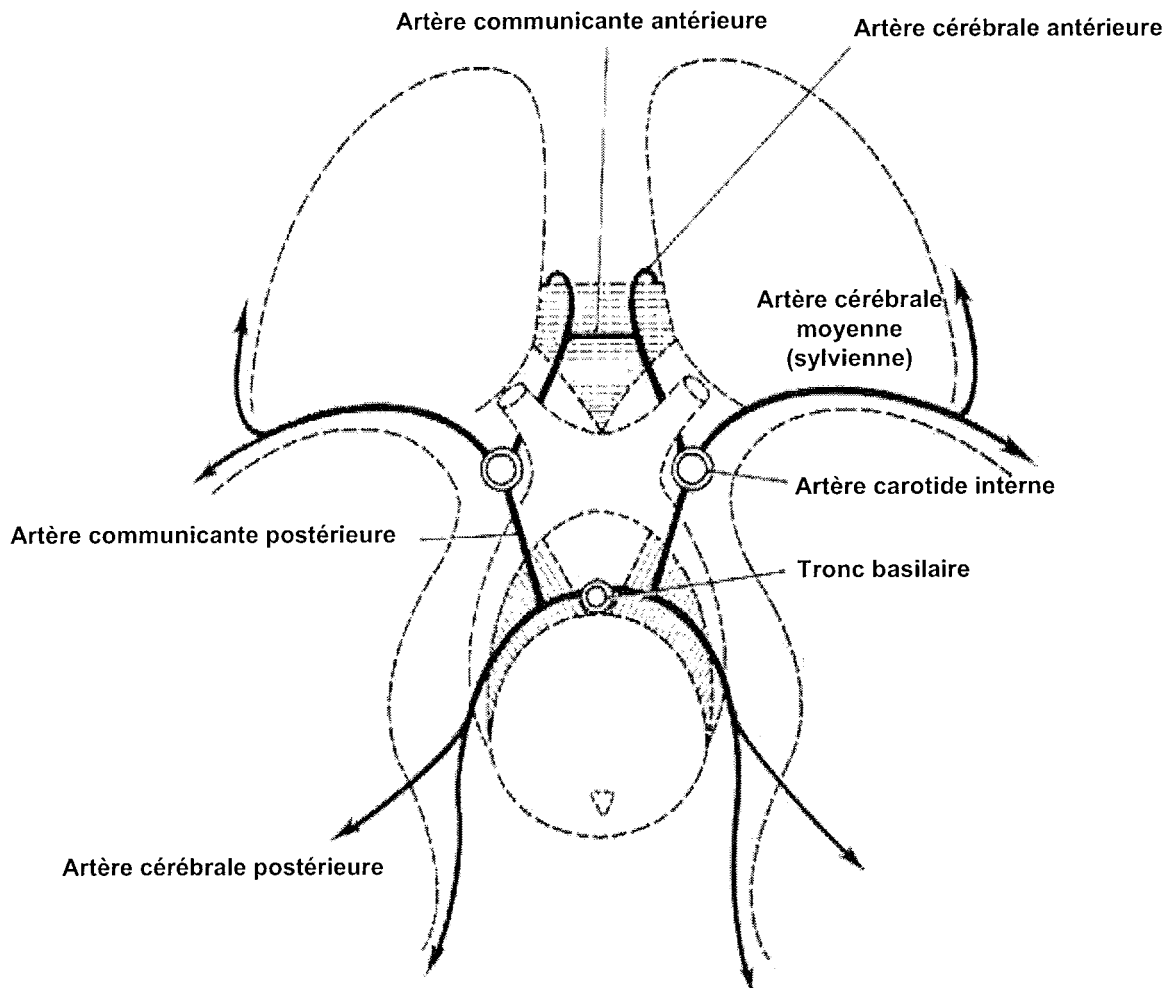


Figure 3 : Représentation schématique du polygone de Willis et des différentes artères afférentes et efférentes à ce polygone (vue basale du cerveau). D'après Sokoloff, 1997.

Par ailleurs, les capillaires cérébraux possèdent une structure particulière qui leur confère une certaine étanchéité permettant d'éviter au Liquide Céphalo-Rachidien (LCR) de subir les fluctuations de composition du sang circulant : c'est la barrière hémato-encéphalique. La composition chimique du LCR reste donc relativement stable, assurant ainsi la protection et le maintien de conditions optimales pour le bon fonctionnement des neurones.

En plus de l'anatomie particulière de ses vaisseaux sanguins, la circulation cérébrale possède une caractéristique fonctionnelle majeure : il s'agit de l'autorégulation du DSC (Fog, 1939) (Figure 4). Celle-ci se définit comme étant la capacité intrinsèque du cerveau à maintenir son débit sanguin relativement constant et ce en dépit de variation aiguë de la pression de perfusion. La pression de perfusion du cerveau correspond à la différence entre la pression artérielle et la pression intracrânienne. Cette dernière correspond à la somme de la pression veineuse et de la pression du LCR qui s'opposent à

l'arrivée du sang dans la boîte crânienne. Dans des conditions physiologiques normales, la pression intracrânienne est négligeable par rapport à la pression artérielle. L'autorégulation du DSC permet d'assurer la constance de l'apport en nutriments et en oxygène, éléments véhiculés par le sang artériel, au niveau des neurones malgré la variabilité tensionnelle.

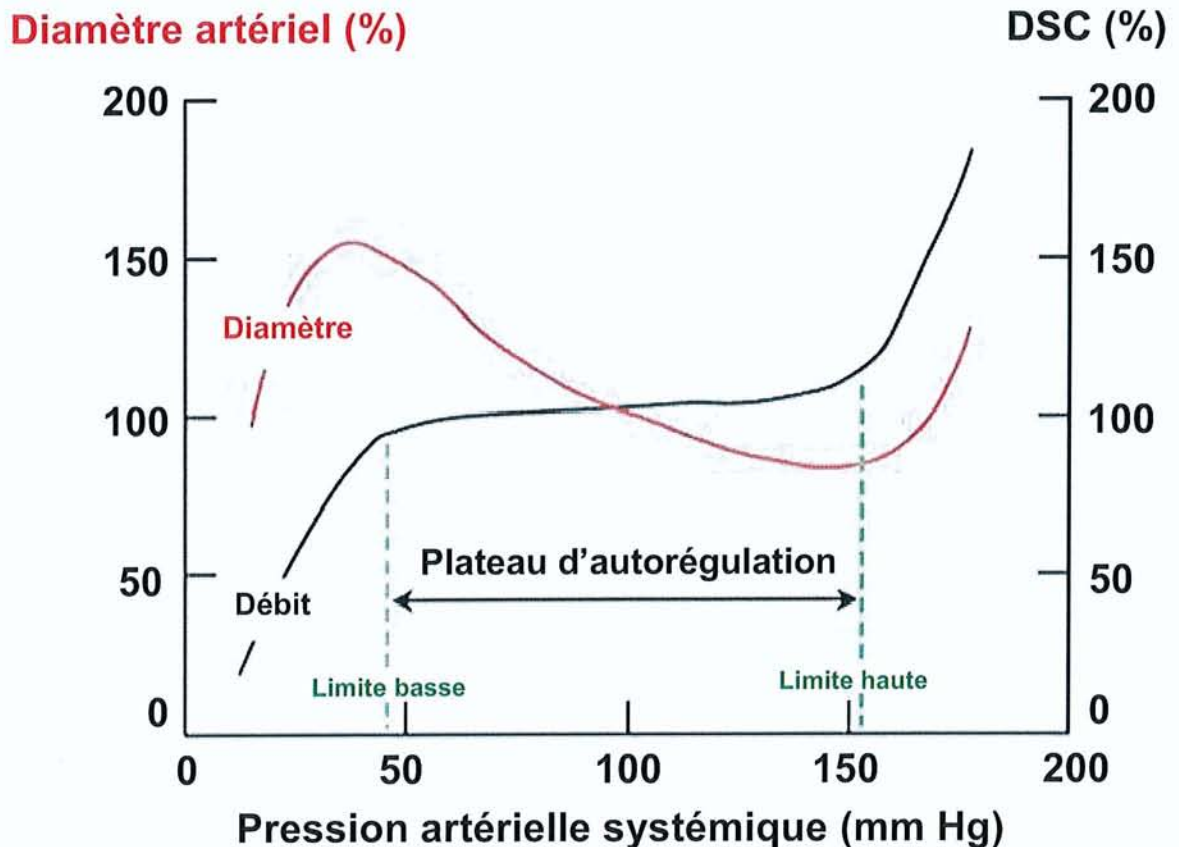


Figure 4 : Représentation de la courbe d'autorégulation du débit sanguin cérébral (courbe noire), et de l'évolution du diamètre des artères cérébrales (courbe rouge) chez un individu jeune normotendu. DSC : débit sanguin cérébral. Les valeurs de débit et de diamètre sont exprimées en pourcentage de la valeur de base. D'après Kontos et coll. (1978).

Un élément important de l'autorégulation est le plateau d'autorégulation. Il est délimité par deux bornes : la limite basse et la limite haute de l'autorégulation du DSC. Entre la limite basse de l'autorégulation du DSC et la valeur de PA, lors d'une hypotension systémique, les artères et artérioles cérébrales se dilatent, ce qui entraîne une diminution des résistances cérébrovasculaires et permet donc au débit de rester stable (Figure 3). Inversement, au cours d'un épisode d'hypertension, ces mêmes vaisseaux se contractent, augmentant la résistance et limitant l'augmentation du DSC (Kontos et coll., 1978).

La limite basse de l'autorégulation du DSC (Figure 3) se définit comme étant la valeur de pression artérielle en dessous de laquelle le DSC diminue avec la pression. Lorsque la pression artérielle systémique devient inférieure à cette limite basse (autour de 60 mm Hg chez l'Homme ou l'animal normotendus) (Paulson et coll., 1990), la chute du DSC entraîne un épisode d'hypoperfusion cérébrale et une augmentation du coefficient d'extraction de l'oxygène (Brierley et coll., 1969). Lorsque l'extraction de l'oxygène devient insuffisante pour satisfaire aux besoins des neurones, la perturbation du métabolisme neuronal entraîne l'apparition des premiers symptômes d'hypoperfusion cérébrale, tels que pâleur ou vertiges pouvant aller jusqu'à une perte de conscience (Brierley et coll., 1969). Si cet épisode d'hypoperfusion reste bref, les effets seront minimes voire réversibles. En revanche, selon la sévérité de l'hypoperfusion, les effets pourront être particulièrement marqués, voire irréversibles en cas de mort neuronale. La valeur de la limite basse de l'autorégulation permet de déterminer un autre paramètre : la «marge de sécurité » de la circulation cérébrale. Cette marge de sécurité se définit comme étant le pourcentage dont peut varier la pression artérielle moyenne sans entraîner de diminution du DSC (Lartaud et coll., 1993). Elle dépend non seulement de la limite basse, mais également de la pression artérielle moyenne de vie de l'individu considéré. Si cette dernière est faible et/ou si la valeur de la limite basse augmente, la marge de sécurité diminue, et inversement. Or, plus la marge de sécurité est faible, plus le risque d'hypoperfusion cérébrale augmente en cas de variation minime de la pression artérielle. Ce paramètre peut donc permettre de déterminer la plus ou moins grande susceptibilité d'un individu à subir des épisodes d'hypoperfusion cérébrale.

Lors de l'HTA, les résistances périphériques sont augmentées (Folkow et coll., 1958) et les résistances cérébrovasculaires subissent donc également cette augmentation. L'augmentation des résistances cérébrovasculaires concomitante à l'élévation de la PA assure le maintien d'un DSC basal identique entre des individus normotendus et hypertendus (Hafkenschiel et coll., 1954 ; Tominaga et coll., 1976) puisque le DSC est le rapport entre PA moyenne et résistances cérébrovasculaires. Cependant, Strandgaard et coll. (1973; 1976) ont pu montrer que la limite basse et la limite haute de l'autorégulation du DSC correspondent à des valeurs de pression supérieures chez des patients hypertendus par rapport à des témoins normotendus. L'augmentation de la limite basse de l'autorégulation du DSC chez les patients hypertendus étant associée à une élévation de la PA moyenne, elle n'entraîne pas de modification de la marge de sécurité cérébrovasculaire.

III – ISCHEMIE CEREBRALE ET SRAA CEREBROVASCULAIRE

Comme on vient de le voir dans le chapitre précédent, la marge de sécurité cérébrovasculaire des patients hypertendus n'est pas diminuée en raison d'une PA moyenne élevée. Cependant, une diminution de la marge de sécurité, et des risques d'hypoperfusion cérébrale pourraient survenir lors de l'administration d'un traitement anti-hypertenseur. En effet, si celui-ci induit une diminution de la PA sans redéplacer la courbe d'autorégulation du DSC vers de plus faibles valeurs de pression, la marge de sécurité serait diminuée proportionnellement à l'effet du traitement sur la PA. Cette réduction de la marge de sécurité augmenterait les risques d'hypoperfusion et d'ischémie cérébrale et pourrait entraîner des dommages cérébraux et l'apparition de troubles cognitifs (Atkinson, 2001).

1) SRAA CEREBROVASCULAIRE ET AUTOREGULATION DU DEBIT SANGUIN CEREBRAL

Dans ce cadre, les médicaments agissant sur le SRAA ont été étudiés afin de connaître leur susceptibilité à modifier la courbe de l'autorégulation du DSC. L'effet d'une dose unique d'un IEC, le captopril (25 – 50 mg), sur l'autorégulation du DSC a été testé chez des patients hypertendus et normotendus (Waldemar et coll., 1989). En dépit d'une réduction moyenne de 18% de la PA moyenne, le captopril n'a pas changé la valeur de base du DSC (Waldemar et coll., 1989). Le captopril administré par voie intraveineuse en aigu est capable de diminuer les limites basse et haute de l'autorégulation du DSC (Barry et coll., 1984). En revanche, lors d'une administration directe au niveau des ventricules cérébraux, le captopril n'a pas d'effet sur l'autorégulation (Jarden et coll., 1984). Ces résultats suggèrent que le SRAA cérébral neuronal n'intervient pas dans le contrôle de l'autorégulation, mais que le SRAA cérébrovasculaire pourrait jouer un rôle important (Jarden et coll., 1984).

Ainsi, il apparaît que l'HTA modifie les capacités d'autorégulation du DSC. Le SRAA cérébrovasculaire semble par ailleurs jouer un rôle important dans la régulation de cette autorégulation et l'utilisation de médicaments bloquant ce système permet de restaurer une autorégulation du DSC en adéquation avec la diminution de la PA qu'ils engendrent. Le mécanisme supposé impliqué est l'inhibition de la synthèse locale d'Ang II, ce qui permettrait la dilatation des grosses artères cérébrales et à l'inverse la

constriction des artérioles cérébrales, autorisant ainsi, en cas d'hypoperfusion, une dilatation plus marquée de la part des artérioles afin de limiter l'ischémie (Paulson et coll., 1990).

Des traitements chroniques par des IEC ont également été étudiés. Les limites basses et hautes de l'autorégulation du DSC sont diminuées par un IEC, permettant ainsi la conservation du DSC malgré la diminution de la PA. L'énalapril administré quotidiennement (10-80 mg) pendant huit jours à des patients hypertendus n'a pas modifié le DSC (Frei et Muller-Brand, 1986). Il en est de même pour un traitement à base de captopril durant sept jours (Minematsu et coll., 1987). Bray et coll. (1991) ont montré qu'un traitement chronique chez le rat hypertendu par du perindopril (8 mg/kg/jour en intra-péritonéal) permettait de restaurer la limite basse de l'autorégulation du DSC et d'augmenter ainsi la marge de sécurité. Par ailleurs, ces auteurs ont remarqué que le traitement chronique par le perindopril diminuait les résistances cérébrovasculaires (32%) chez les rats normotendus. Cette observation sous-entend que, même à une PA normale, une adaptation structurale des vaisseaux cérébraux se produit en présence d'un IEC. Par la suite, Dupuis et coll. (2005a) ont montré que le captopril atténue le remodelage eutrophique et hypertrophique des artérioles cérébrales chez le rat SHR jeune ou âgé, ce qui diminue la limite basse de l'autorégulation du DSC.

Il semble donc que le blocage du SRAA cérébrovasculaire soit cérébroprotecteur puisque le DSC est maintenu avec un IEC malgré la diminution de la PA. Cette hypothèse de cérébroprotection a conduit de nombreuses équipes à s'intéresser au rôle du SRAA cérébrovasculaire dans les conditions d'ischémie cérébrale.

2) ROLE DU SRAA CEREBROVASCULAIRE AU COURS DE L'ISCHEMIE CEREBRALE

Les Accidents Vasculaires Cérébraux (AVC) d'ordre ischémique résultent de la réduction transitoire ou permanente du DSC. A la fois la nécrose et l'apoptose neuronale peuvent être observées après une ischémie cérébrale. Certaines cellules neuronales sont « perdues » immédiatement et définitivement et d'autres cellules sérieusement endommagées par la diminution du DSC. Ces dernières cellules appartiennent à ce que l'on appelle la zone de pénombre, qui est située autour de la zone ischémisée. Elles restent dans un état de survie incertaine pendant plusieurs heures. Les dommages cérébraux peuvent même s'étendre plusieurs jours après l'évènement ischémique. Puisqu'il semble être une cible intéressante pour le maintien de la circulation cérébrale, il paraît intéressant d'étudier le rôle du SRAA cérébrovasculaire dans les situations ischémiques.

Stenman et Edvinsson (2004) se sont attachés à décrire les effets d'une ischémie cérébrale sur l'expression et la fonction des récepteurs cérébrovasculaires à l'Angiotensine II (Ang II). La réponse contractile à l'Ang II est plus forte dans l'artère cérébrale moyenne (MCA) droite après occlusion par rapport à la MCA gauche et par rapport à la MCA de rats contrôles. Le candesartan et le losartan (antagonistes des récepteurs AT_1) abolissent la réponse contractile de l'Ang II alors que le PD123319 (antagoniste des récepteurs AT_2) n'a pas d'effet. Ainsi, une ischémie cérébrale focale chez le rat augmente la réponse contractile à l'Ang II dans la MCA via sa liaison aux récepteurs AT_1 . Cependant la quantité d'ARNm de récepteur AT_1 est plus faible dans la MCA occluse par rapport à la MCA non occluse. Les auteurs suggèrent que les récepteurs AT_1 seraient sous-exprimés en raison d'un rétrocontrôle négatif dû à une forte production d'Ang II. En effet, les quantités d'Ang II sont plus élevées dans les artères après occlusion ce qui laisse supposer une production locale augmentée d'Ang II en raison de l'ischémie.

D'autre part, Makino et coll. (1996) ont montré qu'après une ischémie cérébrale globale chez le rat, une surexpression transitoire des récepteurs AT_2 apparaît au début de la phase de reperfusion. Cette surexpression permettrait peut-être de limiter l'étendue de l'ischémie cérébrale via l'activation de la vasodilatation AT_2 dépendante.

En résumé, il semblerait donc que face à une altération d'ordre ischémique de la circulation cérébrale, le SRAA cérébrovasculaire soit modifié de façon à améliorer la reperfusion des zones ischémisées en favorisant la liaison de l'Ang II aux récepteurs AT_2 . Cependant on peut supposer que la

liaison préférentielle de l'Angiotensin II (Ang II) aux récepteurs AT_1 soit délétère pour le DSC du fait de l'action AT_1 vasoconstrictrice de l'Ang II.

3) RECEPTEURS AT_2 ET CEREBROPROTECTION

L'idée que les sartans pourraient être particulièrement adaptés à la prévention des AVC est attrayante. En effet le blocage des récepteurs AT_1 par les sartans pourrait conférer la même protection cardiaque que l'inhibition de l'ECA et parallèlement augmenter la stimulation des récepteurs AT_2 et donc optimiser la prévention des AVC ou améliorer la reperfusion cérébrale grâce à l'effet vasodilatateur médié par les récepteurs AT_2 .

Avant de se porter sur les sartans, le concept de la cérébroprotection s'est initialement basé sur l'hypothèse de Brown et Brown (1986). En effet, la protection contre les AVC obtenue de manière plus importante avec les diurétiques, qui stimulent la formation d'angiotensine (par diminution de la volémie), a amené Brown et Brown à proposer en 1986 l'hypothèse provocatrice que l'Ang II pourrait protéger contre les AVC. Leur hypothèse a cependant rapidement été oubliée puisque le concept du blocage du SRAA par les IEC devenait une arme thérapeutique de premier ordre dans la prévention cardiovasculaire. Pourtant l'étude du « Medical Research Council » en 1985 avait démontré que les diurétiques étaient plus efficaces que les bêta-bloquants dans la prévention des AVC, et ce indépendamment de leur effet tensionnel. Dans une large méta-analyse incluant 48000 patients, Psaty et coll. (1997) ont trouvé que de fortes doses de diurétiques réduisaient le risque d'AVC de 51% alors que les bêta-bloquants ne réduisaient ce risque que de 29%.

Quant aux sartans, le blocage des récepteurs AT_1 lève le rétrocontrôle négatif de la formation d'Ang II, ce qui stimule donc également la formation d'Ang II. Pour tester l'hypothèse que les médicaments antihypertenseurs qui stimulent la formation d'angiotensine (diurétiques, sartans) sont plus efficaces dans la prévention des AVC que les médicaments qui inhibent la formation d'angiotensine (IEC et bêta-bloquant), il a été réalisé une méta-analyse de 34 essais cliniques prospectifs, randomisés, incluant un total de 204496 patients parmi lesquels un total de 8907 AVC étaient observés (Fournier et coll., 2004). Le risque d'AVC était significativement plus élevé avec les IEC et les bêta-bloquants qu'avec les

diurétiques et les sartans. Fournier et coll. ont donc conclu en suggérant l'hypothèse d'une cérébroprotection médiée par les récepteurs AT₂.

Dans l'étude LIFE (*Losartan Intervention For Endpoint*), chez des patients avec une hypertrophie ventriculaire gauche (HVG), le losartan a réduit le risque d'AVC de façon plus importante que l'atenolol (Dahlof et coll., 2002). Dans l'étude SCOPE (*Study On Cognition and Prognosis in the Elderly*), le candesartan a réduit le taux des AVC non fatals de 28% comparativement au groupe contrôle (Lithell et coll., 2003). Dans PROGRESS (*Perindopril Protection Against Recurrent Stroke Study*) (2001), chez des patients hypertendus ou non ayant un historique d'AVC, la thérapie combinée par un diurétique, l'indapamide, avec un IEC, le perindopril, réduisait le risque d'AVC de 43%. Par contre le perindopril seul abaissait ce risque de façon marginale (5%) et non significative, ce qui appuie davantage l'hypothèse selon laquelle la cérébroprotection serait médiée par la plus grande disponibilité de l'Angiotensine II et la dilatation AT₂-dépendante. Les résultats de l'étude PATS (*Post-stroke Antihypertensive Treatment Study*) (1995) supportent fortement cette conclusion puisque dans une population étudiée très similaire à celle de PROGRESS, l'indapamide seul a réduit le risque d'AVC de 29%. Au cours de l'étude HYVET (*Hypertension in the Very Elderly Trial*) regroupant des patients hypertendus âgés de plus de 80 ans, un traitement par le diurétique indapamide (\pm perindopril) diminue significativement la survenue d'un AVC - fatal ou non fatal - de 30% mais également la survenue d'un accident vasculaire cérébral fatal de 39%. L'étude MOSES (*Morbidity and Mortality after Stroke, Eprosartan compared with Nitrendipine for Secondary prevention*) a montré l'avantage d'un sartan par rapport à un antagoniste calcique dans la protection cérébrale chez des patients à haut risque cérébrovasculaire (Schrader et coll., 2005). L'étude ACCESS (*Acute Candesartan Cilexetil Therapy in Stroke Survivors*) supporte également l'effet cérébroprotecteur des sartans puisque cet essai de survie a dû être stoppé prématurément en raison d'un effet bénéfique considérable en faveur du candesartan (Schrader et coll., 2003).

Toutes ces études comparatives sont résumées dans le tableau 1 ci-après et conduisent à l'hypothèse d'une cérébroprotection par les sartans, médiée par les récepteurs AT₂.

Tableau 1 : Etudes cliniques comparant différentes stratégies thérapeutiques sur l'incidence d'AVC. MRC = *Medical Research Council* ; PATS = *Post-stroke Antihypertensive Treatment Study*; HYVET = *Hypertension in the Very Elderly Trial* ; PROGRESS = *Perindopril Protection Against Recurrent Stroke Study* ; LIFE = *Losartan Intervention For Endpoint* ; SCOPE = *Study On Cognition and Prognosis in the Elderly*; ACCESS = *Acute Candesartan Cilexetil Therapy in Stroke Survivors* ; MOSES = *Morbidity and Mortality after Stroke, Eprosartan compared with Nitrendipine for Secondary prevention* ; HVG = Hypertrophie Ventriculaire Gauche; AVC = Accident Vasculaire Cérébral ; IEC = Inhibiteur de l'Enzyme de Conversion de l'angiotensine.

