

Université de Montréal

**Inhibition de l'enzyme de conversion de l'angiotensine
et prévention de l'hypertrophie et de la fibrose cardiaques
chez des rats spontanément hypertendus**

par

Caroline Gagnon

Département de Pharmacologie

Faculté de Médecine

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures
en vue de l'obtention du grade de
Maître ès sciences (M.Sc.)
en Pharmacologie

août 2001

© Caroline Gagnon 2001



W
4
U58
2002
v.066

Université de Montréal
Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé:

**Inhibition de l'enzyme de conversion de l'angiotensine
et prévention de l'hypertrophie et de la fibrose cardiaques
chez des rats spontanément hypertendus**

présenté par:

Caroline Gagnon

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes:

Dr Denis Deblois
président-rapporteur

Dre Chantal Lambert
directrice de recherche

Dr Guy Rousseau
membre du jury

RÉSUMÉ

Les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (IECA) normalisent la pression artérielle et préviennent ou entraînent une régression de l'hypertrophie et de la fibrose cardiaques. Il semble que la qualité plutôt que la quantité de collagène joue un rôle déterminant dans la fonction cardiaque, le collagène de type III étant plus extensible que celui de type I. Le zofénopril possède un groupement fonctionnel sulphydryl aux propriétés antioxydantes lui conférant possiblement des effets cardioprotecteurs additionnels. Cette étude compare l'effet du zofénopril et du lisinopril (groupement carboxyl) dans la prévention de l'hypertrophie et de la fibrose cardiaques chez des SHR. L'effet d'un antagoniste AT₁ (losartan) a également été évalué. Nous avons utilisé 24 WKY et 96 SHR non-traités ou recevant du zofénopril (10 mg/kg/jour), du lisinopril (10 mg/kg/jour) ou du losartan (20 mg/kg/jour) dès l'âge de 4 semaines. À 8, 16 et 24 semaines, la pression artérielle, l'hypertrophie cardiaque et la disposition du collagène ont été déterminées. Tous les traitements ont diminué la pression artérielle et l'hypertrophie, les deux variables étant corrélées. Le collagène ventriculaire était diminué de façon similaire dans tous les groupes traités. Le zofénopril a augmenté l'expression du collagène III et semblait normaliser le ratio de collagène I/III. Puisque tous les traitements ont prévenu le développement de l'hypertrophie et de la fibrose et que seul le zofénopril a augmenté l'expression du collagène III, nos résultats suggèrent un rôle de son groupement sulphydryl. La relation existant entre les radicaux libres de l'oxygène et la synthèse, la dégradation ou les phénotypes de collagène reste à être démontrée.

Mots clés : Inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine, hypertension, hypertrophie cardiaque, collagène, groupement sulphydryl, antioxydant, zofénopril, rats spontanément hypertendus.

SUMMARY

ACE inhibitors prevent the development of hypertension as well as of cardiac hypertrophy and fibrosis. It has been suggested that quality rather than quantity of collagen present in the heart is more important in determining cardiac function, type III collagen being more distensible than type I. The sulphhydryl-group of zofenopril has free radical scavenging and antioxidant properties that might be responsible for some of its additional cardioprotective effects. This study compared the effects of zofenopril and lisinopril (carboxyl group) on the prevention of cardiac hypertrophy and collagen disposition in SHR. The effects of an AT₁ receptor antagonist (losartan) were also evaluated. 24 WKY and 96 SHR were used. The SHR were untreated or received: zofenopril (10 mg/kg/day), lisinopril (10 mg/kg/day) or losartan (20 mg/kg/day) in drinking water starting at 4 weeks of age. At 8, 16 and 24 weeks of age, 8 rats/group were sacrificed for determination of blood pressure, cardiac hypertrophy and collagen disposition. All treatments significantly decreased blood pressure and cardiac hypertrophy, both variables being significantly correlated. Total ventricular collagen content was similarly decreased in all treated groups. Zofenopril significantly increased the expression of collagen type III and seemed to normalize the collagen type I/III ratio. Since all treatments prevented the development of cardiac hypertrophy and disposition of collagen whereas only zofenopril had an effect on the expression of collagen III, our results suggest a role for its sulphhydryl-group. The relation existing between oxygen free radicals and synthesis, degradation or phenotypes of collagen is yet to be demonstrated.