Etude (année)	Type de patients	Traitements	Incidence / AVC
MRC (1985)	hypertendus	diurétique vs traitement placebo	↓ 70% (diurétique)
		bêta-bloquant vs traitement placebo	↓ 27% (bêta-bloquant)
PATS (1995)	post-AVC	diurétique vs traitement placebo	↓ 29% (diurétique)
Psaty et coll. (1997)	à risque cardiovasculaire	diurétique vs traitement placebo	↓ 51% (diurétique)
		bêta-bloquant vs traitement placebo	↓ 29% (bêta-bloquant)
HYVET (2008)	hypertendus âgés	diurétique ± IEC vs traitement placebo	↓ 70%
PROGRESS (2001)	post-AVC	IEC vs traitement placebo	pas d'effet (IEC)
		IEC+diurétique vs traitement placebo	↓ 43% (IEC+diurétique)
LIFE (2002)	HVG	sartan vs bêta-bloquant	sartan > bêta-bloquant
SCOPE (2002)	hypertendus âgés	sartan vs traitement placebo	↓ 28% (sartan)
ACCESS (2003)	post-AVC	sartan vs traitement placebo	sartan > placebo
MOSES (2005)	post-AVC	sartan vs antagoniste calcique	sartan > antagoniste calcique

IV – LE SEL

L'ion sodium (Na^+), obtenu dans la nourriture à partir du chlorure de sodium (NaCl), tient une place physiologique majeure. En effet, sa concentration extracellulaire, finement régulée par l'organisme, permet le maintien d'un gradient de concentration important entre les milieux extra- et intracellulaires, dont dépendent bon nombre de fonctions physiologiques. Il joue par ailleurs un rôle majeur dans les mécanismes de régulation de la volémie et de la pression artérielle.

La quantité de Na^+ physiologiquement nécessaire chez l'Homme a été évaluée à environ 2 g de NaCl par jour soit 35 milli-équivalents (mEq) de Na^+ . Or, l'Homme ne cesse d'augmenter les quantités de sel qu'il ingère, et les industries agro-alimentaires ne sont pas étrangères à cette situation. En effet, le sodium est un excellent conservateur et c'est pour cette raison qu'il est devenu si indispensable aux populations. Autre particularité : l'ion Na^+ est suivi passivement par l'eau et c'est une caractéristique importante pour des industriels qui vendent leurs produits au poids. Cependant, le goût trop salé pourrait rebuter le consommateur, alors le sel est caché. Pour ce faire, les industriels utilisent le citrate de sodium qui contient les mêmes quantités d'ions sodium, mais qui n'a pas le goût salé du chlorure de sodium. Actuellement, la consommation moyenne de Na^+ dans les pays occidentalisés est de 4 à 6 g par jour (10 à 15 g de NaCl soit plus de 175 mEq de NaCl et plus de 5 fois les besoins physiologiques) (Meneton et coll., 2005). Or, au cours de l'évolution, alors que le NaCl était peu disponible, l'organisme a développé des mécanismes physiologiques puissants, dont le SRAA, pour assurer une rétention sodée. Dans les sociétés actuelles, le NaCl est présent en abondance, et les mécanismes de rétention sodée sont toujours présents. Ainsi, la question des effets délétères, principalement au niveau cardio-vasculaire, d'une trop grande consommation de Na^+ est un débat d'actualité.

1) CONSEQUENCES CARDIO-VASCULAIRES LIEES AU SEL

11) Sel et hypertension artérielle

L'une des premières questions qui s'est posée sur l'augmentation de l'apport sodé dans les pays industrialisés est le lien entre augmentation du sodium alimentaire et hypertension artérielle. En effet, le sodium étant un des acteurs majeurs de la régulation de la volémie, il était une cible évidente dans la recherche des mécanismes responsables du développement de l'HTA essentielle.

Dès 1952, chez le rat Sprague Dawley, Meneely et coll. (1952) montraient une relation linéaire positive entre la PA moyenne et l'apport sodé quand il était augmenté de 1 à 10 % dans l'alimentation. La grande étude multicentrique INTERSALT (52 centres) (1988) a montré une relation significative entre le niveau de PA systolique et l'excrétion urinaire de sodium sur 24h (Figure 5).

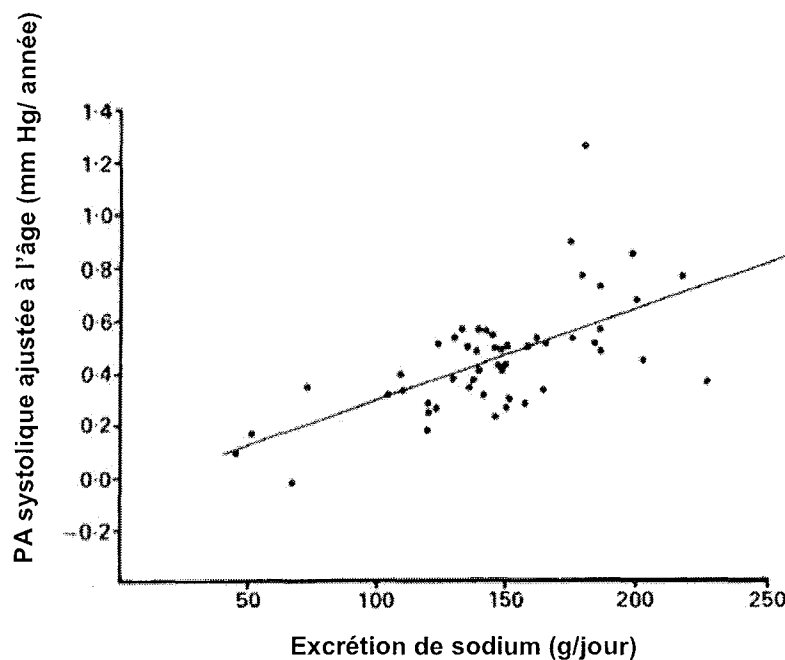


Figure 5 : Relation entre l'excrétion sodée et le niveau de PA systolique chez l'Homme (INTERsalt, 1988).

Plus récemment, l'étude DASH Sodium (Sacks et coll., 2001), dans laquelle l'apport sodé était mieux contrôlé, a permis de mettre en évidence qu'une diminution de l'apport sodé associée à une alimentation

riche en végétaux diminuait significativement le niveau de PA (Figure 6). Ceci a été confirmé récemment par une étude réalisée sur le chimpanzé (Elliott et coll., 2007).

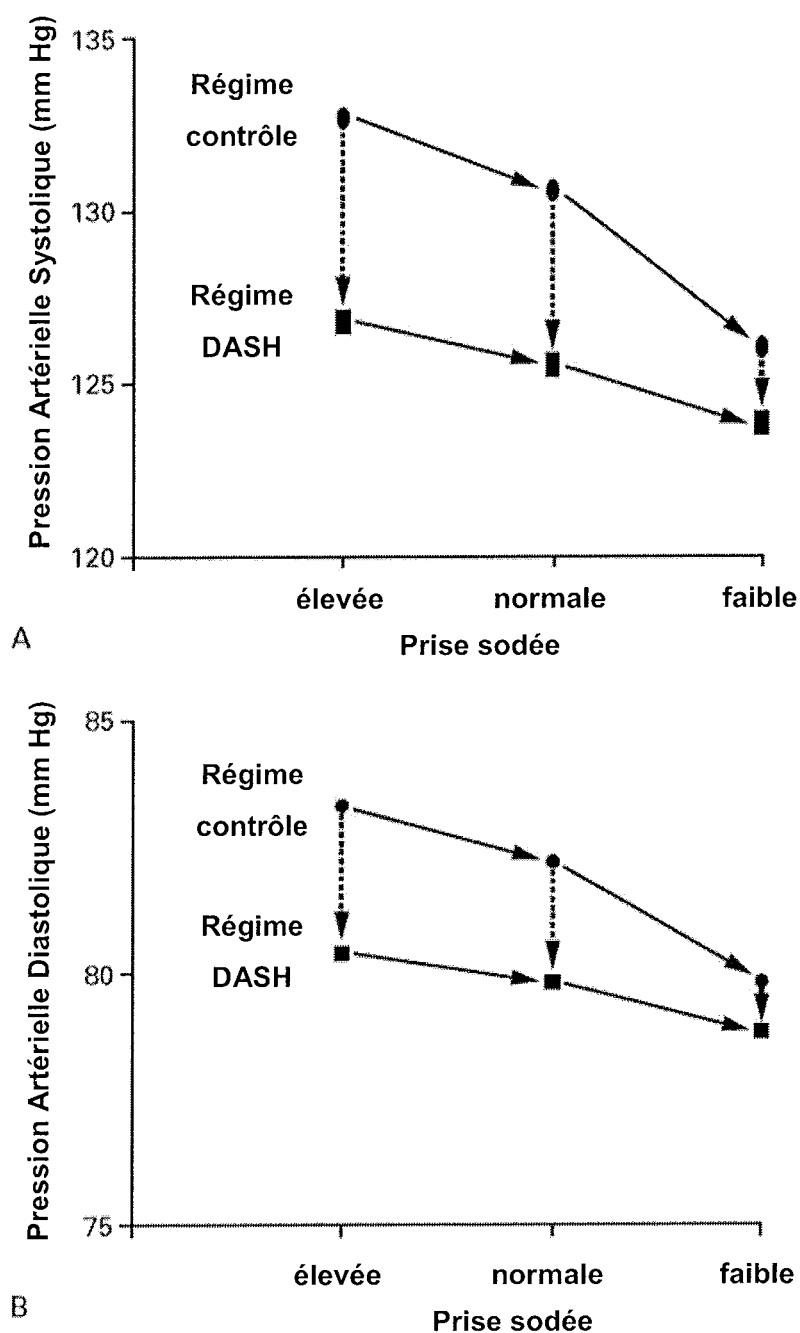


Figure 6 : Effet de la diminution de l'apport sodé et d'une alimentation riche en végétaux (régime DASH = Dietary Approaches To Stop Hypertension) sur le niveau de pression artérielle systolique (A) et diastolique (B) chez l'Homme. D'après Sacks et coll. (2001).

Il a donc été démontré au cours de nombreuses études épidémiologiques et cliniques qu'une réduction de la consommation de sel est associée à une diminution de la PA (Chobanian et Hill, 2000).

Chez l'Homme, il a été défini deux types d'individus : ceux qui, quel que soit leur niveau tensionnel de base, répondent à une augmentation de l'apport sodé (multipliée par deux pendant 7 jours) par une augmentation d'au moins 10% de leur PA, et sont appelés « sodium-sensibles ». Ceux dont la PA ne sera pas influencée par cet apport sodé sont appelés individus « sodium-résistants » (Weinberger et coll., 1986). Trente à 50% des patients auraient une hypertension artérielle sensible au sel.

12) Sel et hypertrophie ventriculaire gauche

Par ailleurs de nombreux travaux se sont portés sur une action plus directe du Na^+ sur les atteintes cardiaques, rénales, et vasculaires, c'est-à-dire sur son action indépendamment du niveau de pression artérielle.

En effet, plusieurs études (Kihara et coll., 1985 ; Du Cailar et coll., 1992) ont montré des résultats en faveur d'un effet direct du sodium indépendamment du niveau de PA dans le développement de l'hypertrophie ventriculaire gauche (HVG). Cet effet direct passe par l'induction de la croissance cellulaire mais aussi par l'apparition d'une fibrose. Plusieurs hypothèses ont été émises concernant les mécanismes impliqués dans ces modifications : elles sont notamment basées sur des travaux réalisés autour de l'échangeur Na^+/H^+ Exchanger (NHE), qui est la voie la plus importante d'entrée du sodium dans la cellule (Frelin et coll., 1984) (Figure 7). En effet, on peut envisager que l'augmentation de l'apport sodé implique l'augmentation de l'activité de l'échangeur afin de maintenir une concentration en sodium normale dans le milieu extracellulaire. L'implication de NHE-1 dans le développement de l'HVG a été mise en évidence dans différents modèles (Takewaki et coll., 1995 ; Marano et coll., 2004). L'activité de cet échangeur se traduit par la sortie de protons propulsés par l'énergie issue de la dissipation du gradient du sodium qui entre passivement dans la cellule.

Concernant les mécanismes par lequel l'ion sodium agit directement dans le développement de l'HVG, différents auteurs envisagent que l'augmentation du sodium extracellulaire induise, *via* l'activation de NHE, une activation des PKC atypiques (Hayasaki-Kajiwara et coll., 1999), une augmentation du pH, et une augmentation du calcium intracellulaire *via* l'échangeur $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ Exchanger : NCX qui

fonctionnerait en mode inversée (Perez et coll., 2001) (Figure 7). Ces trois signaux sont connus pour activer les voies aboutissant à la croissance cellulaire. Par ailleurs NHE-1 ne serait pas seulement impliqué dans la croissance cellulaire mais aussi dans le développement de la fibrose associée à l'HVG. En effet, dans le modèle DOCA sel uninephrectomisé, Mirkovic et coll. (2002) ont montré que l'administration d'amiloride, un inhibiteur de NHE-1 (1 mg/kg par jour), pendant 2 semaines, diminuait la fibrose et prévenait sa reformation sans modification du niveau de pression artérielle ni de la kaliémie dans ce modèle.

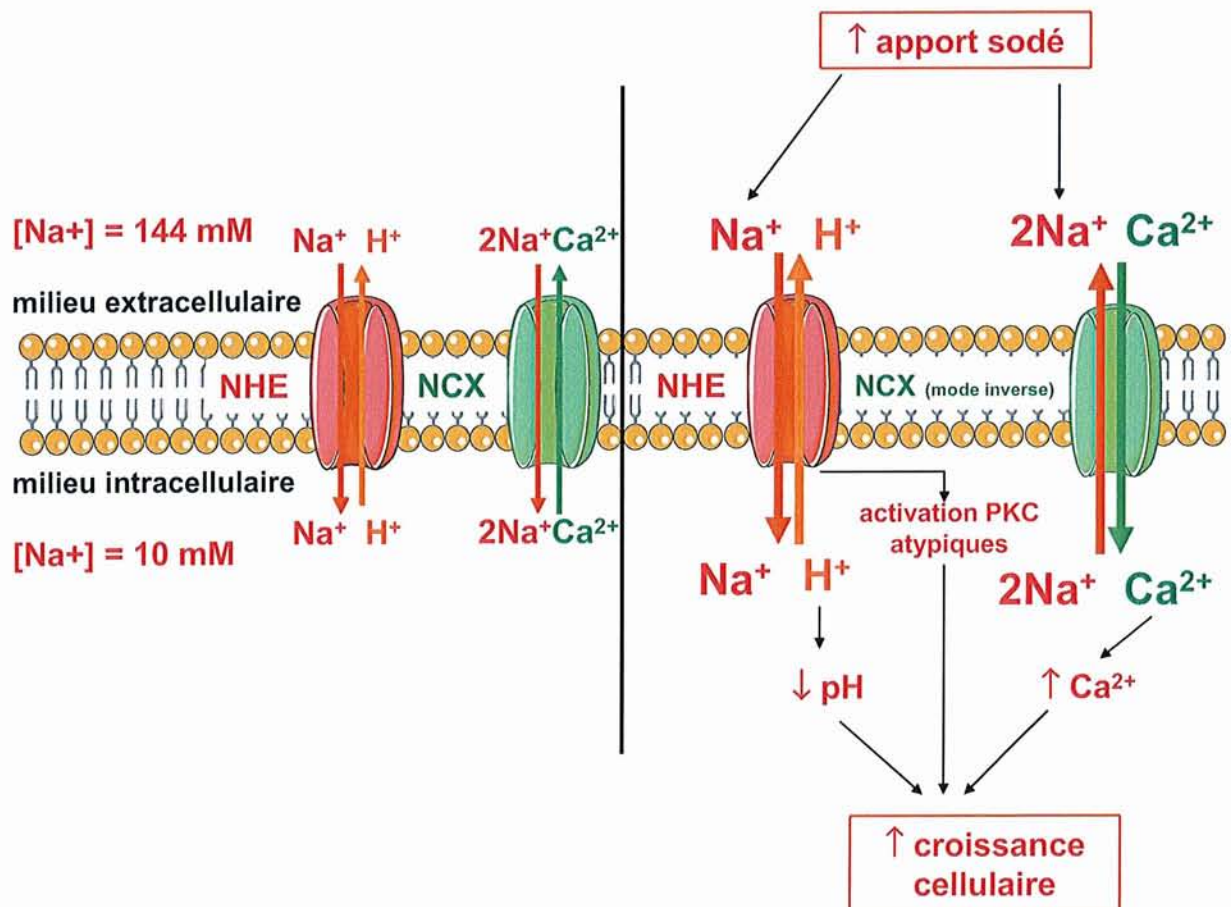


Figure 7: Hypothèses envisagées pour expliquer la croissance cellulaire provoquée par une augmentation de l'apport sodé, indépendamment de tout effet sur la pression artérielle. NHE = Na⁺/H⁺ Exchanger ; NCX = Na⁺/Ca²⁺ Exchanger ; PKC = Protéine Kinase C. D'après Perez et coll., 2001.

D'autres auteurs s'interrogent, eux, sur l'implication de l'aldostérone tissulaire dans le développement de l'HVG associée à la charge sodée. Takeda et coll. (2000) ont montré qu'une élévation de la prise sodée pendant 8 semaines chez des rats Wistar-Kyoto produisait une HVG sans élévation de la PA, une diminution de l'aldostérone et de la rénine plasmatiques en accord avec l'augmentation de la charge sodée, mais également une augmentation de l'activité de l'aldostérone synthétase et de la quantité

d'aldostérone du tissu cardiaque. Ainsi ces résultats mettent en avant qu'au niveau cardiaque, un régime hypersodé peut augmenter la synthèse locale d'aldostérone tissulaire, ce qui doit contribuer à l'hypertrophie, indépendamment du niveau plasmatique d'aldostérone. Karmazyn et coll. (2003) ont montré que l'aldostérone, à une dose proche des concentrations présentes *in vivo*, pouvait induire l'hypertrophie de cardiomyocytes de rats nouveaux-nés *via* l'augmentation de la synthèse et de l'activité de NHE-1. Ils ont montré que les niveaux d'ARNm et de protéine de NHE-1 ainsi que la concentration intracellulaire de sodium étaient significativement augmentés par l'aldostérone. Par ailleurs ils ont annulé l'élévation de ces trois paramètres en présence d'un antagoniste spécifique de NHE-1 ou d'un antagoniste de l'aldostérone prouvant ainsi le passage du mécanisme par l'aldostérone et NHE-1. Il semble donc que, outre le sodium lui-même, l'aldostérone produite localement en réponse à l'augmentation de l'apport sodé soit impliquée dans le développement de l'HVG par l'activation des voies de croissance cellulaire dépendante de l'échangeur NHE-1.

Cependant, des voies dépendantes de l'aldostérone mais pas de NHE-1 ont aussi été mises en évidence. Sur des cultures de cardiomyocytes de rats nouveaux nés, Okoshi et coll. (2004) ont observé une hypertrophie des cardiomyocytes induite par la fixation de l'aldostérone sur les récepteurs aux minéralocorticoïdes et l'activation de voies génomiques de l'hormone (Okoshi et coll., 2004).

L'implication de l'aldostérone dans le développement de la fibrose a aussi été observée par Lal et coll. (2003) chez le rat Wistar soumis à un régime hypersodé sévère (8% NaCl) pendant 8 semaines. En effet, le traitement par la spironolactone, un antagoniste des récepteurs de l'aldostérone, pendant toute la durée du régime, a permis de prévenir le développement de l'HVG mais aussi de la fibrose interstitielle et périvasculaire.

L'ion sodium, par une action directe, semble donc tenir une place importante dans les mécanismes du développement hypertrophique et fibrotique du myocarde. L'aldostérone tissulaire tient aussi une place prépondérante et les voies issues de ces deux facteurs semblent être étroitement liées par un acteur central, l'échangeur NHE.

13) Sel et paroi vasculaire

Au niveau vasculaire, Takeda et coll. (2001) ont montré chez le rat SHR-SP (Spontaneously Hypertensive Rat – Stroke Prone) soumis à un régime hypersodé, que la majoration de l'hypertrophie de l'artère mésentérique était associée à une activation locale du SRAA dans le vaisseau, notamment par une augmentation de l'expression des récepteurs AT_1 et de la production locale d'aldostérone, mais que le SRAA circulant n'était pas impliqué dans la majoration de ces altérations (Takeda et coll., 2001).

Il semble donc que, dans le vaisseau, le SRAA circulant ne soit pas impliqué dans la majoration des atteintes par le sodium. Cependant, l'influence du SRAA tissulaire à ce niveau n'est pas à négliger.

Un autre paramètre impliqué dans la majoration des atteintes structurales en réponse à l'augmentation du sodium alimentaire est le stress oxydant. En effet, chez le rat SHR-SP soumis à un régime hypersodé, Park et coll. (2002) ont montré que le traitement avec du tempol, un mimétique de la superoxyde dismutase (1 mmol dans la boisson pendant toute la durée du régime), augmentait le diamètre luminal et diminuait l'épaisseur et l'aire de la section de la média, suggérant que le stress oxydant pouvait être impliqué dans la majoration des atteintes induites par le régime hypersodé. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Zhou et coll. (2003) chez le rat Dahl sensible au sel montrant qu'un régime hypersodé chronique pouvait induire une augmentation de la production d' O_2^{\bullet} dans l'aorte ainsi qu'une hypertrophie aortique et que l'augmentation du stress oxydant était associée à une augmentation fonctionnelle de l'AI.

Il semble donc que la majoration des atteintes structurales vasculaires par l'augmentation du sodium alimentaire passe en partie par une augmentation du stress oxydant.

Sur le plan structural, du Cailar et coll. (2004) ont mis en évidence, dans leur cohorte de patients normotendus et hypertendus non traités, une corrélation significative entre l'excrétion urinaire de sodium sur 24h et l'augmentation de la pression pulsée corrigée par la PA moyenne. La pression pulsée pouvant être interprétée comme un index de la rigidité artérielle, ces auteurs ont donc suggéré que le sodium exerce des effets directs, indépendamment du niveau de pression artérielle moyen, sur la structure des vaisseaux.

Gu et coll. (1998) se sont intéressés aux mécanismes supposés impliqués dans le remodelage vasculaire. Sur des cultures de cellules musculaires lisses vasculaires, ils ont montré que l'augmentation de la quantité de NaCl dans le milieu de culture engendrait une augmentation dose dépendante du diamètre et du volume des cellules. Ces résultats indiquent que le sodium *per se* peut induire l'hypertrophie des cellules musculaires lisses, et ce indépendamment de toute modification hémodynamique.

Beaucoup d'études sur les effets du sodium ont attribué la majorité des atteintes vasculaires à l'augmentation de la pression artérielle ou du débit sanguin. Cependant, il semble que le sodium puisse induire des atteintes vasculaires dans des modèles ne présentant pas d'hypertension artérielle, et donc que les modifications fonctionnelles ou structurales observées ne soient pas uniquement dues à des modifications hémodynamiques mais aussi à des effets du sodium *per se*.

Sur le plan fonctionnel, les résultats de Kagota et coll. (2001; 2007) suggèrent que l'augmentation du sodium alimentaire a une influence sur la majoration de la dysfonction endothéliale, *via* la baisse d'expression de la guanylate cyclase soluble (GCs) des cellules musculaires lisses ce qui provoque une diminution de la production de guanosine monophosphate cyclique (GMPc), et participe à l'altération de la réponse vasorelaxante au monoxyde d'azote (NO).

Plusieurs études ont montré qu'un régime hypersodé peut avoir directement des effets délétères sur la fonction vasodilatatrice de la circulation des muscles squelettiques. Par exemple, Liu et coll. (1997) ont rapporté que les artères de résistance de muscles squelettiques de rats Sprague Dawley, soumis à un régime hypersodé (4% NaCl) pendant 8 semaines, montraient des réponses dilatatrices endothélium dépendantes affaiblies. De même, Boegehold et coll. (1993; 1995) ont observé une altération de la réponse dilatatrice à l'acétylcholine *in situ* au niveau des artérioles de muscles spinotrapezoïdes de rats Dahl résistants au sel, après un régime hypersodé (7% NaCl) pendant 2 à 5 semaines. Cette diminution de dilatation est attribuée selon les auteurs à la suppression de l'effet du monoxyde d'azote au niveau des petits vaisseaux. Chez le rat Sprague Dawley, Lenda et coll. (2000) ont rapporté que la dilatation des artérioles du muscle spinotrapezoïde en réponse à l'acétylcholine était diminuée dans le groupe ayant reçu un régime hypersodé sévère (7% NaCl) pendant 5 semaines. En revanche, aucune différence entre les deux groupes de régime n'a été observée en réponse au SNP et le traitement par la SOD dans le perfusat permet de restaurer la réponse dilatatrice à l'acétylcholine dans le groupe hypersodé.

L'augmentation de l'apport sodé engendrerait donc l'augmentation de la production de formes réactives de l'oxygène dans la paroi des microvaisseaux, responsables de la diminution de la réponse dilatatrice dépendante de l'endothélium, mais sans altération de la capacité de la cellule musculaire lisse à se relaxer en réponse au NO.

Il semble donc que l'augmentation de l'apport sodé puisse avoir des effets divers sur la réactivité vasculaire. La dilatation endothélium dépendante semble être le lieu de transformations majeures. Ces modifications peuvent se traduire par la modification de la voie du NO, impliquée dans la dilatation, par la diminution de la biodisponibilité du NO ou par l'affaiblissement des voies impliquées en aval du fait d'une modification de l'expression ou de l'activité d'un ou des acteurs intracellulaires (GCs).

2) SEL, FACTEUR DE RISQUES POUR LA SURVENUE D'ACCIDENTS VASCULAIRES CEREBRAUX

Comme on l'a vu dans la partie précédente, le sel porte atteinte à l'intégrité du système cardiovasculaire : qu'en est-il au niveau cérébrovasculaire ?

Plusieurs études ont montré des corrélations positives entre la consommation de sel et la survenue d'AVC (Xie et coll., 1992 ; Sasaki et coll., 1995). Il a été suggéré que la consommation de sel pouvait avoir un effet direct délétère sur le risque d'AVC indépendamment de la PA (Perry et Beevers, 1992). Cette hypothèse a été vérifiée par plusieurs études (Choi-Kwon et Kim, 1998 ; Nagata et coll., 2004). Nagata et coll. (2004) a montré que le risque de mort par AVC chez les Hommes est multiplié par 2,4 avec une consommation élevée en sel.

3) SEL ET SRAA CEREbroVASCULAIRE : REGULATIONS DES RECEPTEURS A L'ANGIOTENSINE

En cas de régime faible en Na^+ , l'augmentation de la sécrétion de rénine, induite par la diminution de la concentration en Na^+ dans la *macula densa* engendre une augmentation de la production d'angiotensine I et donc d'Angiotensine II (Guyton, 1991). L'Angiotensine II stimule alors la rétention du Na^+ par le rein (directement et *via* la libération d'aldostérone). A l'inverse, en cas de régime hypersodé, l'activité du SRAA systémique est freinée, avec une diminution de la sécrétion de rénine et donc d'Angiotensine II.

Or au niveau artériel (aorte), cette diminution d'Angiotensine II, induite par un régime hypersodé, est responsable d'une « up-regulation » des récepteurs AT_1 (Nickenig et coll., 1998) et d'une augmentation de la vasoconstriction AT_1 -dépendante à l'Angiotensine II (Weber et coll., 1999). En parallèle, un régime hypersodé induit une « down-regulation » des récepteurs AT_2 et diminue donc la vasodilatation Angiotensine II dépendante des artères mésentériques (Gonzalez et coll., 2005). Ces modifications d'expression et de densité des récepteurs AT_1 et AT_2 suite aux changements d'apport en Na^+ dans l'alimentation modulent donc la réactivité des artères et artérioles extra-cérébrales à l'Angiotensine II.

Au niveau des artérioles cérébrales, les travaux du laboratoire ont montré que l'All provoque une vasoconstriction par activation des récepteurs AT_1 et une vasodilatation consécutive à l'activation des récepteurs AT_2 (révélée en présence d'un antagoniste spécifique des récepteurs AT_1) (Vincent et coll., 2005). Cependant la vasoréactivité cérébrale lors d'une modification de l'apport sodée dans l'alimentation est peu connue.

Si un mécanisme similaire à ceux reportés par Gonzalez et coll. (2005) et Weber et coll. (Weber et coll., 1999) se produit au niveau de la circulation cérébrale, cela se traduirait par la potentialisation de la constriction AT_1 -dépendante et l'atténuation de la dilatation AT_2 -dépendante. Ce point peut s'avérer crucial dans la régulation du DSC dans les situations ischémiques où le débit est diminué et où la reperfusion des zones de pénombre dépend du diamètre et des capacités de dilatation artériolaires. En effet, l'augmentation des résistances cérébrovasculaires (Baumbach et Heistad, 1989) et la baisse des capacités de dilatation (Kontos et coll., 1978) amplifient les conséquences d'une ischémie (Choki et coll., 1977 ; Capdeville et coll., 1990 ; Atkinson, 2001). Ainsi, un régime hypersodé pourrait potentialiser l'ischémie cérébrale et ses conséquences.

Tous ces arguments nous ont conduits à nous intéresser à l'impact de modifications de la balance sodée sur la réactivité cérébro-artériolaire à l'All, sur la base des hypothèses de travail développées en Figure 8.

D'un côté, l'augmentation de la balance sodée devrait induire l'inhibition du SRAA ce qui pourrait engendrer les régulations décrites : augmentation de l'expression des récepteurs AT_1 et/ou diminution de l'expression des récepteurs AT_2 au niveau cérébrovasculaire. Ces régulations pourraient amplifier l'état de vasoconstriction du à l'All, en provoquant d'une part l'augmentation de la vasoconstriction AT_1 dépendante et d'autre part l'altération de la vasodilatation AT_2 dépendante (Figure 8). Et d'un autre côté, la diminution de la balance sodée, par l'activation du SRAA, pourrait engendrer une diminution de l'expression des récepteurs AT_1 et/ou une augmentation de l'expression des récepteurs AT_2 au niveau cérébrovasculaire. Ces régulations pourraient ici au contraire modifier la vasoréactivité cérébrale en favorisant la vasorelaxation des artérioles cérébrales (Figure 8).

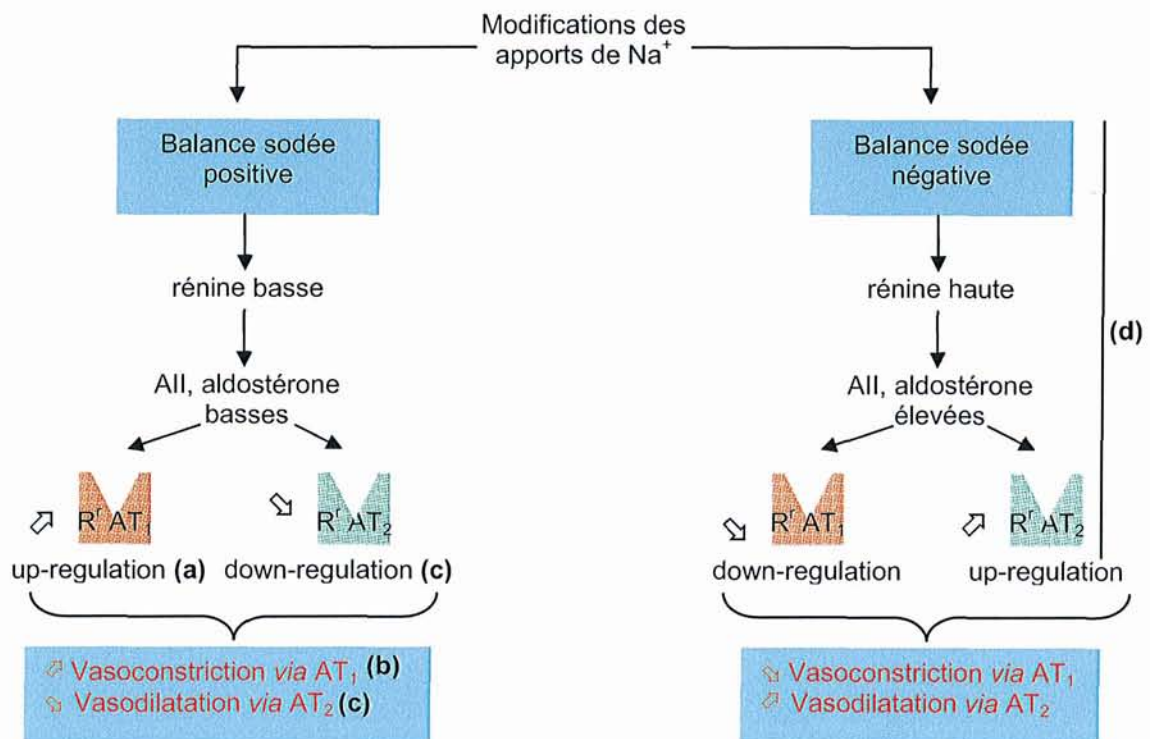


Figure 8 : Développement des hypothèses de travail établies sur la base des travaux de Nickenig et coll. (1998) (a), Weber et coll. (1999) (b), Gonzalez et coll. (2005) (c), Aguilera et Catt (1981) (d). Encadrés bleus : objectifs de cette étude, à savoir le développement d'un modèle de modification de la balance sodée et son impact sur la réactivité cérébro-artériolaire à l'All.

V- OBJECTIFS

Afin de vérifier nos hypothèses, les objectifs de ce travail étaient donc :

- de valider un protocole d'étude *in situ* des réponses cérébro-artériolaires à l'All, en absence et en présence d'un antagoniste des récepteurs AT₁, le losartan,
- de mettre en place des modèles de modification de la balance sodée (positive et négative),
- et d'évaluer l'impact des modifications de la balance sodée sur la réactivité cérébro-artériolaire à l'All selon le même protocole que celui de Gonzalez et coll. (2005) au niveau des artères mésentériques.

Le choix des niveaux de régime en Na⁺ est basé sur la classification présente au sein de l'étude DASH (Sacks et coll., 2001) et sur les régimes mis en place au sein d'autres études expérimentales (Gonzalez et coll., 2005 ; Kagota et coll., 2007). L'Organisation Mondiale de la Santé (1982) et *the Joint National Committee on prevention, detection, evaluation, and treatment of high blood pressure* (1997) recommande la réduction de la prise sodée journalière à 100 mmol/L, c'est-à-dire 0,23% de Na⁺ (2,3 g de Na⁺ soit 5,8 g de NaCl). L'étude DASH a donc considéré qu'un niveau élevé en Na⁺, reflétant la consommation habituelle aux Etats-Unis, était de 150 mmol/L, c'est-à-dire 0,35% de Na⁺ (3,45g de Na⁺ soit 8,7 g de NaCl). Nous avons donc basé un de nos régimes hypersodé (HSD = 0,4% Na⁺) sur ce taux. De plus, ce même niveau de Na⁺ a été utilisé par Gonzalez et coll. (2005) qui ont observé une altération de la réactivité et une régulation des récepteurs à l'All au niveau des artères mésentériques. Par ailleurs, au cas où le régime HSD ne soit pas suffisant pour induire les modifications attendues, nous avons instauré un deuxième régime hypersodé avec un taux en Na⁺ supérieur (VHSD = 1% Na⁺) (Kagota et coll., 2007).

Nous avons instauré deux durées de régimes. Une première durée de 4 jours afin de savoir si une modification brève de la consommation en Na⁺ pouvait avoir un impact sur la réactivité cérébro-artériolaire à l'All comme l'ont observé Gonzalez et coll. (2005) au niveau mésentérique. D'autre part nous avons établi une seconde durée de régimes variés en Na⁺, de 30 jours car pour certains groupes la balance sodée n'est pas modifiée au bout de 4 jours (cf résultats Partie 2, II, 23)).

PARTIE 2 : TRAVAUX EXPERIMENTAUX

I - MATERIEL ET METHODES

1) ANIMAUX ET TRAITEMENTS

11) Animaux

Au travers de la planification et la réalisation de nos expérimentations, nous avons suivi la règle des 3R qui préconise de : Réduire (*Reduce*) le nombre d'animaux en expérimentation, Raffiner (*Refine*) la méthodologie utilisée et de Remplacer (*Replace*) si possible les modèles animaux. Afin de respecter cette bonne pratique en expérimentation animale, nous avons utilisé des statistiques lors de la conception du protocole expérimental afin d'estimer au préalable le nombre d'animaux nécessaire et suffisant à l'obtention de résultats statistiquement exploitables. Nous avons également optimisé l'expérimentation en termes de résultats et utilisé une méthode d'anesthésie appropriée. L'ensemble des manipulations a été réalisé en respectant les recommandations du Ministère Français de l'Agriculture, sous la supervision du Pr. I. Lartaud (permis 54-5) et les protocoles d'études ont été soumis et acceptés par le Comité régional d'éthique en expérimentation animale (avis en annexe).

Les rats Wistar mâles non consanguins (Rj/HAN : Wi ; Janvier, Le Genest-St-Ile, France), âgés de 3 mois sont maintenus pendant une semaine à l'animalerie dans les conditions standards (l'alternance lumière/obscurité de l'animalerie est réglée sur un cycle de 12/12 h et la température est maintenue à 23 ± 1 °C), avant répartition dans les groupes expérimentaux. Ils disposent de nourriture ((AO4 ; 109 mEq de Na⁺/kg de nourriture, Safe, Villemoison-Epinay-Sur-Orge, France) et d'eau adoucie (système d'osmose inverse, Culligan®, Bruxelles, Belgique) *ad libidum*. Cette eau adoucie renferme 4 µEq de Na⁺/L.

Trois séries de rats ont été utilisées au cours des expérimentations. Une première série de rats a été utilisée afin de vérifier l'obtention d'une vasoréactivité cérébrale comparable (« mise au point ») (n = 12) à celle obtenue au sein du laboratoire jusqu'à présent. Une seconde série de rats, destinée à la mise en place de modèles de modulation de la balance sodée (série « balance sodée ») a été suivie en cages métaboliques au cours de régimes et traitement modulant les entrées de Na⁺. Cette série de rats rassemble 8 groupes de 5 rats dont les résultats de balance sodée sont présentés dans le présent manuscrit. Ils ont ensuite été sacrifiés afin d'isoler des microvaisseaux cérébraux (technique selon Zhou

et coll., 2006) pour la détermination de l'expression (ARNm en rt-qPCR et protéines en Western-blot) des récepteurs à l'Ang II. Cette partie biologie moléculaire du projet est en cours actuellement au laboratoire, sous la responsabilité de Caroline PERRIN-SARRADO et François DUPUIS, et ne fait pas l'objet de résultats dans ce mémoire. Une troisième et dernière série de rats, ayant suivi les mêmes régimes et traitements modulant la balance sodée, a été dédiée à l'évaluation de la vasoréactivité cérébro-artériolaire à l'Ang II (série « réactivité cérébro-artériolaire »). Cette série de rats rassemble 8 groupes de 6 à 9 rats chacun.

12) Traitements

Les rats des séries « balance sodée » et « réactivité cérébro-artériolaire » sont subdivisés en 8 groupes (Tableau 2) et soumis à des régimes alimentaires et hydriques en Na^+ variables (consommation de nourriture et de boisson à volonté) soit pendant 4 jours, soit pendant 30 jours :

- groupes « Normal Salt Diet » (NSD), groupes contrôle, recevant de la nourriture standard AO4 et de l'eau adoucie,
- groupes « High Salt Diet » (HSD), recevant 0,4% de NaCl soit 69 mEq/L de Na^+ dans l'eau de boisson et de la nourriture standard AO4,
- groupes « Very High Salt Diet » (VHSD) recevant 1% de NaCl soit à 172 mEq/L de Na^+ dans l'eau de boisson et de la nourriture standard AO4,
- groupes « Low Salt Diet + Furosémide » (LSD+Furo), ayant subi une injection sous-cutanée de furosémide à la dose de 20 mg/kg de poids corporel au jour 0 (J_0) du traitement puis une fois par semaine : à J_8 , J_{15} , J_{22} mais pas à J_{29} car les rats sont sacrifiés à J_{30} . La nourriture de ce groupe est très faiblement pourvue en Na^+ (15 mEq de Na^+ /kg de nourriture) (lot 80122, fabriqué à la demande ; Safe) et les animaux boivent de l'eau adoucie. L'administration hebdomadaire de furosémide a pour but de stimuler l'excrétion de Na^+ afin de maintenir une balance sodée négative (de Oliveira et coll., 2007).

Tableau 2 : Taille des groupes (n), descriptif des régimes (teneur en Na⁺ dans la nourriture et l'eau de boisson) et traitement au sein de la série « balance sodée » et de la série « réactivité cérébro-artériolaire ».

	NSD		HSD		VHSD		LSD+Furo	
Durée (jours)	4	30	4	30	4	30	4	30
n « balance sodée »	5	5	5	5	5	5	5	5
n « réactivité cérébro-artériolaire »	7	7	6	9	7	6	6	8
Nourriture (Na ⁺ ; mEq/kg de nourriture)	109		109		109		15	
Boisson (Na ⁺ ; mEq/L)	0,004		69		172		0,004	
Furosémide SC 20 mg/kg de poids corporel							J ₀ puis 1x/semaine	

2) MESURES DE LA DIURESE, DE LA CONSOMMATION ALIMENTAIRE ET HYDRIQUE, DU POIDS CORPOREL ET DETERMINATION DE LA BALANCE SODEE

L'évaluation de la diurèse et de la consommation alimentaire et hydrique a été réalisée grâce à l'utilisation de cages métaboliques (Figure 9). Les rats traités sur une période de 4 jours sont placés en cage métabolique, avec 100 g de nourriture et 100 mL de boisson, pendant 24 h, un jour avant le début du traitement pour recueil des urines à J₀, puis au 3^{ème} jour du traitement pour recueil des urines à J₄. Les rats traités sur une période de 30 jours sont placés en cage métabolique, avec 100 g de nourriture et 100 mL de boisson, pendant 24 h, un jour avant le début du traitement pour recueil des urines à J₀ puis à J₇, J₁₅ et J₂₉. Dans le groupe LSD+Furo, le furosémide est administré après les mesures en cages métaboliques. Les urines sont recueillies et les volumes urinaires mesurés. Les urines sont ensuite centrifugées pendant 10 minutes (min) à 630 g afin d'éliminer les éventuels résidus de nourriture. Les surnageants sont conservés à -20°C en vue de dosages biochimiques ultérieurs (Na⁺, K⁺, créatinine) (paragraphe I 4)).

Le poids corporel des rats, ainsi que les quantités de nourriture et de boisson restantes sont évaluées à J₀, J₄, J₇, J₁₅, J₂₉ afin de déterminer l'évolution du poids corporel (g), de la consommation alimentaire (g/jour/kg de poids corporel) et hydrique (mL/jour/kg de poids corporel).

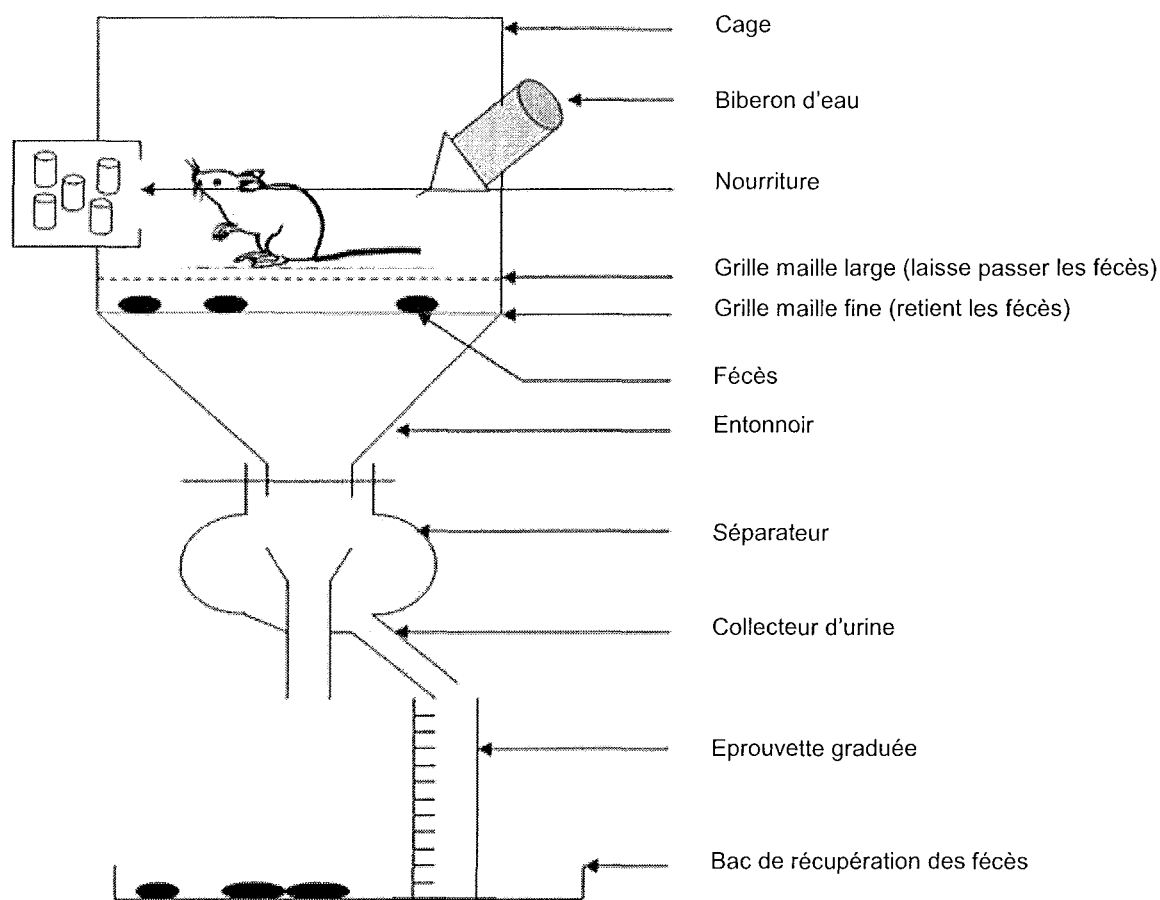


Figure 9 : Schéma représentant une cage métabolique et ses différents constituants.

Les quantités de Na⁺ ingéré et excrété par chaque rat, ainsi que la balance sodée de l'organisme sont calculées en mEq/jour/kg de poids corporel :

- Na⁺ ingéré = (taux de Na⁺ présent dans la nourriture x quantité de nourriture ingérée/jour/kg de poids corporel) + (concentration de Na⁺ dans l'eau de boisson x volume d'eau ingérée/jour/kg de poids corporel)
- Na⁺ excrété = (concentration urinaire de Na⁺ x volume d'urine émise/jour/kg de poids corporel)
- balance sodée = Na⁺ ingéré - Na⁺ excrété.

Les quantités de Na⁺ excrété par voie fécale (15% de l'excrétion de Na⁺, Thiesson et coll., 2007) et sudorale (5% de l'excrétion de sodium) sont négligées devant l'excrétion urinaire (80% de l'excrétion de Na⁺, Thiesson et coll., 2007).

3) MESURES DES PARAMETRES HEMODYNAMIQUES ET DE LA REACTIVITE DES ARTERIOLES CEREBRALES CHEZ LE RAT ANESTHESIE

31) Anesthésie et chirurgie

Les animaux sont anesthésiés par injection intra-péritonéale de pentobarbital sodique, à la dose de 60 mg/kg (CEVA Santé Animale, Libourne, France). L'animal est placé en décubitus dorsal sur une table chauffante associée à une sonde rectale de température (Panlab, Barcelone, Espagne) permettant de contrôler et maintenir la température de l'animal proche de 37°C, durant toute la durée de l'expérience.

Une trachéotomie est réalisée et une canule de polyéthylène (diamètre interne 1,67 mm/diamètre externe 2,42 mm ; Merck Biotrol, Chenevières, France) est introduite dans la trachée sur 1,5 cm. L'animal est ventilé artificiellement (modèle 683, Rodent Ventilator, Harvard Apparatus, Holliston, MA, USA) à raison de 50 à 60 cycles/min, à un débit de 0,8 à 1 mL/100 g de poids corporel par cycle respiratoire.

La veine fémorale gauche est isolée. Un cathéter en polyéthylène (diamètre interne 0,58 mm/diamètre externe 0,96 mm ; Merck Biotrol, avec embout de silicone diamètre interne 0,635/ diamètre externe 1,19 mm ; Perouse Plastie, Bornel, France), rempli d'une solution héparinée (20 UI d'héparine (Sanofi-Aventis, Paris, France) /mL de tampon phosphate, Phosphate Buffered Saline (PBS ; 0,01 M PO_4^{2-} ; 0,138 M NaCl ; 0,0027 M KCl)) est introduit sur environ 2 cm dans la veine fémorale afin de maintenir l'anesthésie par une perfusion intraveineuse (iv) de 20 mg/kg/h de pentobarbital sodique, à l'aide d'un pousse seringue (modèle Bioblock Scientific, Razel Scientific Instruments Inc., Stamford, USA) à un débit de 0,25 mL/h . La profondeur de l'anesthésie est contrôlée par évaluation du réflexe cornéen (absence de mouvement de la paupière après application sur l'œil d'un coton tige imbibé d'eau).

L'artère fémorale droite est isolée du faisceau vasculo-nerveux, puis canulée à l'aide d'un cathéter en polyéthylène (diamètre interne 0,58 mm/diamètre externe 0,96 mm ; Merck Biotrol) introduit sur 2 cm, rempli d'une solution héparinée de PBS pour la détermination de la PA moyenne (mm Hg). Un deuxième cathéter est implanté dans l'artère fémorale gauche pour permettre le prélèvement de sang (100 µl pour la détermination du pH, et des gaz du sang à 3 reprises au cours du protocole).

La réalisation de l'anesthésie et la mise en place des différents cathéters sur l'animal dure 30 min.

32) Réalisation de la fenêtre crânienne pour la mesure du diamètre interne des artérioles cérébrales

La tête de l'animal est maintenue dans une table à stéréotaxie et une incision de 1 cm est effectuée sur la peau pour dégager le crâne. Ensuite un rebord en ciment dentaire (TAB 2000, KerrHawe SA, Bioggio, Suisse) est construit autour de l'os pariétal gauche et une arrivée et une évacuation sont aménagées pour permettre la superfusion de la surface exposée du cerveau par du liquide céphalo-rachidien artificiel (LCR, en mmol/L : KCl, 3,0 ; MgCl₂, 0,6 ; CaCl₂, 1,5 ; NaCl, 131,9 ; NaHCO₃, 24,6 ; urée, 6,7 ; glucose, 3,7) équilibré par un mélange gazeux (5% CO₂-95% N₂) à pH = 7,40 (Dupuis et coll., 2004) (Figure 10). La craniotomie est réalisée au dessus du cortex pariétal gauche. Après arrêt des saignements provenant des vaisseaux de la dure-mère avec du chlorure de fer III hexahydraté, celle-ci est retirée à l'aide de pinces fines pour permettre la visualisation des vaisseaux cérébraux et le passage de substances (Figure 10). Les artérioles cérébrales étudiées sont les artérioles de cinquième à septième ordre à partir de l'artère cérébrale moyenne (Dupuis et coll., 2004). Elles sont observées *via* un microscope (Stemi 200-C, Carl Zeiss Jena GMBH, Jena, Allemagne) connecté à un système vidéo, permettant d'obtenir un grossissement final de 600x (Figure 10). Les images sont ensuite numérisées et le diamètre artériolaire mesuré grâce à un logiciel adapté (Saisam®, Microvision Instruments, Evry, France). La précision finale de ce système est de 0,8 µm (un pixel correspond à 0,8 µm).