Key words : Angiotensin converting enzyme inhibitors, hypertension, cardiac hypertrophy, collagen, sulphhydryl group, antioxidant, zofenopril, spontaneously hypertensive rats.

TABLE DES MATIÈRES

Identification du jury	ii
Résumé (français).....	iii
Résumé (anglais).....	iv
Table des matières	v
Liste des tableaux	viii
Liste des figures.....	ix
Liste des sigles et abréviations	xi
Remerciements	xiii
Dédicace	xvi

CHAPITRE 1 : INTRODUCTION

1. HYPERTENSION ARTÉRIELLE.....	18
1.1 Définition	18
1.2 Physiopathologie.....	20
1.3 Épidémiologie.....	21
2. HYPERTROPHIE CARDIAQUE.....	23
2.1 Définition.....	23
2.2 Caractéristiques et causes de l'hypertrophie ventriculaire gauche.....	23
3. BIOSYNTÈSE DE LA MATRICE EXTRACELLULAIRE DU CŒUR..	26
3.1 Composition de la matrice extracellulaire cardiaque	26
3.2 Le collagène.....	27
3.2.1 Réseau de collagène cardiaque	27
3.2.2 Synthèse de collagène.....	28
3.2.3 Dégradation de collagène.....	31
3.2.3.1 Voie intracellulaire.....	31
3.2.3.2 Voie extracellulaire	31
3.3 Altérations fonctionnelles et phénotypiques de la matrice extracellulaire du cœur.....	33
3.3.1 Fibrose cardiaque.....	33
3.3.2 Altérations quantitatives et qualitatives du collagène.....	34

4. SYSTÈME RÉNINE-ANGIOTENSINE-ALDOSTÉRONÉ	37
4.1 Cascade d'activation du SRAA	37
4.2 Rôles physiologiques de l'Ang II	39
4.3 Récepteurs AT ₁ et AT ₂ de l'Ang II: caractérisation et voies de signalisation	42
4.3.1 Récepteur AT ₁	42
4.3.2 Récepteur AT ₂	45
4.4 Blocage du SRAA	47
4.4.1 Inhibiteurs de l'ECA.....	49
4.4.1.1 Propriétés antioxydantes du captopril et du zofénopril	53
4.4.1.2 Mécanismes d'action des IECA	57
4.4.1.3 Effets bénéfiques des IECA sur les paramètres cardiaques.....	59
4.4.2 Antagonistes de l'angiotensine II	62
 5. MODÈLES EXPÉRIMENTAUX D'HYPERTENSION ARTÉRIELLE.....	65
5.1 Modèles d'hypertension secondaire	65
5.2 Modèles d'hypertension génétique	66
5.3 Modèle expérimental : le rat spontanément hypertendu (SHR)	68
5.3.1 Origine	68
5.3.2 Développement de la pathologie.....	68
 6. TRAITEMENTS ANTIHYPERTENSEURS	70
6.1 Agents antihypertenseurs.....	71
6.2 Recommandations cliniques canadiennes pour le choix du traitement chez les adultes atteints d'HTA non compliquée	73
6.3 Les IECA comme traitement de premier choix	74
 7. HYPOTHÈSE ET BUT DU PROJET DE RECHERCHE.....	77

CHAPITRE 2 : ARTICLE

SULPHYDRYL- AND NON-SULPHYDRYL-ACE INHIBITORS ON PREVENTION OF CARDIAC HYPERTROPHY AND COLLAGEN DISPOSITION IN SPONTANEOUSLY HYPERTENSIVE RATS.