Le diamètre interne (DI) des artérioles cérébrales est mesuré, après une période de stabilisation de 30 min. La viabilité de l'artériole est vérifiée quantitativement par un test de vasodilatation au nitroprussiate de sodium (NPS) réalisé en fin de protocole. La réponse vasodilatatrice attendue est de l'ordre de $+80 \pm 5$ % par rapport au diamètre de l'artériole avant passage du NPS (Chan et coll., 2008). Les rats pour lesquels la dilatation au NPS était inférieure à 40 % du DI de base ont été écartés.

La durée de la réalisation d'une fenêtre crânienne et l'isolement d'une artériole cérébrale est d'environ 75 minutes.

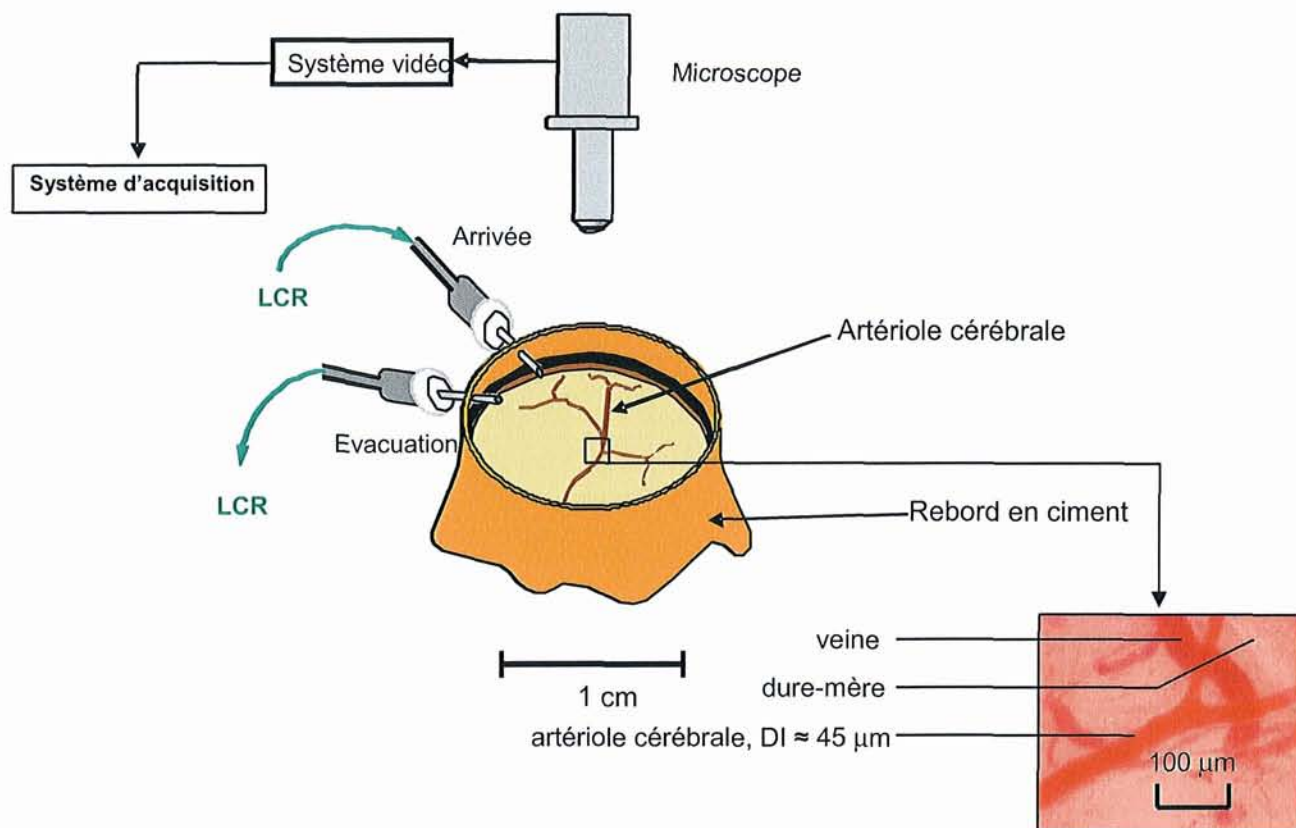


Figure 10 : Schéma de la fenêtre crânienne, avec la circulation de liquide céphalo-rachidien artificiel, le microscope et le système d'acquisition et aperçu d'une artériole cérébrale.

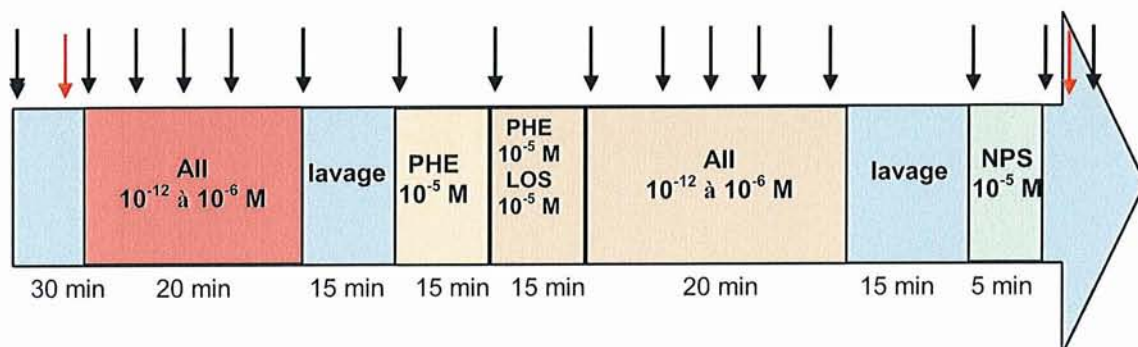
33) Protocole d'étude de la réactivité cérébro-artériolaire

Le LCR est perfusé dans la fenêtre crânienne au moyen d'une pompe (Ismatec, Bioblock Scientific, Illkirch, France) à un débit de 2,5 mL/min (renouvellement du volume de la fenêtre : 2 fois/min). Après la période de stabilisation de 30 min, les substances étudiées, préparées avec du LCR, sont administrées directement dans la fenêtre crânienne selon le protocole de perfusion décrit Figure 11.

Une première courbe concentration-réponse à l'AII est réalisée par le passage successif de solutions d'AII à concentrations croissantes (10^{-12} , 10^{-10} , 10^{-8} , 10^{-6} M, toutes les 5 min) afin d'observer la vasoconstriction concentration-dépendante liée à l'AII. La fenêtre crânienne est ensuite lavée pendant 15 min avec le LCR afin d'éliminer toute trace d'AII et permettre ainsi à l'artériole cérébrale de retrouver son diamètre initial. La réponse à la phényléphrine (PHE) est ensuite étudiée après 15 min de perfusion à la

concentration de 10^{-5} M (Gonzalez et coll., 2005) La perfusion de PHE est maintenue pendant 15 min supplémentaire, en présence de losartan (10^{-5} M) (Gonzalez et coll., 2005 ; Kwan et coll., 2008), afin de maintenir l'artériole en pré-contriction et ainsi mieux observer la vasodilatation All-dépendante (seconde courbe concentration-réponse) attendue suite au blocage des récepteurs AT_1 . Après un second lavage de la fenêtre (15 min), une perfusion de NPS est réalisée afin d'obtenir une réponse vasodilatatrice de référence.

Le DI artériolaire est mesuré à la fin du passage d'une substance dans la fenêtre (mesure indiquée par la flèche ↓ sur la Figure 11). Les valeurs de PA moyenne et fréquence cardiaque (FC) sont mesurées avant et après perfusion dans la fenêtre crânienne des différentes substances. Les valeurs de gaz du sang sont mesurées régulièrement (mesure indiquée par la flèche ↓ sur la Figure 11) au cours de l'expérimentation afin de s'assurer de l'oxygénation correcte de l'animal.



All : angiotensine II ; PHE : phényléphrine ; LOS : losartan ; NPS : Nitroprussiate de Sodium.

Figure 11 : Protocole de perfusion des substances dans la fenêtre crânienne pour l'étude de la vasoréactivité cérébro-artériolaire.

34) Prélèvement et euthanasie

En fin d'expérience, 3,5 mL de sang est prélevé par le biais du cathéter artériel fémoral dans des tubes héparinés (2,5 mL) (68 UI ; BD Vacutainer®, Plymouth, UK) et dans des tubes avec EDTA (1 mL) (BD Vacutainer®, Plymouth, UK). Ces tubes sont ensuite centrifugés à 1400 g pendant 10 min. Le plasma est prélevé et placé au congélateur à -80°C en vue de dosages biochimiques (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Cl^- , urée, créatinine et aldostérone plasmatiques) (paragraphe I) 4)) et des éléments indicateurs de l'activité du SRAA : aldostérone plasmatique.

L'animal est ensuite sacrifié par un surdosage de pentobarbital (250 mg/kg). La mort de l'animal est constatée par arrêt cardiaque. Depuis l'anesthésie jusqu'au sacrifice de l'animal, l'ensemble de l'expérimentation s'étend sur une durée de 5h. Des études précédentes du laboratoire ont montré une stabilité du DI artériolaire et de la réactivité au NPS durant 5h après isolement de l'artériole cérébrale.

35) Substances utilisées

Le mélange CO₂/N₂ (5% CO₂, 95% N₂) provient d'Air Liquide (Nancy, France), le pentobarbital sodique de Sanofi Santé Animale (Libourne, France), le furosémide (Lasilix®) de Sanofi-Aventis (Paris, France) ; le losartan est un don des Laboratoires Merck, Sharp & Dohme (Rahway, NJ, USA). Tous les autres produits proviennent de Sigma-Aldrich (Sigma-Aldrich, St Quentin Fallavier, France).

Des solutions mères d'AlI (10^{-3} M) sont préparées dans de l'eau ultrapure et conservées sous forme d'aliquots de 60 µl à -20°C. Les dilutions avec de la BSA (« Bovin Serum Albumin ») 0,1% sont préparées extemporanément dans du LCR. La BSA a pour rôle de prévenir l'adhérence de l'AlI aux parois des tuyaux du système de perfusion. Les solutions mères de PHE (10^{-2} M) et de losartan (10^{-2} M) sont préparées dans de l'eau ultrapure. Les dilutions sont préparées extemporanément dans du LCR. Les solutions de NPS sont préparées extemporanément dans du LCR.

4) DOSAGE DU Na^+ , DU K^+ , DU Ca^{2+} , DU Cl^- , DE LA CREATININE, DE L'UREE ET DE L'ALDOSTERONE

Les dosages biochimiques plasmatiques présents dans le tableau 4 ont été réalisés par le Service de Biochimie et de Biologie Moléculaire du Pr. J.-L. OLIVIER, à l'Hôpital Central du CHU de Nancy. Le dosage de l'aldostérone plasmatique a été réalisé par Radio Immuno Assay (RIA) par le Dr B. DOUSSET, Professeur hospitalier au sein du Service du Pr. J.-L. OLIVIER, à l'Hôpital Central du CHU de Nancy. Les concentrations urinaires en Na^+ sont mesurées par spectrophotométrie de flamme (modèle PFP7, Jenway, Dunmow, Essex, UK) à la longueur d'onde de 589 nm pour l'ion sodium avec l'aide du Dr P. GIUMMELLY, Ingénieur d'Etudes du laboratoire.

La clairance de la créatinine a été calculée à partir des valeurs de créatinine plasmatique et urinaire et de la diurèse obtenues pour chaque rat selon la formule :

$$\text{Clairance}_{(\text{créatinine})} (\text{mL/min}) = \frac{[\text{Créatinine Urinaire } (\mu\text{mol/L}) \times \text{Diurèse (mL)} + 1440 (\text{min})]}{\text{Créatinine plasmatique } (\mu\text{mol/L})}$$

5) EXPRESSION DES RESULTATS ET ANALYSES STATISTIQUES

Tous les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart standard à la moyenne ($m \pm \text{esm}$). Une analyse de variance (ANOVA) à 2 facteurs est utilisée afin de déterminer comment les réponses obtenues sont affectées par le facteur temps (4 jours et 30 jours) et le facteur régime (NSD, HSD, VHSD, LSD+Furo). Dans le cas d'interaction temps x régime significative, l'ANOVA 2 facteurs est suivie du post-test de Bonferroni qui détermine l'existence ou non de différences entre chaque groupe, deux à deux. Le niveau de probabilité pour le rejet d'une hypothèse nulle est de $p < 0,05$.

En ce qui concerne la balance sodée (Na^+ ingéré - Na^+ excrété), celle-ci étant positive (et non neutre) dans les groupes NSD (voir résultats), elle a été exprimée en différence par rapport au groupe NSD du même jour.

Les résultats issus des mesures de DI artériolaires sont indiqués sous forme de variation de diamètre exprimée en pourcentage par rapport au DI mesuré avant administration des substances.

Les courbes concentration-réponse à l'All sont modélisées, à partir des points expérimentaux, en suivant un modèle logistique à 4 facteurs : minimum (E_{\min}), maximum (E_{\max}), pente et point d'inflexion (EC_{50}) à l'aide du logiciel Prism® version 5.01 à partir des valeurs de pourcentage de variation de DI. Pour chaque courbe concentration-réponse, 4 points sont disponibles (4 concentrations), d'où un degré de liberté de 2 ; d'après la table de Fisher, R doit être supérieur à 0,950 au seuil de significativité de 5%, soit R^2 égal à 0,9025. Par conséquent, seules les courbes concentration-réponse ayant un $R^2 > 0,9025$ sont considérées comme correctement modélisées et retenues pour déterminer la concentration à laquelle l'All induit 50% de l'effet maximal (EC_{50}), l'effet maximal (E_{\max}) et l'effet minimal (E_{\min}).

L' E_{\max} de la vasoconstriction à l'All est également exprimé par rapport à la réponse à la PHE afin de normaliser la réponse par rapport à une référence vasoconstrictrice pour chacun des rats.

II - RESULTATS

1) VASOREACTIVITE DES ARTERIOLES CEREBRALES DES RATS DE LA SERIE « MISE AU POINT »

L'apprentissage de la technique de la fenêtre crânienne a nécessité l'utilisation de 60 rats (série « mise au point ») sur 3 mois. Les 48 premiers n'ont pas permis d'obtenir une vasoréactivité suffisante à l'All (vasoconstriction maximale de 5% en absence de losartan et pas de vasodilatation en présence de losartan).

Outre l'acquisition d'une expertise chirurgicale plus fine, différentes améliorations du protocole ont été apportées, dont les principales sont :

- adaptation du circuit de perfusion de l'All en terme de température : en effet, l'All est un peptide thermosensible au-dessus de 45°C. Tout le protocole était donc, au départ, réalisé à température ambiante, ce qui a pu limiter la vasoréactivité des artérioles cérébrales. Nous avons donc optimisé le système de perfusion (bain marie à 40°C, pour ne pas dégrader l'All ; raccourcissement des tuyaux de distribution pour limiter les pertes calorifiques) afin de maintenir la fenêtre crânienne en continu, y compris pendant la phase de perfusion de l'All, à 37°C.
- décalage du test de vasodilatation au NPS en fin d'expérience : en effet, la variation importante de diamètre imposé par ce test – réalisé initialement en début d'expérience pour valider la réactivité artériolaire - altérerait la réactivité de l'artériole pour le reste des expérimentations.

Suite à ces améliorations, l'ensemble du protocole a été appliqué avec succès sur 12 rats. Les valeurs de DI artériolaire de base et de vasoréactivité à la PHE et au NPS (Tableau 3) sont similaires à celles obtenues auparavant au laboratoire pour des rats de même souche et âge.

La réponse vasoconstrictrice (en absence de losartan) et vasodilatatrice (en présence de losartan) à l'All (Figure 12, Tableau 3) sont également proches de celles obtenues l'année précédente au laboratoire (Kwan et coll., 2008). La réponse vasoconstrictrice des artérioles cérébrales à l'All est concentration-dépendante et suit l'équation logistique à 4 facteurs avec un effet maximal $E_{max} = -10,5 \pm 0,7 \%$ ($-13,5 \pm 0,5 \%$, Kwan et coll., 2008). La réponse vasodilatatrice est également concentration-dépendante avec $E_{max} = 7 \pm 2 \%$ ($5,5 \pm 0,4 \%$, Kwan et coll., 2008).

Tableau 3 : Pression artérielle moyenne (PAM), fréquence cardiaque (FC), diamètre interne (DI) artériolaire de base, variations de DI à la phényléphrine (PHE) et au nitroprussiate de sodium (NPS) ($m \pm \text{esm}$) et moyenne des E_{max} et $\log EC_{50}$, déterminés pour chaque rat par le modèle logistique à 4 facteurs, pour les réponses vasoconstrictrices et vasodilatatrices à l'angiotensine II (AII) (respectivement en absence et en présence de losartan, 10^{-5} M) chez des rats mâles adultes Wistar contrôles ($n = 12$ rats)

PAM (mm Hg) 108 ± 3

FC (bpm) 403 ± 8

DI artériolaire (μm) 44 ± 2

Réponse à la PHE (variation de DI, %) -6 ± 1

Réponse au NPS (variation du DI, %) $+ 114 \pm 7$

Réponse vasoconstrictrice à l'AII en absence de losartan (10^{-5} M)

E_{max} (variation du DI, %) $-10,5 \pm 0,7$

$\log EC_{50}$ $-9,0 \pm 0,4$

Réponse vasodilatatrice à l'AII en présence de losartan (10^{-5} M)

E_{max} (variation du DI, %) $+ 7 \pm 2$

$\log EC_{50}$ $-9,0 \pm 0,5$

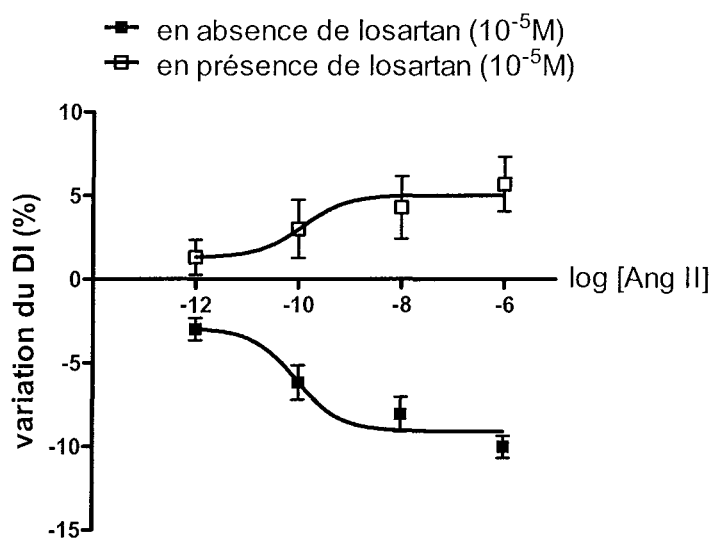


Figure 12 : Courbes concentration-réponse vasoconstrictrice (carrés noirs) et vasodilatatrice (carrés blancs) à l'angiotensine II (AII) (respectivement en absence et en présence de losartan, 10^{-5} M) chez des rats mâles adultes Wistar contrôles. Chaque point correspond à la moyenne ($m \pm \text{esm}$, $n = 12$ rats par groupe) des réponses individuelles à chaque concentration. Les courbes (traits pleins) correspondent à la représentation graphique de la modélisation logistique à 4 facteurs appliquée à ces valeurs moyennes.

2) EFFETS DES REGIMES VARIES EN SODIUM SUR L'EVOLUTION DU POIDS CORPOREL, DES CONSOMMATIONS HYDRIQUE ET ALIMENTAIRE ET SUR LA BALANCE SODEE

Les résultats ont été obtenus à partir des animaux de la deuxième série, suivis en cages métaboliques.

21) Evolution du poids corporel et des consommations alimentaire et hydrique au cours des 30 jours de régimes

A J_0 , les poids corporels, ainsi que les consommations hydrique *et* alimentaire sont identiques dans tous les groupes (Figure 13). La croissance pondérale au cours des 30 jours ($p_{\text{temps}} < 0.0001$) est identique ($4,2 \pm 0,6$ g/jour) pour tous les groupes ($p_{\text{régime}} = 0,116$; $p_{\text{régime} \times \text{temps}} = 0,976$). Ainsi, à J_{29} , le poids corporel moyen des animaux est de 465 ± 8 g.

La consommation alimentaire diminue avec le temps (de 96 ± 3 à J_0 à 58 ± 4 g/jour/kg de poids corporel à J_{29} , $p_{\text{temps}} < 0.0001$), mais de façon identique dans tous les groupes ($p_{\text{régime}} = 0,338$, $p_{\text{régime} \times \text{temps}} = 0,118$).

La consommation hydrique reste globalement inchangée au cours du temps ($p_{\text{temps}} = 0.940$, $p_{\text{régime} \times \text{temps}} = 0,178$), avec un niveau légèrement supérieur dans les groupes HSD, VHSD et LSD+Furo ($p_{\text{régime}} = 0,002$). Cependant, le post-test de Bonferroni n'indique une significativité que pour le groupe VHSD *versus* le groupe NSD à J_{15} .

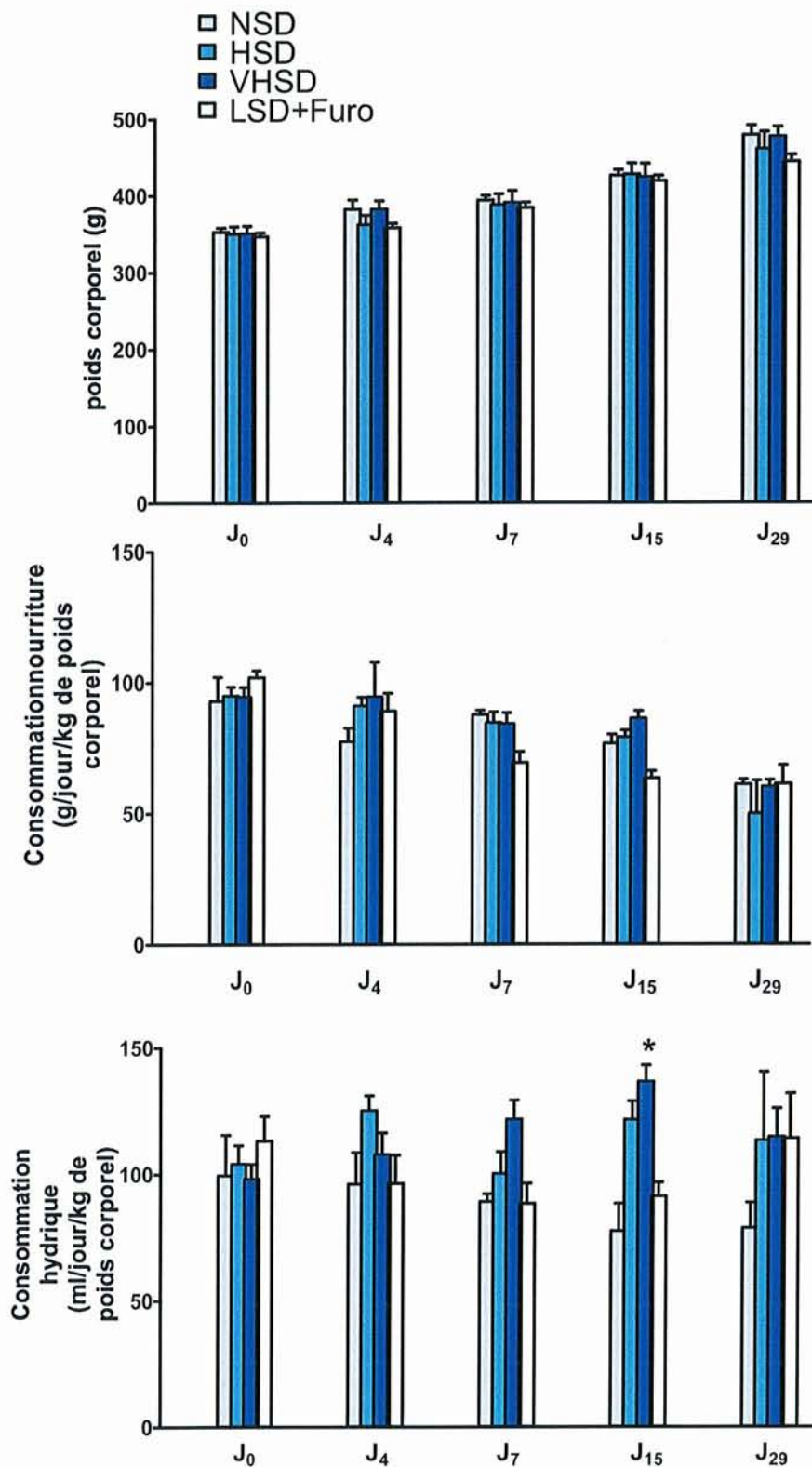


Figure 13 : Poids corporel, consommation alimentaire et hydrique ($m \pm \text{esm}$) de rats Wistar au cours des 30 jours d'un régime alimentaire et hydrique normal ou modifié en Na^+ (associé à une administration hebdomadaire de furosémide (20 mg/jour/kg de poids corporel) pour le groupe « low salt diet ») ($n = 5$ rats par groupe). * : $p < 0,05$ versus groupe NSD au même jour

22) Evolution du Na^+ ingéré, de la diurèse, de la concentration urinaire de Na^+ et du Na^+ excrété au cours des 30 jours de régimes.

A J_0 , avant la mise en route des régimes, le taux de Na^+ ingéré, ainsi que la diurèse, la concentration urinaire de Na^+ et le taux de Na^+ excrété sont similaires dans tous les groupes (Figure 14).

Dès J_4 et tout au long des 30 jours, le taux de Na^+ ingéré est multiplié par 2 dans le groupe HSD, par 4 dans le groupe VHSD et divisé par 6 dans le groupe LSD+Furo (Figure 14, $p_{\text{temps}} < 10^{-4}$, $p_{\text{régime}} < 10^{-4}$, $p_{\text{régime} \times \text{temps}} < 10^{-4}$) par rapport au groupe NSD.

La diurèse (volume d'urine émise/jour/kg de poids corporel) évolue dans le temps ($p_{\text{temps}} = 0,007$), de façon différente selon les groupes ($p_{\text{régime} \times \text{temps}} = 0,005$). Elle reste globalement stable dans le groupe NSD et augmente dans les autres groupes ($p_{\text{régime}} < 10^{-4}$), significativement pour le groupe VHSD à partir de J_7 .

La concentration urinaire de Na^+ évolue dans le temps ($p_{\text{temps}} = 0,003$) différemment selon les groupes ($p_{\text{régime} \times \text{temps}} = 0,007$). Elle reste stable dans le groupe NSD et dans le groupe HSD, augmente dans le groupe VHSD à J_4 et J_{29} et diminue dans le groupe LSD+Furo dès J_4 ($p_{\text{régime}} < 10^{-4}$).

Le taux de Na^+ excrété (concentration urinaire de Na^+ x volume d'urine émise/jour/kg de poids corporel) reste stable dans le groupe NSD tout au long des 30 jours. Ce taux est globalement multiplié par 2 dans le groupe HSD, par 4,6 dans le groupe VHSD et divisé par 2 dans le groupe LSD+Furo (sans atteindre la significativité dans ce dernier cas) ($p_{\text{temps}} = 0,001$, $p_{\text{régime}} < 10^{-4}$, $p_{\text{régime} \times \text{temps}} < 10^{-4}$) par rapport au groupe NSD.

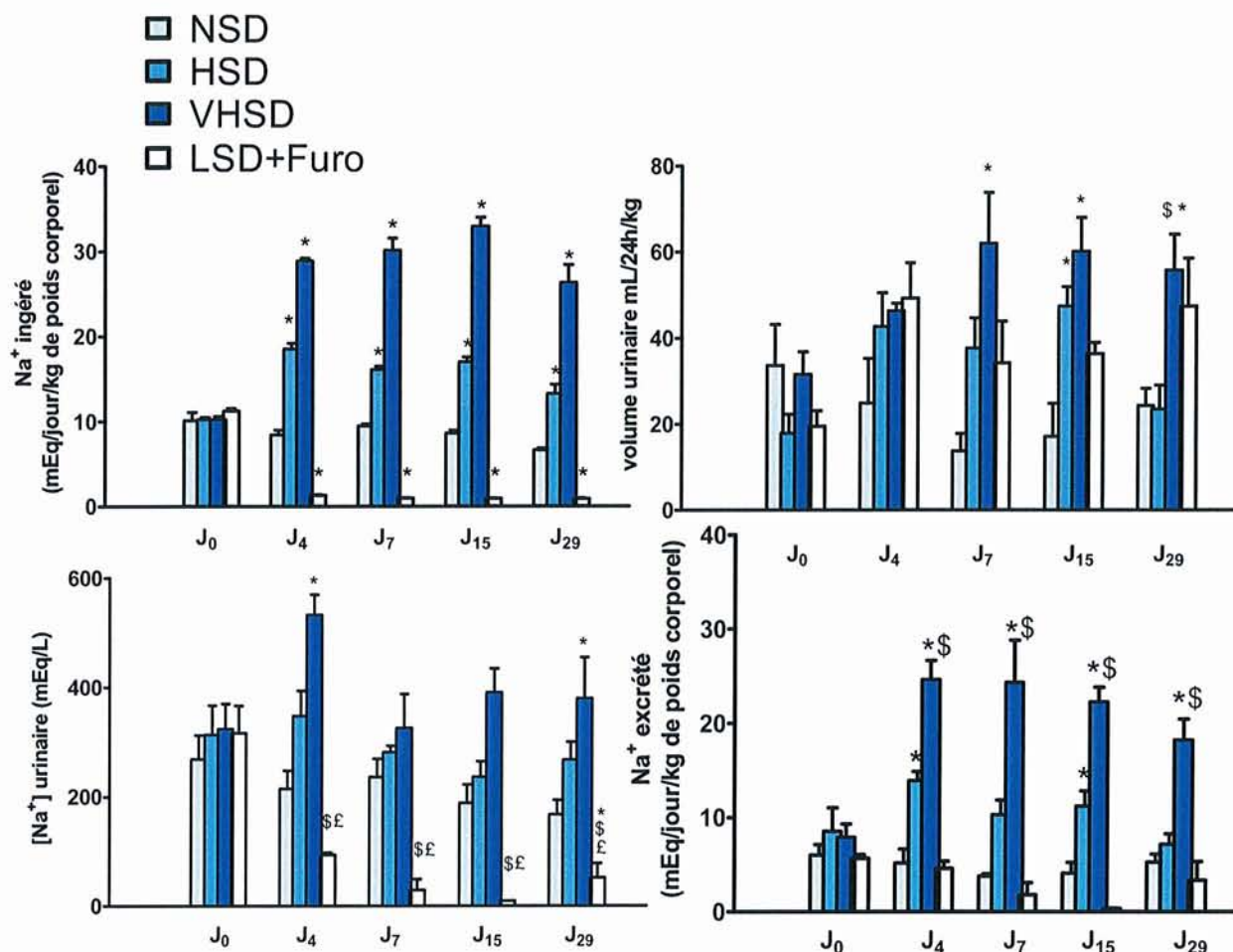


Figure 14 : Taux de Na⁺ ingéré, diurèse, concentration urinaire de Na⁺ et taux de Na⁺ excrété ($m \pm esm$) de rats Wistar au cours des 30 jours d'un régime alimentaire et hydrique normal ou modifié en Na⁺ (associé à une administration hebdomadaire de furosémide (20 mg/jour/kg de poids corporel) pour le groupe « low salt diet ») (n = 5 rats par groupe). *: p < 0,05 *versus* groupe NSD au même jour ; \$: p < 0,05 *versus* groupe HSD au même jour ; £ : p < 0,05 *versus* groupe VHSD au même jour.

23) Evolution de la balance sodée au cours des 30 jours de régime

A J₀, la balance sodée (taux de Na⁺ ingéré – excrété) calculée pour l'ensemble des rats de la série « balance sodée », qui ne sont à ce moment (J₁ à J₀) pas encore soumis aux régimes alimentaires et hydriques, est de $3,9 \pm 0,6$ mEq/jour/kg de poids corporel.

De J₄ à J₂₉, la balance sodée (exprimée en différence par rapport au groupe NSD du même jour, Figure 15) évolue dans le temps ($p_{\text{temps}} = 0,0007$), de façon différente selon les groupes ($p_{\text{régime}} < 10^{-4}$, $p_{\text{régime} \times \text{temps}} < 10^{-4}$). Elle reste stable dans le groupe NSD, et également dans le groupe HSD jusqu'à J₁₅ puis augmente à J₂₉ dans le groupe HSD. Elle augmente également significativement pour le groupe VHSD à partir de J₁₅. Dans le groupe LSD+Furo, elle est significativement négative à J₄ et J₇ puis reste négative (mais non significativement) à J₁₅ et J₂₉ (Figure 15).

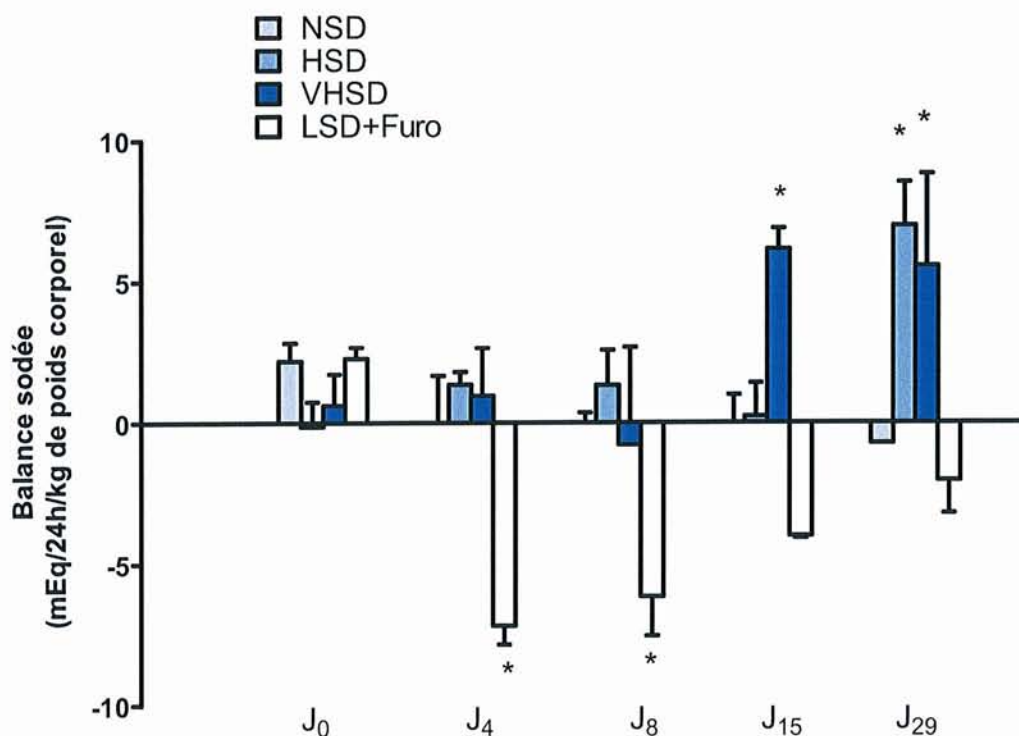


Figure 15 : Balance sodée, exprimée en différence par rapport au groupe NSD du même jour ($m \pm \text{esm}$) de rats Wistar au cours des 30 jours d'un régime alimentaire et hydrique normal ou modifié en Na⁺ (associé à une administration hebdomadaire de furosémide (20 mg/jour/kg de poids corporel) pour le groupe « low salt diet ») ($n = 5$ rats par groupe). * : $p < 0,05$ *versus* groupe NSD au même jour

3) EFFETS DES REGIMES VARIES EN SODIUM SUR LES PARAMETRES HEMODYNAMIQUES ET LA REACTIVITE DES ARTERIOLES CEREBRALES

La PA moyenne, la FC, le pH et les gaz du sang de base sont similaires dans l'ensemble des groupes et sont comparables entre J₄ et J₃₀ (p > 0,05) (Tableau 4). Ces paramètres sont stables au cours de l'expérimentation.

La concentration plasmatique de Na⁺ (valeur moyenne 141 ± 2 mEq/L), de K⁺ (valeur moyenne 4,2 ± 0,4 mEq/L) et de Ca²⁺ (valeur moyenne 2,4 ± 0,1 mmol/L) sont identiques dans tous les groupes.

La concentration plasmatique de Cl⁻ (valeur moyenne 105 ± 3 mmol/L) est identique pour l'ensemble des groupes sauf pour le groupe VHSD 30 jours qui présente une chlorémie significativement plus basse par rapport au groupe contrôle NSD 30 jours.

L'aldostérone plasmatique est significativement augmentée dans les groupes LSD + Furo. Dans les autres groupes la valeur moyenne d'aldostérone plasmatique est de 11 ± 7 ng/dL. On observe une tendance à la diminution du niveau d'aldostérone plasmatique dans les groupes hypersodés 30 jours mais elle n'est pas significative.

La créatinine plasmatique (valeur moyenne 45 ± 5 µmol/L) est identique pour l'ensemble des groupes sauf pour le groupe HSD 4 jours qui présente une créatininémie significativement plus basse par rapport au groupe contrôle NSD 4 jours.

La clairance de la créatinine (valeur moyenne 1,12 ± 0,07 mL/min) est identique pour l'ensemble des groupes et est comparable entre J₄ et J₃₀.

L'urée plasmatique varie avec un régime sodé : le groupe LSD + Furo à 4 jours présente une urémie significativement plus élevée par rapport au groupe contrôle NSD 4 jours (x 1,4). L'urémie dans les autres groupes est identique (valeur moyenne 6 ± 1 mmol/L).

Les diamètres interne artériolaire de base (valeur moyenne 45,2 ± 0,9 µm) sont identiques dans tous les groupes et comparables entre J₄ et J₃₀.

Tableau 4 : Pression artérielle moyenne (PAM), fréquence cardiaque (FC), pH et gaz du sang, diamètre interne (DI) artériolaire de base, ionogramme, concentration plasmatique de créatinine, d'urée, clairance de la créatinine et concentration plasmatique d'aldostérone ($m \pm esm$) chez des rats Wistar anesthésiés, 4 et 30 jours après un régime alimentaire et hydrique normal ou modifié en Na^+ (associé à une administration hebdomadaire de furosémide (20 mg/jour/kg de poids corporel) pour le groupe « low salt diet ») ($n = 6$ à 9 rats par groupe). * : $p < 0,05$ versus groupe NSD au même temps.

	<u>NSD</u>	<u>HSD</u>	<u>VHSD</u>	<u>LSD+Furo</u>	<u>P_{temps}</u>	<u>P_{régime}</u>	<u>P_{régime x temps}</u>
PAM (mm Hg)							
4 jours	106 \pm 4	103 \pm 5	103 \pm 3	107 \pm 4	0,29	0,84	0,95
30 jours	109 \pm 4	105 \pm 3	110 \pm 6	109 \pm 3			
FC (bpm)							
4 jours	405 \pm 11	387 \pm 8	425 \pm 5	390 \pm 17	0,26	0,55	0,16
30 jours	400 \pm 11	380 \pm 19	375 \pm 6	406 \pm 10			
pH							
4 jours	7,54 \pm 0,01	7,59 \pm 0,01	7,55 \pm 0,01	7,59 \pm 0,04	0,11	0,46	0,05
30 jours	7,55 \pm 0,01	7,55 \pm 0,01	7,57 \pm 0,01	7,52 \pm 0,01			
pCO ₂ (mm Hg)							
4 jours	27 \pm 1	23 \pm 1	25 \pm 1	21 \pm 3	0,67	0,27	0,29
30 jours	26 \pm 1	25 \pm 1	23 \pm 1	25 \pm 2			
pO ₂ (mm Hg)							
4 jours	90 \pm 5	91 \pm 2	96 \pm 7	91 \pm 5	0,92	0,86	0,99
30 jours	91 \pm 3	89 \pm 5	94 \pm 4	92 \pm 7			
Na ⁺ plasmatique (mEq/L)							
4 jours	142,3 \pm 0,3	140,3 \pm 0,3	141 \pm 1	141,5 \pm 0,5	0,23	0,62	0,23
30 jours	141 \pm 1	142,0 \pm 0,6	139,3 \pm 0,7	140 \pm 1			
K ⁺ plasmatique (mEq/L)							
4 jours	4,4 \pm 0,3	3,9 \pm 0,1	3,6 \pm 0,2	4,9 \pm 0,5	0,61	0,02	0,40
30 jours	4,4 \pm 0,3	3,7 \pm 0,3	4,1 \pm 0,1	4,3 \pm 0,2			
Ca ²⁺ plasmatique (mmol/L)							
4 jours	2,35 \pm 0,08	2,38 \pm 0,05	2,4 \pm 0,1	2,3 \pm 0,1	<10 ⁻³	0,91	0,67
30 jours	2,50 \pm 0,08	2,45 \pm 0,05	2,53 \pm 0,03	2,53 \pm 0,03			
Cl ⁻ plasmatique (mmol/L)							
4 jours	107,8 \pm 0,8	107,3 \pm 0,7	106,5 \pm 0,5	111 \pm 1	<10 ⁻⁴	0,02	0,50
30 jours	104,5 \pm 0,5	103,0 \pm 0,6	100 \pm 2 *	104 \pm 2			
Aldostérone plasmatique (ng/dL)							
4 jours	12 \pm 3	12 \pm 3	11 \pm 7	80 \pm 16 *	<10 ⁻⁴	<10 ⁻⁴	<10 ⁻⁴
30 jours	19 \pm 3	8 \pm 2	5,4 \pm 0,8	409 \pm 36 *			
Créatinine plasmatique (μmol/L)							
4 jours	47 \pm 3	38 \pm 1 *	41 \pm 2	49 \pm 3	0,49	0,01	0,10
30 jours	48 \pm 1	41 \pm 2	47 \pm 3	43 \pm 2			
Clairance de la créatinine (mL/min)							
4 jours	0,9 \pm 0,2	1,4 \pm 0,2	1,3 \pm 0,3	1,12 \pm 0,04	0,79	0,74	0,24
30 jours	1,2 \pm 0,3	0,9 \pm 0,3	1,3 \pm 0,2	1,11 \pm 0,02			
Urée (mmol/L)							
4 jours	6,5 \pm 0,2	4,8 \pm 0,7	5,1 \pm 0,5	9,4 \pm 0,7 *	0,41	<10 ⁻⁴	0,03
30 jours	6,1 \pm 0,2	5,6 \pm 0,5	5,8 \pm 0,2	7,1 \pm 0,8			
DI artériolaire (μm)							
4 jours	42 \pm 3	47 \pm 2	46 \pm 3	51 \pm 2	0,29	0,89	0,13
30 jours	46 \pm 3	45 \pm 2	46 \pm 4	42 \pm 2			

La vasoconstriction des artéioles cérébrales à la PHE n'est pas significativement différente pour l'ensemble des groupes à J₄ et à J₃₀ ($p_{\text{régime}} = 0,751$, $p_{\text{temps}} = 0,165$, $p_{\text{régime} \times \text{temps}} = 0,311$) (valeur moyenne $-4,7 \pm 0,7$ %) (Figure 16), bien que la vasoconstriction dans le groupe LSD+Furo à J₄ soit 5 fois plus faible que celle des autres groupes.

La vasodilatation des artéioles cérébrales au NPS est similaire pour l'ensemble des groupes à J₄ et à J₃₀ ($p_{\text{régime}} = 0,711$, $p_{\text{temps}} = 0,449$, $p_{\text{régime} \times \text{temps}} = 0,114$) (valeur moyenne $+101 \pm 5$ %) (Figure 16).

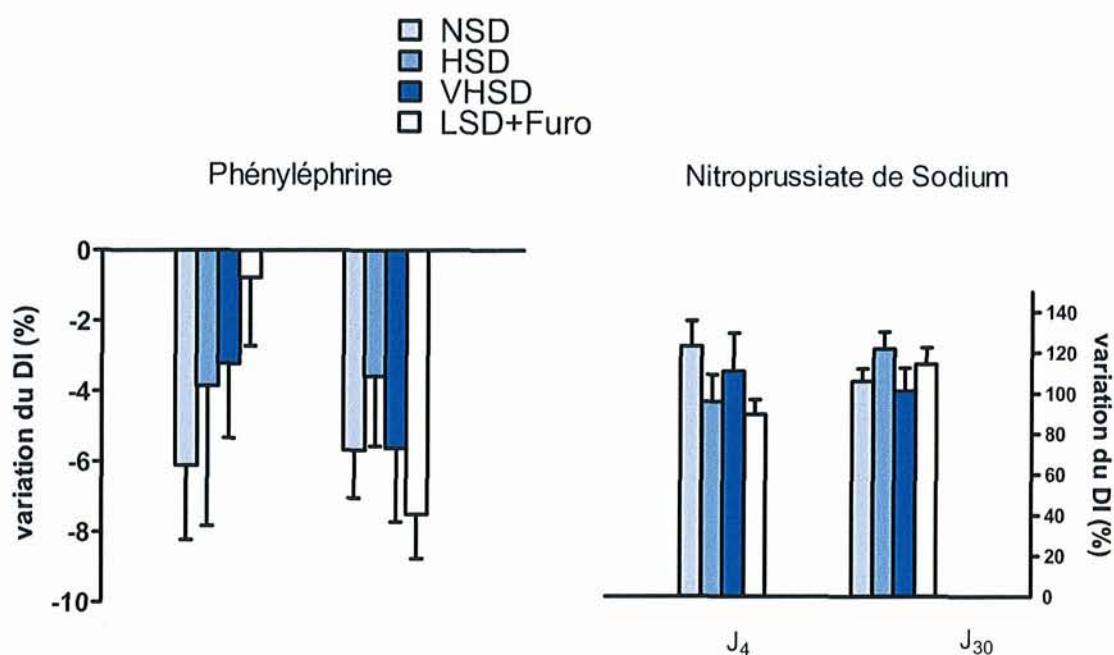


Figure 16 : Vasoconstriction et vasodilatation des artéioles cérébrales, respectivement à la phényléphrine et au nitroprussiate de sodium, chez des rats Wistar anesthésiés, 4 et 30 jours après un régime alimentaire et hydrique normal ou modifié en Na⁺ (associé à une administration hebdomadaire de furosémide (20 mg/jour/kg de poids corporel) pour le groupe « low salt diet ») (n = 6 à 9 rats par groupe)

Les courbes concentration-réponse à l'AII sont représentées Figure 17 ; les E_{max} et logEC₅₀ - obtenus pour chaque rat d'après la modélisation logistique à 4 facteurs – sont indiqués dans le Tableau 5.

En absence de losartan, l'AII induit une vasoconstriction concentration-dépendante des artéioles cérébrales. La réponse vasoconstrictrice est similaire dans tous les groupes (E_{max} moyen $-10,5 \pm 0,6$ %), excepté dans le groupe LSD+Furo à J₄. Pour ce groupe, la modélisation logistique à 4 facteurs n'a donné des valeurs d'E_{max} et de logEC₅₀ que pour 4 rats sur 6 (E_{max} $-1,7 \pm 2,2$ %). Dans tous les autres groupes, la modélisation logistique à 4 facteurs donne une valeur d'E_{max} et de logEC₅₀ pour chaque rat (Tableau 5).

L'expression des résultats (E_{\max}) de vasoconstriction à l'All par rapport à la réponse à la PHE donne des réponses similaires (valeur moyenne - 158 ± 30 %) pour tous les groupes à J₄ comme à J₃₀ ($p_{\text{régime}} = 0,306$, $p_{\text{temps}} = 0,739$, $p_{\text{régime} \times \text{temps}} = 0,565$).

En présence de losartan, l'All induit une vasodilatation concentration-dépendante des artérioles cérébrales dans les groupes NSD seulement, à J₄ ($E_{\max} +8 \pm 2\%$, $\log EC_{50} -9,6 \pm 0,5$) et à J₃₀ (E_{\max} moyen $+8 \pm 3\%$, $\log EC_{50} -8,5 \pm 0,8$). Dans tous les autres groupes, la modélisation logistique à 4 facteurs n'a pas pu établir les valeurs de E_{\max} et de $\log EC_{50}$ pour aucun des rats (ou au mieux 2 à 3 par groupe).

- en absence de losartan (10^{-5} M)
- en présence de losartan (10^{-5} M)

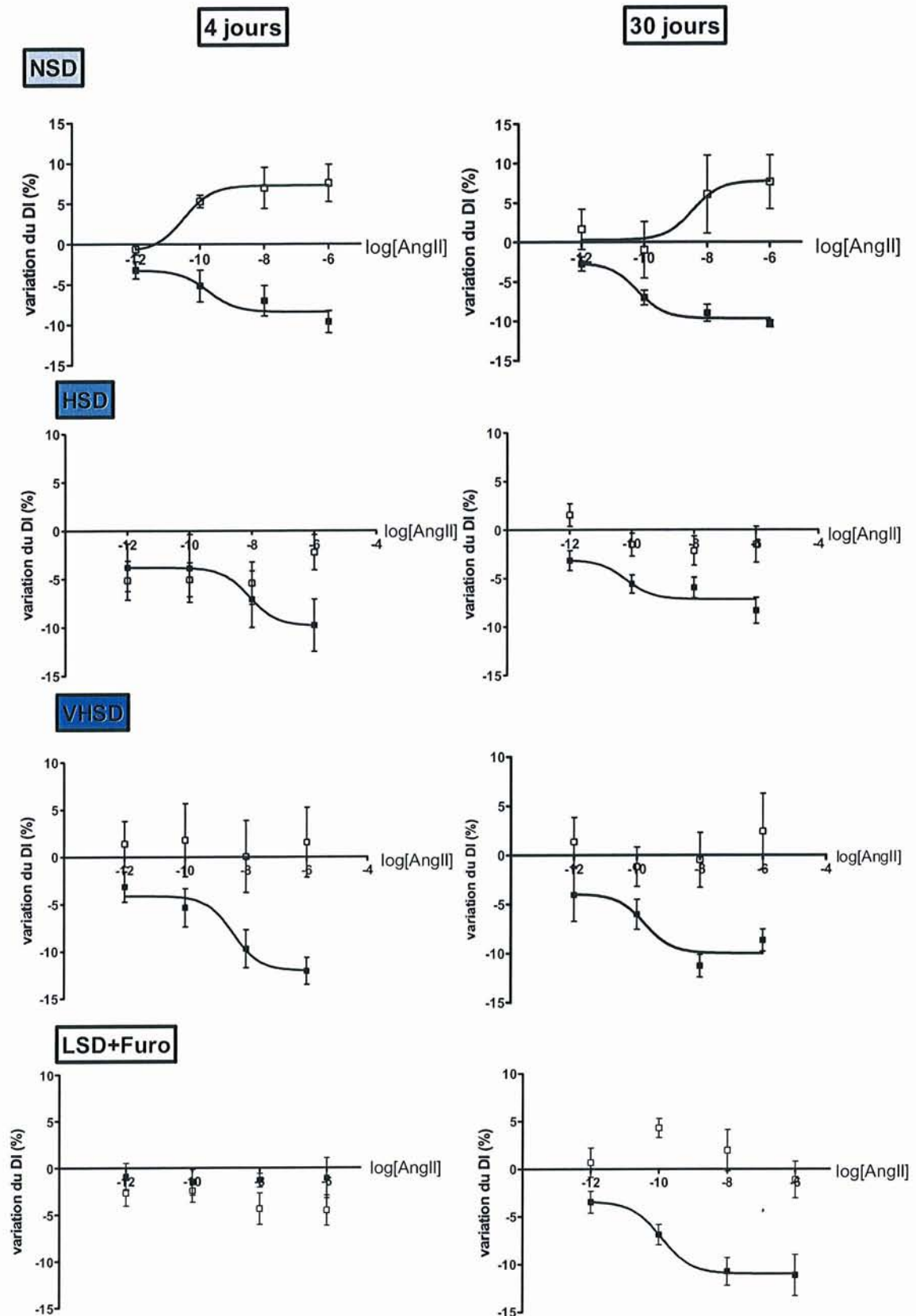


Figure 17 : Courbes concentration-réponse vasoconstrictrices (carrés noirs) et vasodilatatrices (carrés blancs) à l'angiotensine II (AngII) (respectivement en absence et en présence de losartan, 10^{-5} M) chez des rats Wistar anesthésiés, 4 et 30 jours après un régime alimentaire et hydrique normal ou modifié en Na^+ (associé à une administration hebdomadaire de furosémide (20 mg/jour/kg de poids corporel) pour le groupe « low salt diet »). Chaque point correspond à la moyenne ($m \pm \text{esm}$, $n = 6$ à 9 rats par groupe) des réponses individuelles à chaque concentration. Les courbes (traits pleins) correspondent à la représentation graphique de la modélisation logistiquie à 4 facteurs appliquée à ces valeurs moyennes.

Tableau 5 : Moyenne ($m \pm \text{esm}$) des E_{max} et $\log EC_{50}$, déterminés pour chaque rat par le modèle logistique à 4 facteurs, pour les réponses vasoconstrictrices à l'angiotensine II (AII) (en absence de losartan) chez des rats Wistar anesthésiés, 4 et 30 jours après un régime alimentaire et hydrique normal ou modifié en Na^+ (associé à une administration hebdomadaire de furosémide (20 mg/jour/kg de poids corporel) pour le groupe « low salt diet ») ($n = 6$ à 9 rats par groupe). * : $p < 0,05$ versus groupe NSD du même jour.

	<u>NSD</u>	<u>HSD</u>	<u>VHSD</u>	<u>LSD+Furo</u>	<u>P_{temps}</u>	<u>P_{régime}</u>	<u>P_{régime x temps}</u>
<u>E_{max} (variation du diamètre de base, %)</u>							
4 jours	-10 ± 1	-10 ± 3	-13 ± 1	-2 ± 2 *	0,345	0,033	0,003
30 jours	-10 ± 1	-9 ± 1	-10 ± 1	-11 ± 2			
<u>logEC₅₀</u>							
4 jours	-8,8 ± 0,6	-8,9 ± 0,6	-8,9 ± 0,5	-9,0 ± 0,8	0,105	0,978	0,948
30 jours	-9,6 ± 0,4	-9,5 ± 0,4	-9,7 ± 0,4	-9,3 ± 0,5			

III - DISCUSSION

Le but de cette étude était de déterminer l'impact d'un changement de la balance sodée sur la vasoréactivité à l'All d'artérioles cérébrales *in situ*. Selon notre hypothèse de travail, les résultats attendus étaient qu'une balance sodée positive s'accompagne d'une augmentation de la vasoconstriction All-dépendante et d'une moindre réponse dilatatrice All-dépendante en présence d'un blocage des récepteurs AT_1 ; et inversement pour le cas d'une balance sodée négative.

Les résultats obtenus montrent que les modifications du régime alimentaire et hydrique et le traitement pendant 4 et 30 jours s'accompagnent bien des variations attendues de la balance sodée. Celle-ci se maintient négative dans le groupe LSD+Furo jusqu'à 30 jours, et s'élève dans les groupes HSD et VHSD à partir de J₁₅.

Malgré ces changements de balance sodée, la réponse vasoconstrictrice à l'All (en absence de losartan) s'avère être la même pour l'ensemble des groupes, excepté pour le groupe LSD+Furo à 4 jours où la contraction artériolaire est quasi inexistante. En présence de losartan, la réponse vasodilatatrice à l'All est inexistante pour l'ensemble des groupes (sauf les groupes NSD).

1) MODELE DE MODIFICATION DE LA BALANCE SODEE

Le premier objectif de ce travail était le développement et la caractérisation d'un modèle de modification de la balance sodée, positive et négative. Avant de discuter des résultats obtenus suite aux régimes instaurés, plusieurs points d'ordre méthodologique sont à évoquer.

Dans cette étude, la diurèse ne correspond qu'à un tiers du volume d'eau absorbée par les rats placés en cages métaboliques. Une différence entre diurèse et consommation hydrique a également été rapportée dans d'autres travaux, mais à un degré moindre (diurèse = moitié de la consommation hydrique) (Hendel et Collister, 2005 ; Thiesson et coll., 2007). Cette observation amène plusieurs questions quant à la validité du recueil des urines de 24h. Effectivement, l'utilisation de cages métaboliques génère des erreurs, liées à l'évaporation des urines s'écoulant lentement sur une grande surface de contact avant collection dans l'éprouvette. En parallèle, une partie des urines a pu être absorbée par la poudre de nourriture issue de la friabilité des croquettes. Ces erreurs sont difficiles à apprécier et pourraient conduire à sous-estimer la quantité de Na^+ excrété, par défaut de volume urinaire. Il aurait fallu corriger la diurèse par la créatininurie, qui est un paramètre dépendant de la masse musculaire et donc relativement constant pour des rats de même poids.

Malgré la différence entre diurèse et consommation hydrique, la croissance pondérale des rats de la présente étude suit une évolution normale (par rapport aux données fournisseur, pour des rats de même souche, sexe et âge). Ils ne présenteraient donc pas de rétention hydrique.

La sous-estimation de la quantité de Na^+ excrété par voie urinaire pourrait contribuer à expliquer l'obtention d'une balance sodée positive - et pas neutre (Guyton, 1991) - pour l'ensemble des rats à J_0 et pour les NSD tout au long du suivi métabolique. De même, l'absence de prise en compte de la quantité de Na^+ excrété par voie fécale (de l'ordre de 15% du Na^+ excrété total) (Thiesson et coll., 2007) pourrait expliquer pour environ 1 mEq/jour/kg de poids corporel cette balance sodée positive.

Afin d'améliorer la détermination de la balance sodée et sur la base des différentes hypothèses proposées dans cette discussion, des étudiants en pharmacie (Lucie Berger et François-Xavier Henry, sous la direction de Caroline Perrin-Sarrado, Maître de Conférences) ont réalisé, lors d'un stage

d'initiation à la recherche, différentes expérimentations sur des rats Wistar mâles en cages métaboliques ($n = 8$), qui ont amené différents éléments de réponse.

Afin de tenir compte du Na^+ resté après évaporation sur les parois du collecteur urinaire, celles-ci ont été rincées avec de l'eau distillée. Le Na^+ ainsi récupéré a été quantifié et rajouté dans le calcul de la balance sodée. Différents essais ont montré des quantités de Na^+ élevées dans les liquides de rinçage. En effet, la nourriture étant friable, des miettes s'étaient déposées sur les parois et une grande partie du Na^+ récupéré par le rinçage des parois venait donc de la nourriture. Cette méthode de correction n'a donc pas été prise en compte pour l'amélioration de la détermination de la balance sodée.

La quantité de Na^+ excrété par voie fécale a été évaluée à 0,36 mEq/jour/kg (30% de l'excrétion fécale dans ce cas). En prenant en compte cette excrétion, la balance sodée est améliorée même si elle reste positive ($0,8 \pm 0,8$ mEq/jour/kg). La quantité de Na^+ excrété par voie fécale n'est cependant pas suffisante pour expliquer à elle seule le niveau de la balance sodée obtenu dans notre étude.

Malgré ces erreurs d'évaluation, la balance sodée augmente bien pour les groupes soumis à un régime enrichi en Na^+ et diminue suite à un régime appauvri en Na^+ et comprenant un traitement avec du furosémide et ce, qu'elle soit exprimée en valeurs brutes (résultats non montrés, $p_{\text{temps}} = 0,0273$, $p_{\text{régime}} < 10^{-4}$, $p_{\text{régime} \times \text{temps}} < 10^{-4}$) ou en différence par rapport aux NSD du même jour (Figure 15).

Dans les groupes HSD et VHSD, la balance sodée ne devient positive qu'à partir de J_{15} (ou J_{29}). Il est intéressant de noter que dans une première phase (J_0 à J_4), l'excrétion du Na^+ excédentaire dépend plus d'un phénomène de concentration des urines que d'une augmentation de la diurèse qui reste identique à celle des J_0 (Figure 14). A partir de J_7 , l'inverse survient : la concentration urinaire en Na^+ est moins importante tandis que la diurèse augmente, en parallèle avec l'augmentation de la consommation hydrique. Ceci suggère deux hypothèses : l'apparition d'une insuffisance rénale aigüe ou un phénomène d'échappement à l'aldostérone de la réabsorption du Na^+ . Nous avons vérifié par le calcul de la clairance de la créatinine que les rats soumis aux régimes hypersodés n'ont pas développé d'insuffisance rénale avec la durée d'exposition aux régimes, ce qui peut nous laisser imaginer que la réabsorption de Na^+ aurait échappé au contrôle de l'aldostérone à partir de J_7 .

Pour le groupe LSD+Furo, la balance sodée est négative dès l'instauration du régime + traitement, puis tend à augmenter. A J₂₉, elle n'est plus significativement différente du groupe NSD mais reste négative. Cette valeur moins négative peut s'expliquer par l'éloignement de la dernière administration de furosémide (J₂₂). Les administrations hebdomadaires de furosémide sont nécessaires pour initier (J₀) et maintenir sur les 30 jours une balance sodée négative (de Oliveira et coll., 2007 ; Maria Pavan de Arruda Camargo et coll., 2007). Nous avons évité la dernière administration (J₂₉) pour ne pas perturber l'animal la veille de l'expérimentation (J₃₀). Bien que les taux d'urée plasmatique soient plus élevés pour ce groupe à J₃₀, les rats du groupe LSD + Furo n'ont pas développé d'insuffisance rénale avec la durée d'exposition aux régimes, la créatinine plasmatique et la clairance de la créatinine étant normales. A 4 et 30 jours, l'aldostérone plasmatique est augmentée significativement ce qui confirme l'activation du SRAA par la balance sodée négative.

En résumé, les régimes instaurés ont donc bien permis d'atteindre l'objectif visé d'une modification de la balance sodée. Les niveaux d'aldostérone plasmatique augmentent bien lorsque la balance sodée est négative et tendent à diminuer lorsque la balance sodée est positive bien que cette diminution soit d'un niveau plus faible que ce que nous avons supposé.

2) REACTIVITE CEREBRO-ARTERIOLAIRE EN REPONSE AUX MODIFICATIONS DE LA BALANCE SODEE

Avant toute discussion des conséquences cérébrovasculaires liées à la balance sodée, afin de valider nos résultats obtenus chez les rats mâles adultes Wistar Rj/Han NSD de ce travail en ce qui concerne la technique de fenêtre crânienne, nos résultats sont à comparer avec ceux obtenus chez des rats mâles adultes normotendus (Tableau 6, résultats obtenus à Nancy selon la même technique de fenêtre crânienne). Les DI de base sont identiques à ceux des Wistar Rj/Han précédemment étudiés, mais plus faibles que ceux des WKY (58 à 65 μm) (Regrigny et coll., 1999 ; Dupuis et coll., 2005a ; b). Les valeurs de pH de la présente étude sont globalement plus élevées, en raison d'une pCO_2 plus faible. Or, une diminution de pCO_2 s'accompagne d'une diminution du débit sanguin cérébral et du diamètre des artéioles cérébrales (Hurn et Traystman, 2002). Ainsi, il est possible que les artéioles de la présente étude aient été légèrement constrictées à la base. Ceci expliquerait une réactivité au NPS 10^{-5} M supérieure au seuil qui avait été fixé à 80% sur la base des études précédentes du laboratoire, et une réactivité à la PHE un peu plus faible que celle obtenue par Kwan et coll. (2008).

Les réponses maximales de vasoconstriction et de vasodilatation à l'All (en absence et en présence de losartan respectivement) sont du même ordre que celles de Kwan et coll. (2008) obtenues selon le même protocole (préconstriction à la phényléphrine 10^{-5} M + losartan 10^{-5} M). Il faut noter que dans notre étude et celle de Kwan et coll. (2008), les réponses à l'All sont plus faibles que celles obtenues par Vincent et coll. en 2005 avec un protocole différent (pas de préconstriction à la PHE, telmisartan 10^{-5} M). Le choix du protocole « préconstriction à la PHE 10^{-5} M + losartan 10^{-5} M » pour révéler la dilatation à l'All est basé sur le travail de Gonzalez et coll. (2005) (artères mésentériques). Il est possible que la présence de PHE ait limité la dilatation All-dépendante de par la vasoconstriction qu'elle engendre. D'autres divergences de protocole sont à noter entre la présente étude et celle de Vincent et coll. (2005). Dans le premier cas, chaque rat subit les 2 courbes concentration-réponse à l'All. Chaque rat est ainsi son propre témoin (plusieurs critères de bonne réactivité sur le même animal), ce qui diminue le nombre d'animaux utilisés. A l'inverse, dans l'étude de Vincent et coll. (2005), les réponses vasoconstrictrices et vasodilatatrices à l'All ont été obtenues sur des séries différentes de rats, ce qui présente l'avantage de réduire la durée du protocole.

Tableau 6 : Diamètre interne (DI) artériolaire de base, pH et gaz du sang, réactivité au nitroprussiate de sodium (NPS 10^{-5} M) et à la PHE (PHE 10^{-5} M), E_{\max} de la constriction à l'AII (E_{\max} VC AII), E_{\max} de la dilatation à l'AII (E_{\max} VD AII) ($m \pm \text{esm}$) chez des rats mâles adultes Wistar Rj/Han, contrôles dans des travaux précédents réalisés au laboratoire. n.d.: non déterminé ; n.i. : non indiqué dans la publication

DI, μm	pH	pCO ₂ , mmHg	pO ₂ , mmHg	NPS (% DI)	PHE (% DI)	E_{\max} VC AII (% DI)	E_{\max} VD AII (% DI)	Référence (Nancy)
Rats mâles adultes Wistar Rj/Han								
25 \pm 1	n.d.	n.d.	n.d.	+99 \pm 18	-8 \pm 3	-13,5 \pm 0,5	+5,5 \pm 0,4	(Kwan et coll., 2008)
34 \pm 7	n.i.	n.i.	n.i.	+77 \pm 2	n.d.	n.d.	n.d.	(Chan et coll., 2008)
49 \pm 3	7,50 \pm 0,01	35 \pm 1	78 \pm 4	+86 \pm 7	n.d.	n.d.	n.d.	Lartaud, non publié, 2007
45 \pm 3	n.i.	n.i.	n.i.	n.d.	n.d.	-20 \pm 1	9,5 \pm 2,5	(Vincent et coll., 2005)
47 \pm 3	7,48 \pm 0,01	33 \pm 1	93 \pm 4	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	(Dupuis et coll., 2004)
50 \pm 4	7,48 \pm 0,01	34 \pm 1	86 \pm 1	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	(Regrigny et coll., 2001b)
40 \pm 3	7,39 \pm 0,01	35 \pm 2	88 \pm 3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	(Regrigny et coll., 2001a)
46 \pm 2	n.i.	n.i.	n.i.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	(Regrigny et coll., 1999)

En ce qui concerne les conséquences cérébrovasculaires liées à la balance sodée, nos résultats montrent pour l'ensemble des groupes une réponse vasoconstrictrice à l'All identique à celle des NSD. Ces résultats suivent ceux obtenus au niveau de l'artère cérébrale moyenne par Dominique Bourgeois (stage de M2, n= 6 à 7, Nancy-Université, 2008) avec les mêmes régimes et traitements: la vasoconstriction à l'All est identique pour l'ensemble des groupes. Par contre au niveau des artérioles cérébrales, nos résultats montrent une absence de réponse vasodilatatrice All-dépendante pour l'ensemble des groupes contrairement aux groupes NSD. Au niveau de l'artère cérébrale moyenne, l'altération de la vasodilatation AT_2 -dépendante n'a pas pu être observée puisqu'à cet étage cérébroartériel, les travaux du laboratoire ont montré l'inexistence de la vasodilatation à l'All. Il semblerait donc qu'au niveau cérébral, la microcirculation tienne une place prépondérante dans la régulation de la circulation cérébrale puisqu'elle possède des capacités vasodilatrices à l'All qui ne sont pas présentes au niveau artériel. Cette vasodilatation à l'All pourrait avoir un rôle primordial dans les situations ischémiques et il apparaît que des niveaux de balance sodée inadéquats altèrent cette propriété cérébroprotectrice.

A J₄, seul le groupe LSD+Furo ne réagit pas à l'All. Or, la vasoconstriction à la PHE dans ce groupe est 5 fois moins importante que dans tous les autres groupes. Dans une étude menée en parallèle au laboratoire, les réponses pressives (augmentation de PA moyenne systémique) à la PHE (6.10^{-9} mol/kg de poids corporel) sont également 5 fois plus faibles dans ce groupe par rapport aux NSD (Julie Lambotte, n= 4 à 5 rats par groupe, stage de M1, Nancy-Université, 2008). Ces observations indiquent une absence générale de réactivité vasculaire dans ce groupe ayant reçu une forte dose de furosémide 4 jours auparavant. Or, plusieurs études rapportent un effet vasorelaxant direct du furosémide à fortes doses (plus important sur des artères de résistance murines que sur des artères de résistance humaines), dont le mécanisme n'est pas clairement établi (Barthelmebs et coll., 1994 ; Pickkers et coll., 2003). La persistance d'un tel effet 3 jours après l'administration de furosémide n'a pas été étudiée, mais pourrait participer à l'atténuation de la vasoréactivité que nous avons observée. Ainsi, chez les rats du groupe LSD+Furo, les effets d'une diminution de la balance sodée sur la réactivité cérébro-artériolaire ne peuvent être interprétés qu'à J₃₀ à distance de la dernière administration de furosémide.

Pour tous les autres groupes, les effets des changements de la balance sodée sur la réactivité cérébro-artériolaire sont à mettre en regard des hypothèses de travail.

Nos hypothèses de départ, étaient les suivantes (voir Figure 8) :

- une balance sodée positive, à l'origine d'une inhibition du SRAA (traduite par une diminution de l'aldostérone plasmatique) serait responsable d'une « up-regulation » des récepteurs AT_1 (Nickenig et coll., 1998), ce qui pourrait conduire à une vasoconstriction AII-dépendante plus importante par rapport aux NSD. Le même régime HSD que celui de la présente étude induit une « down-regulation » des récepteurs AT_2 et une vasodilatation AII-dépendante des artères mésentériques moins importante par rapport aux NSD (Gonzalez et coll., 2005) ;
- en appliquant le raisonnement inverse, une balance sodée négative conduirait, par le biais d'une stimulation du SRAA (traduite par une augmentation de l'aldostérone plasmatique), à une « down-regulation » des récepteurs AT_1 , à une vasoconstriction AII-dépendante moins importante, et *via* une « up-regulation » des récepteurs AT_2 , à une vasodilatation AII-dépendante plus importante par rapport aux groupes NSD.

Nous avons évalué l'état de la balance sodée ainsi que la réactivité cérébro-artériolaire dans les différents groupes. Les changements de balance sodée instaurés ne modifient pas la vasoconstriction AII-dépendante. L'hypothèse de départ concernant la majoration (pour les groupes HSD et VHSD) ou l'atténuation (pour le groupe LSD+Furo) de la vasoconstriction à l'AII n'est donc pas confirmée. Par contre, la dilatation médiée par l'AII est absente dans les groupes HSD, VHSD et LSD+Furo. Ce résultat valide l'autre partie de l'hypothèse concernant la minoration de la vasodilatation AII-dépendante pour les groupes HSD et VHSD (mais pas pour le groupe LSD+Furo).

L'adéquation partielle des résultats avec les hypothèses de départ mettent celles-ci en doute. Une façon d'invalider ou de confirmer ces hypothèses serait d'évaluer l'activité du SRAA systémique *via* la détermination de l'activité rénine plasmatique (ARP) et celle du SRAA cérébrovasculaire en quantifiant sur les microvaisseaux cérébraux prélevés les niveaux d'expression des récepteurs à l'AII. Le dosage de l'aldostérone plasmatique nous renseigne d'ores et déjà sur l'état du SRAA systémique. Il semblerait que celui-ci ait été légèrement diminué au cours des régimes salés mais peut-être pas assez. Par contre le régime LSD + Furo a bien eu l'effet « activateur du SRAA » escompté. Et il semblerait que l'activation du SRAA soit augmentée avec la durée du régime LSD + Furo.

Par ailleurs il est possible que les modifications d'expression des récepteurs à l'Ang II s'expriment plus tôt que les changements de balance sodée. En effet, dès le 4^e jour de régime, la vasodilatation Ang II-dépendante est abolie alors que la balance sodée, au moins dans les groupes HSD et VHSD, n'est pas encore nettement positive.

Une autre explication de la divergence entre nos hypothèses et nos résultats serait que les changements de la balance sodée mettent en jeu des phénomènes de régulation des récepteurs à l'Ang II indépendamment des changements d'activité du SRAA plasmatique. Par exemple, Nickenig et coll. (1998) montrent que le NaCl augmente par lui-même l'expression (PCR quantitative) et la densité (études de liaison spécifique à haute affinité) des récepteurs AT₁ des cellules musculaires lisses issues d'aortes de rats Sprague-Dawley. La même équipe présente des résultats inverses (« down-regulation » des récepteurs AT₁ et diminution des réponses contractiles à l'Ang II suite au régime salé) sur des aortes de rats Dahl sensibles et résistants au sel (Strehlow et coll., 1999). Ces résultats divergents illustrent la complexité des phénomènes d'adaptation des récepteurs vasculaires à l'Ang II face aux changements de régime salé et d'activité du SRAA.

En plus du rôle du SRAA plasmatique, il faudrait également tenir compte du rôle du SRAA cérébrovasculaire et de son adaptation face aux changements de balance sodée au niveau cérébro-artériolaire. En effet, les éléments du SRAA sont présents et fonctionnels sur les artérioles (enzyme de conversion, Vincent et coll., 2005) et les microvaisseaux cérébraux (angiotensinogène, pro-rénine, enzyme de conversion, AT₁ et AT₂ récepteurs, Zhou et coll., 2006). La part de cette activité SRAA cérébrovasculaire locale reste difficile à appréhender mais, au même degré que les autres SRAA locaux, joue certainement un rôle majeur dans la régulation vasculaire (comme le rappelle Ganten dans des revues récentes : Bader et Ganten, 2002; 2008) (cf Partie 1, III).

3) PORTEE PHYSIOPATHOLOGIQUE DE L'ETUDE

En absence de valeurs de concentrations locales d'Ang II au niveau cérébro-artériolaire, le seul argument de discussion quant à la portée physiopathologique de nos résultats est le taux circulant d'Ang II plasmatique. Chez des rats Wistar (avec nourriture normosodée), le taux circulant d'Ang II plasmatique est de 60 nM (Carillo et coll., 2007), ce qui est proche de l'EC₅₀ vasoconstrictrice et vasodilatatrice (présente étude, logEC₅₀ 10⁻⁹M). Dans une étude parallèle du laboratoire, les mêmes EC₅₀ ont été

obtenues sur des artères cérébrales moyennes isolées stimulées par l'AII (Dominique Bourgeois, n = 6 à 7 rats par groupe, M2R Pharmacologie, Nancy-Université, 2008). L'AII est donc susceptible d'activer les récepteurs AT₁ et AT₂ au niveau cérébro-artériolaire. Chez des rats soumis à un régime hypersodé, le taux circulant d'AII diminue alors qu'il augmente chez des rats soumis à un régime hyposodé, mais dans un intervalle proche (10 nM et 90 nM, respectivement) (Carillo et coll., 2007). En ce qui concerne le régime hyposodé, ceci est confirmé indirectement par le niveau d'aldostérone plasmatique des rats du groupe LSD + Furo, puisque celui-ci est environ multiplié par 7 à J₄ et par 20 à J₃₀.

La disparition de la vasodilatation AT₂ dépendante suite aux changements de régimes sodés a une importance physiopathologique. En effet, en présence de PD123319, antagoniste des récepteurs AT₂, la vasoconstriction à l'AII est augmentée (Vincent et coll., 2005). Par ailleurs, la participation d'une dilatation AT₂ dépendante a été évoquée pour l'effet cérébroprotecteur des sartans dans les études cliniques (Fournier et coll., 2004). Selon ces auteurs, le blocage des récepteurs AT₁ et l'augmentation du taux circulant d'AII résultante conduisent à une plus forte stimulation des récepteurs AT₂.

En ce qui concerne la pertinence des changements de régimes sodés chez nos animaux par rapport à la situation humaine, les ratios de Na⁺ ingéré entre les groupes HSD (x2) ou VHSD (x4) et NSD correspondent bien à ceux rapportés chez l'Homme (voir Partie 1, IV et IV).

IV - CONCLUSION ET PERSPECTIVES

En conclusion, notre étude a permis de caractériser un modèle de changements de la balance sodée, dont l'impact cérébro-artériolaire est une disparition de la vasodilatation AT_2 dépendante à l'All.

Les mécanismes sous-jacents à cette modification de vasoréactivité restent à évaluer par la mesure de l'activité du SRAA cérébrovasculaire et par l'expression des récepteurs à l'All. Celle-ci sera déterminée par Western-blot et par une quantification des ARNm par rt-qPCR (projet actuellement à l'étude au sein du laboratoire). Ces éléments seront cruciaux pour déterminer les liens entre modifications de la balance sodée et régulations des récepteurs à l'All.

Dans la population humaine, il existe des différences de sensibilité au sel. C'est pourquoi il pourrait être intéressant, par la suite, de nous intéresser aux conséquences de la modulation de la balance sodée chez des rats sensibles au sel, comme par exemple les rats de la souche Dahl (Sensible ou Résistant au sel). Dans la présente étude, la souche Wistar choisie n'est pas sensible au sel. Ceci présente un avantage puisque la PA moyenne est identique au sein des différents groupes. Ainsi, les artérioles cérébrales des rats dans les différents groupes ont donc été exposées aux mêmes pressions intra-artérielles (ce qui serait à vérifier par la technique de servo-null en place au laboratoire). Sur des souches sensibles au sel, la mesure de la pression intra-artériolaire sera indispensable pour différencier les effets dépendants de la pression ou de la régulation des récepteurs. Outre les rats Dahl, les rats Spontaneously Hypertensive Rats peuvent être également de bons modèles d'étude, du fait de leur sensibilité au sel mais également de leur prédisposition sténotique au niveau cérébral (remodelage avec réduction du DI, augmentation des résistances cérébro-vasculaires) (Baumbach et Heistad, 1989).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Intersalt: an international study of electrolyte excretion and blood pressure. Results for 24 hour urinary sodium and potassium excretion. Intersalt Cooperative Research Group.

Br Med J, 1988, 297, 319-328.

Post-stroke antihypertensive treatment study. A preliminary result. PATS Collaborating Group.

Chin Med J, 1995, 108, 710-717.

Randomised trial of a perindopril-based blood-pressure-lowering regimen among 6,105 individuals with previous stroke or transient ischaemic attack.

Lancet, 2001, 358, 1033-1041.

The sixth report of the Joint National Committee on prevention, detection, evaluation, and treatment of high blood pressure

Arch Intern Med, 1997, 157, 2413-2446.

WHO Expert Committee on the Prevention of Coronary Heart Disease.

Prevention of Coronary Heart Disease. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 1982. Technical Reports N°678.

AGUILERA G., MILLAN M. A. et HARWOOD J. P.

Angiotensin II receptors in the gonads

Am J Hypertens, 1989, 2, 395-402.

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

Angiotensin increases inositol trisphosphate and calcium in vascular smooth muscle

Hypertension, 1985, 7, 447-451.

ATKINSON J.

Cerebrovascular structure and dementia: new drug targets

Trends Pharmacol Sci, 2001, 22, 630-635.

BADER M., PETERS J., BALATU O., MULLER D. N., LUFT F. C. et GANTEN D.

Tissue renin-angiotensin systems: new insights from experimental animal models in hypertension research

J Mol Med, 2001, 79, 76-102.

BADER M. et GANTEN D.

It's renin in the brain: transgenic animals elucidate the brain renin angiotensin system
Circ Res, 2002, 90, 8-10.

BALTATU O. et BADER M.

Brain renin-angiotensin system. Lessons from functional genomics
Neuroendocrinology, 2003, 78, 253-259.

BARRY D. I., JARDEN J. O., PAULSON O. B., GRAHAM D. I. et STRANDGAARD S.

Cerebrovascular aspects of converting-enzyme inhibition I: Effects of intravenous captopril in spontaneously hypertensive and normotensive rats
J Hypertens, 1984, 2, 589-597.

BARTHELMEBS M., STEPHAN D., FONTAINE C., GRIMA M. et IMBS J. L.

Vascular effects of loop diuretics: an in vivo and in vitro study in the rat
Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol, 1994, 349, 209-216.

BAUMBACH G. L. et HEISTAD D. D.

Remodeling of cerebral arterioles in chronic hypertension
Hypertension, 1989, 13, 968-972.

BOEGEHOLD M. A.

Effect of dietary salt on arteriolar nitric oxide in striated muscle of normotensive rats
Am J Physiol, 1993, 264, H1810-1816.

BOEGEHOLD M. A.

Flow-dependent arteriolar dilation in normotensive rats fed low- or high-salt diets
Am J Physiol, 1995, 269, H1407-1414.

BOOZ G. W. et BAKER K. M.

Role of type 1 and type 2 angiotensin receptors in angiotensin II-induced cardiomyocyte hypertrophy
Hypertension, 1996, 28, 635-640.

BOTTARI S. P., KING I. N., REICHLIN S., DAHLSTROEM I., LYDON N. et DE GASPARO M.

The angiotensin AT2 receptor stimulates protein tyrosine phosphatase activity and mediates inhibition of particulate guanylate cyclase
Biochem Biophys Res Commun, 1992, 183, 206-211.

BRAUN-MENENDEZ E., FASCIOLO J. C., LELOIR L. F. et MUNOZ J. M.

The substance causing renal hypertension
J Physiol, 1940, 98, 283-298.

BRAY L., LARTAUD I., MULLER F., ATKINSON J. et CAPDEVILLE C.

Effects of the angiotensin I converting enzyme inhibitor perindopril on cerebral blood flow in awake hypertensive rats

Am J Hypertens, 1991, 4, 246S-252S.

BRIERLEY J. B., BROWN A. W., EXCELL B. J. et MELDRUM B. S.

Brain damage in the rhesus monkey resulting from profound arterial hypotension. I. Its nature, distribution and general physiological correlates

Brain Res, 1969, 13, 68-100.

BROWN M. J. et BROWN J.

Does angiotensin-II protect against strokes?

Lancet, 1986, 2, 427-429.

BUNKENBURG B., VAN AMELSVOORT T., ROGG H. et WOOD J. M.

Receptor-mediated effects of angiotensin II on growth of vascular smooth muscle cells from spontaneously hypertensive rats

Hypertension, 1992, 20, 746-754.

CAPDEVILLE C., EL BOUHTOURY F., PARACHE R. M., BOULU R. G., GUILLOU J. et ATKINSON J.

The angiotensin I converting enzyme inhibitors, captopril and Wy-44,655 attenuate the consequences of cerebral ischemia in renovascular hypertensive rats

Life Sci, 1990, 47, 539-546.

CARILLO B. A., BEUTEL A., MIRANDOLA D. A., VIDONHO A. F., JR., FURUKAWA L. N., CASARINI D.,

CAMPOS R. R., DOLNIKOFF M. S., HEIMANN J. C. et BERGAMASCHI C. T.

Differential sympathetic and angiotensinergic responses in rats submitted to low- or high-salt diet

Regul Pept, 2007, 140, 5-11.

CHAN S. L., CAPDEVILLE-ATKINSON C. et ATKINSON J.

Red wine polyphenols improve endothelium-dependent dilation in rat cerebral arterioles

J Cardiovasc Pharmacol, 2008, 51, 553-558.

CHEVILLARD C. et SAAVEDRA J. M.

Distribution of angiotensin-converting enzyme activity in specific areas of the rat brain stem

J Neurochem, 1982, 38, 281-284.

CHILLON J. M. et BAUMBACH G. L.

Autoregulation of cerebral blood flow

In: Primer on cerebrovascular diseases / ed. par WEELCH K.M.A. C. L. R., REIS D.J., SIESJÖ B.K. AND WEIR B.

San Diego: Academic Press, 1997. p. 51-54.

CHIU A. T., HERBLIN W. F., MCCALL D. E., ARDECKY R. J., CARINI D. J., DUNCIA J. V., PEASE L. J., WONG P. C., WEXLER R. R. et JOHNSON A. L.

Identification of angiotensin II receptor subtypes

Biochem Biophys Res Commun, 1989, 165, 196-203.

CHOBANIAN A. V. et HILL M.

National Heart, Lung, and Blood Institute Workshop on Sodium and Blood Pressure : a critical review of current scientific evidence

Hypertension, 2000, 35, 858-863.

CHOI-KWON S. et KIM J. S.

Lifestyle factors and risk of stroke in Seoul, south Korea

J Stroke Cerebrovasc Dis, 1998, 7, 414-420.

CHOKI J. I., YAMAGUCHI T., TAKEYA Y., MOROTOMI Y. et OMAE T.

Effect of carotid artery ligation on regional cerebral blood flow in normotensive and spontaneously hypertensive rats

Stroke, 1977, 8, 374-379.

CIGOLA E., KAJSTURA J., LI B., MEGGS L. G. et ANVERSA P.

Angiotensin II activates programmed myocyte cell death in vitro

Exp Cell Res, 1997, 231, 363-371.

CLAUSMEYER S., REINECKE A., FARRENKOPF R., UNGER T. et PETERS J.

Tissue-specific expression of a rat renin transcript lacking the coding sequence for the prefragment and its stimulation by myocardial infarction

Endocrinology, 2000, 141, 2963-2970.

CULLER M. D., TARLATZIS B. C., LIGHTMAN A., FERNANDEZ L. A., DECHERNEY A. H., NEGRO-VILAR A. et NAFTOLIN F.

Angiotensin II-like immunoreactivity in human ovarian follicular fluid

J Clin Endocrinol Metab, 1986, 62, 613-615.

CUSHMAN D. W. et CHEUNG H. S.

Concentrations of angiotensin-converting enzyme in tissues of the rat

Biochim Biophys Acta, 1971, 250, 261-265.

DAHLOF B., DEVEREUX R. B., KJELDSSEN S. E., JULIUS S., BEEVERS G., DE FAIRE U., FYHRQUIST F., IBSEN H., KRISTIANSSON K., LEDERBALLE-PEDERSEN O., LINDHOLM L. H., NIEMINEN M. S., OMVIK P., OPARIL S. et WEDEL H.

Cardiovascular morbidity and mortality in the Losartan Intervention For Endpoint reduction in hypertension study (LIFE): a randomised trial against atenolol

Lancet, 2002, 359, 995-1003.

DANSER A. H., VAN KATS J. P., ADMIRAAL P. J., DERKX F. H., LAMERS J. M., VERDOUW P. D., SAXENA P. R. et SCHALEKAMP M. A.

Cardiac renin and angiotensins. Uptake from plasma versus in situ synthesis
Hypertension, 1994, 24, 37-48.

DE GASPARO M., CATT K. J., INAGAMI T., WRIGHT J. W. et UNGER T.

International union of pharmacology. XXIII. The angiotensin II receptors
Pharmacol Rev, 2000, 52, 415-472.

DE OLIVEIRA L. B., CALLERA J. C., DE LUCA L. A., JR., COLOMBARI D. S. et MENANI J. V.

GABAergic mechanisms of the lateral parabrachial nucleus on sodium appetite
Brain Res Bull, 2007, 73, 238-247.

DIMITROPOULOU C., WHITE R. E., FUCHS L., ZHANG H., CATRAVAS J. D. et CARRIER G. O.

Angiotensin II relaxes microvessels via the AT(2) receptor and Ca(2+)-activated K(+) (BK(Ca)) channels
Hypertension, 2001, 37, 301-307.

DOSTAL D. E. et BAKER K. M.

Angiotensin II stimulation of left ventricular hypertrophy in adult rat heart. Mediation by the AT1 receptor
Am J Hypertens, 1992, 5, 276-280.

DU CAILAR G., RIBSTEIN J., DAURES J. P. et MIMRAN A.

Sodium and left ventricular mass in untreated hypertensive and normotensive subjects
Am J Physiol, 1992, 263, H177-181.

DU CAILAR G., MIMRAN A., FESLER P., RIBSTEIN J., BLACHER J. et SAFAR M. E.

Dietary sodium and pulse pressure in normotensive and essential hypertensive subjects
J Hypertens, 2004, 22, 697-703.

DUPUIS F., REGRIGNY O., ATKINSON J., LIMINANA P., DELAGRANGE P., SCALBERT E. et CHILLON J. M.

Impact of treatment with melatonin on cerebral circulation in old rats
Br J Pharmacol, 2004, 141, 399-406.

DUPUIS F., ATKINSON J., LIMINANA P. et CHILLON J. M.

Captopril improves cerebrovascular structure and function in old hypertensive rats
Br J Pharmacol, 2005a, 144, 349-356.

DUPUIS F., ATKINSON J., LIMINANA P. et CHILLON J. M.

Comparative effects of the angiotensin II receptor blocker, telmisartan, and the angiotensin-converting enzyme inhibitor, ramipril, on cerebrovascular structure in spontaneously hypertensive rats
J Hypertens, 2005b, 23, 1061-1066.

DZAU V. J.

Multiple pathways of angiotensin production in the blood vessel wall: evidence, possibilities and hypotheses

J Hypertens, 1989, 7, 933-936.

EDVINSSON L. et MACKENZIE E. T.

General and comparative anatomy of the cerebral circulation

In: Cerebral Blood Flow and Metabolism / ed. par EDVINSSON L. K. D. N.

New York: Lippincott Williams & Wilkins, 2002. p. 3-29.

EKKER M., TRONIK D. et ROUGEON F.

Extra-renal transcription of the renin genes in multiple tissues of mice and rats

Proc Natl Acad Sci U S A, 1989, 86, 5155-5158.

ELLIOTT P., WALKER L. L., LITTLE M. P., BLAIR-WEST J. R., SHADE R. E., LEE D. R., ROUQUET P., LEROY E., JEUNEMAITRE X., ARDAILLOU R., PAILLARD F., MENETON P. et DENTON D. A.

Change in salt intake affects blood pressure of chimpanzees: implications for human populations

Circulation, 2007, 116, 1563-1568.

FERRARIO C. M., DICKINSON C. J. et MCCUBBIN J. W.

Central vasomotor stimulation by angiotensin

Clin Sci, 1970, 39, 239-245.

FOG M.

Cerebral circulation. II. Reaction of pial arteries to increase in blood pressure

Arch Neur Psychiat, 1939, 41, 260-268.

FOLKOW B., GRIMBY G. et THULESIUS O.

Adaptive structural changes of the vascular walls in hypertension and their relation to the control of the peripheral resistance

Acta Physiol Scand, 1958, 44, 255-272.

FOURNIER A., MESSERLI F. H., ACHARD J. M. et FERNANDEZ L.

Cerebroprotection mediated by angiotensin II: a hypothesis supported by recent randomized clinical trials

J Am Coll Cardiol, 2004, 43, 1343-1347.

FOURNIE-ZALUSKI M. C., FASSOT C., VALENTIN B., DJORDJJEVIC D., REAUX-LE GOAZIGO A., CORVOL P., ROQUES B. P. et LLORENS-CORTES C.

Brain renin-angiotensin system blockade by systemically active aminopeptidase A inhibitors: a potential treatment of salt-dependent hypertension

Proc Natl Acad Sci U S A, 2004, 101, 7775-7780.

FREI A. et MULLER-BRAND J.

Cerebral blood flow and antihypertensive treatment with enalapril

J Hypertens, 1986, 4, 365-367.

FRELIN C., VIGNE P. et LAZDUNSKI M.

The role of the Na⁺/H⁺ exchange system in cardiac cells in relation to the control of the internal Na⁺ concentration. A molecular basis for the antagonistic effect of ouabain and amiloride on the heart

J Biol Chem, 1984, 259, 8880-8885.

GANTEN D., MARQUEZ-JULIO A., GRANGER P., HAYDUK K., KARSUNKY K. P., BOUCHER R. et GENEST J.

Renin in dog brain

Am J Physiol, 1971a, 221, 1733-1737.

GANTEN D., MINNICH J. L., GRANGER P., HAYDUK K., BRECHT H. M., BARBEAU A., BOUCHER R. et GENEST J.

Angiotensin-forming enzyme in brain tissue

Science, 1971b, 173, 64-65.

GLORIOSO N., ATLAS S. A., LARAGH J. H., JEWELEWICZ R. et SEALEY J. E.

Prorenin in high concentrations in human ovarian follicular fluid

Science, 1986, 233, 1422-1424.

GOHLKE P., PEES C. et UNGER T.

AT₂ receptor stimulation increases aortic cyclic GMP in SHRSP by a kinin-dependent mechanism

Hypertension, 1998, 31, 349-355.

GOLDBLATT H., LYNCH J., HANZAL R. F. et SUMMERVILLE W. W.

Studies on experimental hypertension, I : the production of persistent elevation of systolic blood pressure by means of renal ischemia

Journal of Experimental Medicine, 1934, 14, 405-414.

GONZALEZ M., LOBOS L., CASTILLO F., GALLEGUILLOS L., LOPEZ N. C. et MICHEA L.

High-salt diet inhibits expression of angiotensin type 2 receptor in resistance arteries

Hypertension, 2005, 45, 853-859.

GRAMMAS P., DIGLIO C., GIACOMELLI F. et WIENER J.

Cerebrovascular angiotensin II receptors in spontaneously hypertensive rats

J Cardiovasc Pharmacol, 1989, 13, 227-232.

GRIENDLING K. K., RITTENHOUSE S. E., BROCK T. A., EKSTEIN L. S., GIMBRONE M. A., JR. et ALEXANDER R. W.

Sustained diacylglycerol formation from inositol phospholipids in angiotensin II-stimulated vascular smooth muscle cells

J Biol Chem, 1986, 261, 5901-5906.

GRIFFIN S. A., BROWN W. C., MACPHERSON F., MCGRATH J. C., WILSON V. G., KORSGAARD N., MULVANY M. J. et LEVER A. F.

Angiotensin II causes vascular hypertrophy in part by a non-pressor mechanism

Hypertension, 1991, 17, 626-635.

GU J. W., ANAND V., SHEK E. W., MOORE M. C., BRADY A. L., KELLY W. C. et ADAIR T. H.

Sodium induces hypertrophy of cultured myocardial myoblasts and vascular smooth muscle cells

Hypertension, 1998, 31, 1083-1087.

HAFKENSCHIEL J. H., CRUMPTON C. W. et FRIEDLAND C. K.

Cerebral oxygen consumption in essential hypertension; constancy with age, severity of the disease, sex, and variations of blood constituents, as observed in 101 patients

J Clin Invest, 1954, 33, 63-68.

HATAKEYAMA H., MIYAMORI I., FUJITA T., TAKEDA Y., TAKEDA R. et YAMAMOTO H.

Vascular aldosterone. Biosynthesis and a link to angiotensin II-induced hypertrophy of vascular smooth muscle cells

J Biol Chem, 1994, 269, 24316-24320.

HAYASAKI-KAJIWARA Y., KITANO Y., IWASAKI T., SHIMAMURA T., NAYA N., IWAKI K. et NAKAJIMA M.

Na(+)influx via Na(+)/H(+)exchange activates protein kinase C isozymes delta and epsilon in cultured neonatal rat cardiac myocytes

J Mol Cell Cardiol, 1999, 31, 1559-1572.

HEALY D. P. et PRINTZ M. P.

Distribution of immunoreactive angiotensin II, angiotensin I, angiotensinogen and renin in the central nervous system of intact and nephrectomized rats

Hypertension, 1984, 6, 1130-136.

HENDEL M. D. et COLLISTER J. P.

Sodium balance, arterial pressure, and the role of the subfornical organ during chronic changes in dietary salt

Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2005, 289, H426-431.

HIRSCH A. T., TALSNESS C. E., SCHUNKERT H., PAUL M. et DZAU V. J.

Tissue-specific activation of cardiac angiotensin converting enzyme in experimental heart failure
Circ Res, 1991, 69, 475-482.

HOLUBARSCH C., HASENFUSS G., SCHMIDT-SCHWEDA S., KNORR A., PIESKE B., RUF T., FASOL R. et JUST H.

Angiotensin I and II exert inotropic effects in atrial but not in ventricular human myocardium. An in vitro study under physiological experimental conditions
Circulation, 1993, 88, 1228-1237.

HORIUCHI M., AKISHITA M. et DZAU V. J.

Recent progress in angiotensin II type 2 receptor research in the cardiovascular system
Hypertension, 1999, 33, 613-621.

HORIUCHI M., HAYASHIDA W., KAMBE T., YAMADA T. et DZAU V. J.

Angiotensin type 2 receptor dephosphorylates Bcl-2 by activating mitogen-activated protein kinase phosphatase-1 and induces apoptosis
J Biol Chem, 1997, 272, 19022-19026.

HUMPEL C., LIPPOLDT A., STROMBERG I., BYGDEMAN M., WAGNER J., HILGENFELDT U., GANTEN D., FUXE K. et OLSON L.

Human angiotensinogen is highly expressed in astrocytes in human cortical grafts
Glia, 1994, 10, 186-192.

HURN P. D. et TRAYSTMAN R. J.

In: Cerebral Blood Flow and Metabolism / ed. par KRAUSE E. A.
Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2002. p. 384-394.

HUSAIN A., SMEBY R. R., KRONTIRIS-LITOWITZ J. et SPETH R. C.

Brain renin: localization in rat brain synaptosomal fractions
Brain Res, 1981, 222, 182-186.

INAGAMI T.

Renin in the brain and neuroblastoma cells: an endogenous and intracellular system
Neuroendocrinology, 1982, 35, 475-482.

ITO H., TAKEMORI K. et SUZUKI T.

Role of angiotensin II type 1 receptor in the leucocytes and endothelial cells of brain microvessels in the pathogenesis of hypertensive cerebral injury
J Hypertens, 2001, 19, 591-597.

JACKSON T. R., BLAIR L. A., MARSHALL J., GOEDERT M. et HANLEY M. R.

The mas oncogene encodes an angiotensin receptor
Nature, 1988, 335, 437-440.

JARDEN J. O., BARRY D. I., JUHLER M., GRAHAM D. I., STRANDGAARD S. et PAULSON O. B.
Cerebrovascular aspects of converting-enzyme inhibition II: Blood-brain barrier permeability and effect of intracerebroventricular administration of captopril
J Hypertens, 1984, 2, 599-604.

KAGOTA S., TAMASHIRO A., YAMAGUCHI Y., SUGIURA R., KUNO T., NAKAMURA K. et KUNITOMO M.
Downregulation of vascular soluble guanylate cyclase induced by high salt intake in spontaneously hypertensive rats
Br J Pharmacol, 2001, 134, 737-744.

KAGOTA S., KUBOTA Y., NEJIME N., NAKAMURA K., KUNITOMO M. et SHINOZUKA K.
Impaired effect of salt loading on nitric oxide-mediated relaxation in aortas from stroke-prone spontaneously hypertensive rats
Clin Exp Pharmacol Physiol, 2007, 34, 48-54.

KAKINUMA Y., HAMA H., SUGIYAMA F., GOTO K., MURAKAMI K. et FUKAMIZU A.
Anti-apoptotic action of angiotensin fragments to neuronal cells from angiotensinogen knock-out mice
Neurosci Lett, 1997, 232, 167-170.

KARMAZYN M., LIU Q., GAN X. T., BRIX B. J. et FLIEGEL L.
Aldosterone increases NHE-1 expression and induces NHE-1-dependent hypertrophy in neonatal rat ventricular myocytes
Hypertension, 2003, 42, 1171-1176.

KIHARA M., UTAGAWA N., MANO M., NARA Y., HORIE R. et YAMORI Y.
Biochemical aspects of salt-induced, pressure-independent left ventricular hypertrophy in rats
Heart Vessels, 1985, 1, 212-215.

KOBAYASHI H., TAKE K., WADA A., IZUMI F. et MAGNONI M. S.
Angiotensin-converting enzyme activity is reduced in brain microvessels of spontaneously hypertensive rats
J Neurochem, 1984, 42, 1655-1658.

KOCH-WESER J.
Myocardial Actions of Angiotensin
Circ Res, 1964, 14, 337-344.

KONTOS H. A., WEI E. P., NAVARI R. M., LEVASSEUR J. E., ROSENBLUM W. I. et PATTERSON J. L., JR.
Responses of cerebral arteries and arterioles to acute hypotension and hypertension
Am J Physiol, 1978, 234, H371-383.

KREUTZ R., FERNANDEZ-ALFONSO M. S., LIU Y., GANTEN D. et PAUL M.

Induction of cardiac angiotensin I-converting enzyme with dietary NaCl-loading in genetically hypertensive and normotensive rats

J Mol Med, 1995, 73, 243-248.

KWAN Y. W., LARTAUD I. et ATKINSON J.

High salt intake enhances angiotensin II-mediated constriction and abolishes angiotensin II-mediated relaxation of cerebral arterioles in rats.

Fundamental Clinical Pharmacology, 2008, 22, 122.

LAL A., VEINOT J. P. et LEENEN F. H.

Prevention of high salt diet-induced cardiac hypertrophy and fibrosis by spironolactone

Am J Hypertens, 2003, 16, 319-323.

LARTAUD I., BRAY-DES-BOSCS L., CHILLON J. M., ATKINSON J. et CAPDEVILLE-ATKINSON C.

In vivo cerebrovascular reactivity in Wistar and Fischer 344 rat strains during aging

Am J Physiol, 1993, 264, H851-858.

LASSEN N. A.

Autoregulation of Cerebral Blood Flow

Circ Res, 1964, 15, SUPPL.:201-204.

LEND A. D. M., SAULS B. A. et BOEGEHOLD M. A.

Reactive oxygen species may contribute to reduced endothelium-dependent dilation in rats fed high salt

Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2000, 279, H7-H14.

LEVER A. F., LYALL F., MORTON J. J. et FOLKOW B.

Angiotensin II, vascular structure and blood pressure

Kidney Int Suppl, 1992, 37, S51-55.

LIND R. W., SWANSON L. W. et GANTEN D.

Angiotensin II immunoreactivity in the neural afferents and efferents of the subfornical organ of the rat

Brain Res, 1984, 321, 209-215.

LINDPAINTE K., JIN M., WILHELM M. J., SUZUKI F., LINZ W., SCHOELKENS B. A. et GANTEN D.

Intracardiac generation of angiotensin and its physiologic role

Circulation, 1988, 77, 118-23.

- LITHELL H., HANSSON L., SKOOG I., ELMFELDT D., HOFMAN A., OLOFSSON B., TRENKWALDER P. et ZANCHETTI A.
The Study on Cognition and Prognosis in the Elderly (SCOPE): principal results of a randomized double-blind intervention trial
J Hypertens, 2003, 21, 875-886.
- LIU Y., FREDRICKS K. T., ROMAN R. J. et LOMBARD J. H.
Response of resistance arteries to reduced PO₂ and vasodilators during hypertension and elevated salt intake
Am J Physiol, 1997, 273, H869-877.
- MAKINO I., SHIBATA K., OHGAMI Y., FUJIWARA M. et FURUKAWA T.
Transient upregulation of the AT₂ receptor mRNA level after global ischemia in the rat brain
Neuropeptides, 1996, 30, 596-601.
- MARANO G., VERGARI A., CATALANO L., GAUDI S., PALAZZESI S., MUSUMECI M., STATI T. et FERRARI A. U.
Na⁺/H⁺ exchange inhibition attenuates left ventricular remodeling and preserves systolic function in pressure-overloaded hearts
Br J Pharmacol, 2004, 141, 526-532.
- MARIA PAVAN DE ARRUDA CAMARGO G., ANTONIO DE ARRUDA CAMARGO L. et SAAD W. A.
Vasopressin and angiotensin receptors of the medial septal area of the brain in the control of thirst and salt appetite induced by vasopressin in water-deprived and sodium-depleted rats
Pharmacol Biochem Behav, 2007, 87, 393-399.
- MARKS L. S. et MAXWELL M. H.
Tigerstedt and the discovery of renin. An historical note
Hypertension, 1979, 1, 384-388.
- MENEELY G. R., TUCKER R. G. et DARBY W. J.
Chronic sodium chloride toxicity in the albino rat. I. Growth on a purified diet containing various levels of sodium chloride
J Nutr, 1952, 48, 489-498.
- MENETON P., JEUNEMAITRE X., DE WARDENER H. E. et MACGREGOR G. A.
Links between dietary salt intake, renal salt handling, blood pressure, and cardiovascular diseases
Physiol Rev, 2005, 85, 679-715.
- MILSTED A., BARNA B. P., RANSOHOFF R. M., BROSNIHAN K. B. et FERRARIO C. M.
Astrocyte cultures derived from human brain tissue express angiotensinogen mRNA
Proc Natl Acad Sci U S A, 1990, 87, 5720-5723.

MINEMATSU K., YAMAGUCHI T., TSUCHIYA M., ITO K., IKEDA M. et OMAE T.

Effect of angiotensin converting enzyme inhibitor (captopril) on cerebral blood flow in hypertensive patients without a history of stroke

Clin Exp Hypertens A, 1987, 9, 551-557.

MIRKOVIC S., SEYMOUR A. M., FENNING A., STRACHAN A., MARGOLIN S. B., TAYLOR S. M. et BROWN L.

Attenuation of cardiac fibrosis by pirfenidone and amiloride in DOCA-salt hypertensive rats

Br J Pharmacol, 2002, 135, 961-968.

MITCHELL J. R.

Hypertension and arterial disease

Br Heart J, 1971, 33, Suppl:122-126.

MORGAN L., BROUGHTON PIPKIN F. et KALSHEKER N.

Angiotensinogen: molecular biology, biochemistry and physiology

Int J Biochem Cell Biol, 1996, 28, 1211-1222.

MORIMOTO S., CASSELL M. D. et SIGMUND C. D.

Glia- and neuron-specific expression of the renin-angiotensin system in brain alters blood pressure, water intake, and salt preference

J Biol Chem, 2002a, 277, 33235-33241.

MORIMOTO S., CASSELL M. D. et SIGMUND C. D.

Neuron-specific expression of human angiotensinogen in brain causes increased salt appetite

Physiol Genomics, 2002b, 9, 113-120.

NAFTILAN A. J., ZUO W. M., INGLEFINGER J., RYAN T. J., JR., PRATT R. E. et DZAU V. J.

Localization and differential regulation of angiotensinogen mRNA expression in the vessel wall

J Clin Invest, 1991, 87, 1300-1311.

NAGATA C., TAKATSUKA N., SHIMIZU N. et SHIMIZU H.

Sodium intake and risk of death from stroke in Japanese men and women

Stroke, 2004, 35, 1543-1547.

NARUSE K., MURAKOSHI M., OSAMURA R. Y., NARUSE M., TOMA H., WATANABE K., DEMURA H., INAGAMI T. et SHIZUME K.

Immunohistological evidence for renin in human endocrine tissues

J Clin Endocrinol Metab, 1985, 61, 172-177.

NICKENIG G., STREHLOW K., ROELING J., ZOLK O., KNORR A. et BOHM M.

Salt induces vascular AT1 receptor overexpression in vitro and in vivo

Hypertension, 1998, 31, 1272-1277.

NISHIMURA H.

Physiological evolution of the renin-angiotensin system

Jpn Heart J, 1978, 19, 806-822.

OKOSHI M. P., YAN X., OKOSHI K., NAKAYAMA M., SCHULDT A. J., O'CONNELL T. D., SIMPSON P. C. et LORELL B. H.

Aldosterone directly stimulates cardiac myocyte hypertrophy

J Card Fail, 2004, 10, 511-518.

PAGE I.H. et HELMER O.M.

A crystalline pressor substance (angiotonin) resulting from the action between renin and renin-activator.

J Exp Med, 1940, 71, 29-42.

PANDEY K. N., MISONO K. S. et INAGAMI T.

Evidence for intracellular formation of angiotensins: coexistence of renin and angiotensin-converting enzyme in Leydig cells of rat testis

Biochem Biophys Res Commun, 1984, 122, 1337-1343.

PARK J. B., TOUYZ R. M., CHEN X. et SCHIFFRIN E. L.

Chronic treatment with a superoxide dismutase mimetic prevents vascular remodeling and progression of hypertension in salt-loaded stroke-prone spontaneously hypertensive rats

Am J Hypertens, 2002, 15, 78-84.

PAUL M., WAGNER J. et DZAU V. J.

Gene expression of the renin-angiotensin system in human tissues. Quantitative analysis by the polymerase chain reaction

J Clin Invest, 1993, 91, 2058-2064.

PAUL M., POYAN MEHR A. et KREUTZ R.

Physiology of local renin-angiotensin systems

Physiol Rev, 2006, 86, 747-803.

PERERA G. A. et BLOOD D. W.

The Relationship of Sodium Chloride to Hypertension

J Clin Invest, 1947, 26, 1109-1118.

PEREZ N. G., DE HURTADO M. C. et CINGOLANI H. E.

Reverse mode of the Na⁺-Ca²⁺ exchange after myocardial stretch: underlying mechanism of the slow force response

Circ Res, 2001, 88, 376-382.

PERRY I. J. et BEEVERS D. G.

Salt intake and stroke: a possible direct effect

J Hum Hypertens, 1992, 6, 23-25.

PHILLIPS M. I., WEYHENMEYER J., FELIX D., GANTEN D. et HOFFMAN W. E.

Evidence for an endogenous brain renin-angiotensin system

Fed Proc, 1979, 38, 2260-2266.

PHILLIPS M. I.

Functions of angiotensin in the central nervous system

Annu Rev Physiol, 1987, 49, 413-435.

PICKEL V. M. et CHAN J.

Co-localization of angiotensin II and gamma-aminobutyric acid in axon terminals in the rat subfornical organ

Neurosci Lett, 1995, 193, 89-92.

PICKKERS P., RUSSEL F. G., THIEN T., HUGHES A. D. et SMITS P.

Only weak vasorelaxant properties of loop diuretics in isolated resistance arteries from man, rat and guinea pig

Eur J Pharmacol, 2003, 466, 281-287.

PSATY B. M., SMITH N. L., SISCOVICK D. S., KOEPESELL T. D., WEISS N. S., HECKBERT S. R., LEMAITRE R. N., WAGNER E. H. et FURBERG C. D.

Health outcomes associated with antihypertensive therapies used as first-line agents. A systematic review and meta-analysis

Jama, 1997, 277, 739-745.

PUEYO M. E., ARNAL J. F., RAMI J. et MICHEL J. B.

Angiotensin II stimulates the production of NO and peroxynitrite in endothelial cells

Am J Physiol, 1998, 274, C214-220.

RASMUSSEN H., BARRETT P., TAKUWA Y. et APFELDORF W.

Calcium in the regulation of aldosterone secretion and vascular smooth muscle contraction

Hypertension, 1987, 10, 123-26.

REGRIGNY O., DELAGRANGE P., SCALBERT E., LARTAUD-IDJOUADIENE I., ATKINSON J. et CHILLON J. M.

Effects of melatonin on rat pial arteriolar diameter in vivo

Br J Pharmacol, 1999, 127, 1666-1670.

REGRIGNY O., DELAGRANGE P., SCALBERT E., ATKINSON J. et CHILLON J. M.

Melatonin increases pial artery tone and decreases the lower limit of cerebral blood flow autoregulation
Fundam Clin Pharmacol, 2001a, 15, 233-238.

REGRIGNY O., DUPUIS F., ATKINSON J., LIMINANA P., SCALBERT E., DELAGRANGE P. et CHILLON J. M.

Cerebral arteriolar structure and function in pinealectomized rats
Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2001b, 281, H1476-1480.

SAAVEDRA J. M.

Brain and pituitary angiotensin
Endocr Rev, 1992, 13, 329-380.

SACKS F. M., SVETKEY L. P., VOLLMER W. M., APPEL L. J., BRAY G. A., HARSHA D., OBARZANEK E., CONLIN P. R., MILLER E. R., 3RD, SIMONS-MORTON D. G., KARANJA N. et LIN P. H.

Effects on blood pressure of reduced dietary sodium and the Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH) diet. DASH-Sodium Collaborative Research Group
N Engl J Med, 2001, 344, 3-10.

SAKAI K. et SIGMUND C. D.

Molecular evidence of tissue renin-angiotensin systems: a focus on the brain
Curr Hypertens Rep, 2005, 7, 135-140.

SASAKI S., ZHANG X. H. et KESTELOOT H.

Dietary sodium, potassium, saturated fat, alcohol, and stroke mortality
Stroke, 1995, 26, 783-789.

SCHELLING P., FISCHER H. et GANTEN D.

Angiotensin and cell growth: a link to cardiovascular hypertrophy?
J Hypertens, 1991, 9, 3-15.

SCHRADER J., LUDERS S., KULSCHEWSKI A., BERGER J., ZIDEK W., TREIB J., EINHAUPL K., DIENER H. C. et DOMINIAK P.

The ACCESS Study: evaluation of Acute Candesartan Cilxetil Therapy in Stroke Survivors
Stroke, 2003, 34, 1699-1703.

SCHRADER J., LUDERS S., KULSCHEWSKI A., HAMMERSEN F., PLATE K., BERGER J., ZIDEK W., DOMINIAK P. et DIENER H. C.

Morbidity and Mortality After Stroke, Eprosartan Compared with Nitrendipine for Secondary Prevention: principal results of a prospective randomized controlled study (MOSES)
Stroke, 2005, 36, 1218-1226.

SCHUNKERT H., DZAU V. J., TANG S. S., HIRSCH A. T., APSTEIN C. S. et LORELL B. H.
Increased rat cardiac angiotensin converting enzyme activity and mRNA expression in pressure overload
left ventricular hypertrophy. Effects on coronary resistance, contractility, and relaxation
J Clin Invest, 1990, 86, 1913-1920.

SKEGGS L. T., JR., KAHN J. R., LENTZ K. et SHUMWAY N. P.
The preparation, purification, and amino acid sequence of a polypeptide renin substrate
J Exp Med, 1957, 106, 439-453.

SKEGGS L. T., LENTZ K. E., GOULD A. B., HOCHSTRASSER H. et KAHN J. R.
Biochemistry and kinetics of the renin-angiotensin system
Fed Proc, 1967, 26, 42-47.

SOKOLOFF L.
Anatomy of cerebral circulation
In: Primer on cerebrovascular diseases / ed. par WELCH K.M.A. C. L. R., REIS D.J., SIESJÖ B.K. ET
WEIR B.
San Diego: Academic Press, 1997. p. 3-5.

SPETH R. C. et HARIK S. I.
Angiotensin II receptor binding sites in brain microvessels
Proc Natl Acad Sci U S A, 1985, 82, 6340-6343.

STENMAN E. et EDVINSSON L.
Cerebral ischemia enhances vascular angiotensin AT1 receptor-mediated contraction in rats
Stroke, 2004, 35, 970-974.

STRANDGAARD S., OLESEN J., SKINHOJ E. et LASSEN N. A.
Autoregulation of brain circulation in severe arterial hypertension
Br Med J, 1973, 1, 507-510.

STRANDGAARD S., JONES J. V., MACKENZIE E. T. et HARPER A. M.
Upper limit of cerebral blood flow autoregulation in experimental renovascular hypertension in the baboon
Circ Res, 1975, 37, 164-167.

STRANDGAARD S.
Autoregulation of cerebral blood flow in hypertensive patients. The modifying influence of prolonged
antihypertensive treatment on the tolerance to acute, drug-induced hypotension
Circulation, 1976, 53, 720-727.

STREHLOW K., NICKENIG G., ROELING J., WASSMANN S., ZOLK O., KNORR A. et BOHM M.
AT(1) receptor regulation in salt-sensitive hypertension
Am J Physiol, 1999, 277, H1701-1707.

SUN Y., RAMIRES F. J., ZHOU G., GANJAM V. K. et WEBER K. T.

Fibrous tissue and angiotensin II

J Mol Cell Cardiol, 1997, 29, 2001-2012.

SWALES J. D. et SAMANI N. J.

Localisation and physiological effects of tissue renin-angiotensin systems

J Hum Hypertens, 1989, 3 Suppl 1, 71-77.

TAKEDA R., HATAKEYAMA H., TAKEDA Y., IKI K., MIYAMORI I., SHENG W. P., YAMAMOTO H. et BLAIR I. A.

Aldosterone biosynthesis and action in vascular cells

Steroids, 1995, 60, 120-124.

TAKEDA Y., YONEDA T., DEMURA M., MIYAMORI I. et MABUCHI H.

Sodium-induced cardiac aldosterone synthesis causes cardiac hypertrophy

Endocrinology, 2000, 141, 1901-1904.

TAKEDA Y., YONEDA T., DEMURA M., FURUKAWA K., MIYAMORI I. et MABUCHI H.

Effects of high sodium intake on cardiovascular aldosterone synthesis in stroke-prone spontaneously hypertensive rats

J Hypertens, 2001, 19, 635-639.

TAKEWAKI S., KURO-O M., HIROI Y., YAMAZAKI T., NOGUCHI T., MIYAGISHI A., NAKAHARA K., AIKAWA M., MANABE I., YAZAKI Y. et ET AL.

Activation of Na(+)-H⁺ antiporter (NHE-1) gene expression during growth, hypertrophy and proliferation of the rabbit cardiovascular system

J Mol Cell Cardiol, 1995, 27, 729-742.

TAQUINI A. C., JR. et TAQUINI A. C.

The renin-angiotensin system in hypertension

Am Heart J, 1961, 62, 558-564.

THIESSON H. C., JENSEN B. L., BISTRUP C., OTTOSEN P. D., MCNEILLY A. D., ANDREW R., SECKL J. et SKOTT O.

Renal sodium retention in cirrhotic rats depends on glucocorticoid-mediated activation of mineralocorticoid receptor due to decreased renal 11 β -HSD-2 activity

Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2007, 292, R625-636.

THOMAS W. G. et SERNIA C.

Immunocytochemical localization of angiotensinogen in the rat brain

Neuroscience, 1988, 25, 319-341.

TIGERSTEDT et BERGMAN

Niere und Kreislauf

Skand Arch Physiol, 1898, 223-271.

TOMINAGA S., STRANDGAARD S., UEMURA K., ITO K. et KUTSUZAWA T.

Cerebrovascular CO₂ reactivity in normotensive and hypertensive man

Stroke, 1976, 7, 507-510.

TOUYZ R. M. et SCHIFFRIN E. L.

Signal transduction mechanisms mediating the physiological and pathophysiological actions of angiotensin II in vascular smooth muscle cells

Pharmacol Rev, 2000, 52, 639-672.

UNGER T.

The role of the renin-angiotensin system in the development of cardiovascular disease

Am J Cardiol, 2002, 89, 3A-9A; discussion 10A.

VAN KESTEREN C. A., VAN HEUGTEN H. A., LAMERS J. M., SAXENA P. R., SCHALEKAMP M. A. et DANSER A. H.

Angiotensin II-mediated growth and antigrowth effects in cultured neonatal rat cardiac myocytes and fibroblasts

J Mol Cell Cardiol, 1997, 29, 2147-2157.

VINCENT J. M., KWAN Y. W., CHAN S. L., PERRIN-SARRADO C., ATKINSON J. et CHILLON J. M.

Constrictor and dilator effects of angiotensin II on cerebral arterioles

Stroke, 2005, 36, 2691-2695.

WALDEMAR G., SCHMIDT J. F., ANDERSEN A. R., VORSTRUP S., IBSEN H. et PAULSON O. B.

Angiotensin converting enzyme inhibition and cerebral blood flow autoregulation in normotensive and hypertensive man

J Hypertens, 1989, 7, 229-235.

WEBER D. S., FRISBEE J. C. et LOMBARD J. H.

Selective potentiation of angiotensin-induced constriction of skeletal muscle resistance arteries by chronic elevations in dietary salt intake

Microvasc Res, 1999, 57, 310-319.

WEIGAND K., WARNZE H. et FALGE C.

Synthesis of angiotensinogen by isolated rat liver cells and its regulation in comparison to serum albumin

Biochem Biophys Res Commun, 1977, 75, 102-110.

WEINBERGER M. H., MILLER J. Z., LUFT F. C., GRIM C. E. et FINEBERG N. S.
Definitions and characteristics of sodium sensitivity and blood pressure resistance
Hypertension, 1986, 8, 1127-134.

WEIR M. R. et DZAU V. J.
The renin-angiotensin-aldosterone system: a specific target for hypertension management
Am J Hypertens, 1999, 12, 205S-213S.

WHITEBREAD S., MELE M., KAMBER B. et DE GASPARO M.
Preliminary biochemical characterization of two angiotensin II receptor subtypes
Biochem Biophys Res Commun, 1989, 163, 284-291.

WHITING P., NAVA S., MOZLEY L., EASTHAM H. et POAT J.
Expression of angiotensin converting enzyme mRNA in rat brain
Brain Res Mol Brain Res, 1991, 11, 93-96.

WIDDOP R. E., JONES E. S., HANNAN R. E. et GASPARI T. A.
Angiotensin AT2 receptors: cardiovascular hope or hype?
Br J Pharmacol, 2003, 140, 809-824.

WIEMER G., SCHOLKENS B. A., WAGNER A., HEITSCH H. et LINZ W.
The possible role of angiotensin II subtype AT2 receptors in endothelial cells and isolated ischemic rat hearts
J Hypertens Suppl, 1993, 11, S234-235.

WRIGHT J. W. et HARDING J. W.
Brain angiotensin receptor subtypes AT1, AT2, and AT4 and their functions
Regul Pept, 1995, 59, 269-295.

XIE J. X., SASAKI S., JOOSSENS J. V. et KESTELOOT H.
The relationship between urinary cations obtained from the INTERSALT study and cerebrovascular mortality
J Hum Hypertens, 1992, 6, 17-21.

ZHANG J. et PRATT R. E.
The AT2 receptor selectively associates with G α 2 and G α 3 in the rat fetus
J Biol Chem, 1996, 271, 15026-15033.

ZHOU J., PAVEL J., MACOVA M., YU Z. X., IMBODEN H., GE L., NISHIOKU T., DOU J., DELGIACCO E. et SAAVEDRA J. M.
AT1 receptor blockade regulates the local angiotensin II system in cerebral microvessels from spontaneously hypertensive rats
Stroke, 2006, 37, 1271-1276.

ZHOU M. S., ADAM A. G., JAIMES E. A. et RAIJ L.

In salt-sensitive hypertension, increased superoxide production is linked to functional upregulation of angiotensin II

Hypertension, 2003, 42, 945-951.

ANNEXE



Sébastien FOULQUIER
s/c Pr. Jeffrey ATKINSON
Faculté de Pharmacie
Laboratoire de pharmacologie
5 rue Albert Lebrun
54000 NANCY

Malzéville, le 2 juin 2008

Expérimentation : " Balance sodée et vasoréactivité cérébrale à l'angiotensine II"

Responsables : Pr. Jeffrey ATKINSON, Pr. Isabelle LARTAUD, Dr. François DUPUIS

Le document de saisine a été reçu le 14 décembre 2007.

L'expérimentation proposée est correctement décrite. Le document de saisine est complet et bien rédigé. Il n'appelle pas de commentaire majeur de notre part.

Le protocole semble validé, les collaborations internes et externes appropriées et les règles de sécurité respectées. Le confort et le bien-être des animaux sont respectés dans le cadre de cette expérience.

Le CREEA émet donc un avis favorable.

Président : Jacques Barrat

AFSSA site de Nancy – LERRPAS Technopôle agricole et vétérinaire BP40009 54220 Malzéville cedex

jbarrat_eulmont@wanadoo.fr

DEMANDE D'IMPRIMATUR

Date de soutenance : 24 octobre 2008

DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR
EN PHARMACIEprésenté par **Sébastien FOULQUIER**Sujet :**Balance sodée et vasoréactivité cérébrale à l'angiotensine II**Jury :

Président :

M. J. ATKINSON, Professeur, Faculté de Pharmacie, Nancy

Juges :

- Mme I. LARTAUD, Professeur, Faculté de Pharmacie, Nancy
- M. S. THORNTON, Professeur, Faculté des Sciences et Techniques, Nancy
- M. A. RUPIN, Docteur en Pharmacie, Institut de Recherches Servier, Suresnes

Vu,

Nancy, le

24 septembre 2008

Le Président du Jury

Le Directeur de Thèse

Pr. J. ATKINSON

Pr. I. LARTAUD

Vu et approuvé,

Nancy, le

26 SEP. 2008

Doyen de la Faculté de Pharmacie
de l'Université Henri Poincaré - Nancy 1,
CHANTAL FINANCE
FACULTE de PHARMACIE
UNIVERSITE HENRI POINCARÉ - NANCY 1

Vu,

Nancy, le 30. 9 - 08

Le Président de l'Université Henri Poincaré - Nancy 1,

LE PRESIDENT
Jean-Pierre FINANCE
UNIVERSITE HENRI POINCARÉ - NANCY 1

N° d'enregistrement :

3129

TITRE**BALANCE SODEE ET VASOREACTIVITE CEREBRALE A L'ANGIOTENSINE II**

Thèse soutenue le : 24 octobre 2008

Par Sébastien FOULQUIER

RESUME :

Au niveau des artères extra-cérébrales, un régime hypersodé, en diminuant l'angiotensine II (AII), est responsable d'une « up-regulation » des récepteurs AT_1 et d'une augmentation de la vasoconstriction AT_1 -dépendante à l'AII. En parallèle, un régime hypersodé induit une « down-regulation » des récepteurs AT_2 et diminue donc la vasodilatation AII dépendante. Ces modifications d'expression et de densité des récepteurs AT_1 et AT_2 suite aux changements d'apport en Na^+ dans l'alimentation modulent donc la réactivité des artères et artérioles extra-cérébrales à l'AII. Si un tel mécanisme se produit au niveau de la circulation cérébrale, cela se traduirait par la potentialisation de la constriction AT_1 -dépendante et l'atténuation de la dilatation AT_2 -dépendante. Ainsi, un régime hypersodé pourrait potentialiser l'ischémie cérébrale et ses conséquences. Dans ce travail, nous avons caractérisé des modèles de modification de la balance sodée (positive et négative) pour en évaluer l'impact sur la réactivité cérébro-artériolaire à l'AII.

Des rats Wistar mâles soumis à des régimes variés en Na^+ pendant 4 à 30 jours, ont été suivis en cages métaboliques pour la détermination de la balance sodée. La vasoréactivité AT_1 (vasoconstriction) et AT_2 (vasodilatation) dépendante à l'AII a été évaluée sur les artérioles cérébrales *in situ* respectivement en absence et en présence d'un antagoniste des récepteurs AT_1 , le losartan.

Malgré l'obtention de changements au niveau de la balance sodée, qui se sont traduits par des modifications attendues des niveaux d'aldostérone plasmatique, la réponse vasoconstrictrice à l'AII (en absence de losartan) s'avère être la même pour la plupart des groupes. Cependant, en présence de losartan, la réponse vasodilatatrice à l'AII est inexistante pour les groupes soumis aux régimes variés en Na^+ .

En conclusion, notre étude a permis de caractériser un modèle de changements de la balance sodée, dont l'impact cérébro-artériolaire est une disparition de la vasodilatation AT_2 dépendante à l'AII.

MOTS CLES : Système Rénine Angiotensine Aldostérone, circulation cérébrale, sel, balance sodée, vasoréactivité, artériole cérébrale, régulation des récepteurs à l'angiotensine, AT_1/AT_2 .

Directeur de thèse	Intitulé du laboratoire	Nature
Pr. Isabelle LARTAUD	Laboratoire de Pharmacologie Cardiovasculaire	Expérimentale <input checked="" type="checkbox"/> Bibliographique <input type="checkbox"/> Thème <input type="checkbox"/>

Thèmes

1 – Sciences fondamentales

3 – Médicament

5 - Biologie

2 – Hygiène/Environnement

4 – Alimentation – Nutrition

6 – Pratique professionnelle