ABSTRACT	81
KEYWORDS	82
INTRODUCTION.....	83
METHODS.....	85
RESULTS.....	89
DISCUSSION	92
ACKNOWLEDGEMENTS	98
REFERENCES.....	99
LEGENDS TO FIGURES.....	113

CHAPITRE 3 : DISCUSSION ET CONCLUSION

1. Problématique.....	117
2. Modèle expérimental d'hypertension artérielle.....	119
3. Choix et initiation du traitement.....	120
4. Importance de l'intégrité de la matrice extracellulaire.....	122
5. Propriétés antioxydantes du zofénopril	130
6. Importance des IECA en clinique	132
7. Projets futurs	134
8. Conclusion	138

RÉFÉRENCES.....	140
------------------------	------------

ANNEXE	180
---------------------	------------

LISTE DES TABLEAUX

- Tableau I :** Comparaison des actions pharmacologiques *in vivo*
d'un inhibiteur de l'ECA et d'un antagoniste du récepteur AT₁.....49
- Tableau II :** Différentes propriétés pharmacologiques, pharmacocinétiques
et thérapeutiques des inhibiteurs de l'ECA.....51

LISTE DES FIGURES

Figure 1 :	Processus de formation transcriptionnel et post-traductionnel du collagène fibrillaire	30
Figure 2 :	Cascade d'activation du SRAA	38
Figure 3 :	Structure chimiques du lisinopril (groupement fonctionnel carboxyl), du zofénopril et du zofénoprilat, son métabolite actif (groupement fonctionnel sulphydryl	52
Figure 4 :	Les divers radicaux libres dérivés de l'oxygène.....	54

ARTICLE

Figure 1	Graph showing the body weight of WKY rats, untreated SHRs and SHRs treated with zofenopril 10 mg/kg/day, lisinopril 10 mg/kg/day or losartan 20 mg/kg/day determined at 4, 8, 16 and 24 weeks of age.....	106
Figure 2	Graph showing the mean arterial pressure (MAP) measured in conscious and unrestrained WKY rats, untreated SHRs and SHRs treated with zofenopril 10 mg/kg/day, lisinopril 10 mg/kg/day or losartan 20 mg/kg/day at 8, 16 and 24 weeks of age.	107
Figure 3	Graph showing the ventricles to body weight ratio (VW/BW) of WKY rats, untreated SHRs and SHRs treated with zofenopril 10 mg/kg/day, lisinopril 10 mg/kg/day or losartan 20 mg/kg/day determined at 8, 16 and 24 weeks of age.....	108
Figure 4	Graph showing A) the left ventricular wall thickness (LVWT) and B) the left ventricular internal diameter (LVID) of WKY rats, untreated SHRs and SHRs treated with zofenopril 10 mg/kg/day, lisinopril	

10 mg/kg/day or losartan 20 mg/kg/day determined at 8, 16 and 24 weeks of age.....109

Figure 5 Graph showing **A)** collagen concentration (mg/g) and **B)** total ventricular collagen content (TVCC) of WKY rats, untreated SHRs and SHRs treated with zofenopril 10 mg/kg/day, lisinopril 10 mg/kg/day or losartan 20 mg/kg/day determined at 8, 16 and 24 weeks of age.....110

Figure 6 Graph showing expression of collagen type I and III and collagen type I/III ratio of WKY rats, untreated SHRs and SHRs treated with zofenopril 10 mg/kg/day, lisinopril 10 mg/kg/day or losartan 20 mg/kg/day determined at 24 weeks of age.....111

Figure 7 Relationship of ventricles to body weight ratio (VW/BW) to mean arterial pressure (MAP) of WKY rats, untreated SHRs and SHRs treated with zofenopril 10 mg/kg/day, lisinopril 10 mg/kg/day or losartan 20 mg/kg/day at all ages.....112

LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS

α	Alpha
AC	Adénylyl cyclase
ADH	Antidiuretic hormone
ANF	Atrial natriuretic factor
Ang II	Angiotensine II
ARNm	Acide ribonucléique messenger
AVC	Accident vasculaire cérébral
β	Bêta
CAPPP	Captopril Prevention Project
DAG	Diacylglycérol
DOCA	Désoxycorticostérone
ECA	Enzyme de conversion de l'angiotensine
ERK	Extracellular signal-regulated kinase
ET	Endothéline
GMP	Guanosine monophosphate
HOPE	Heart Outcomes Prevention Evaluation
HTA	Hypertension artérielle
HVG	Hypertrophie ventriculaire gauche
IECA	Inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine
IP ₃	Inositol 1,4,5-triphosphate
JNK	c-Jun N-terminal kinase
K ⁺	Ion potassium

kDa	kiloDalton
L-NAME	L-nitro-arginine méthyl ester
MAP	Mitogen activated protein
MHC	Myosin heavy chain
mmHg	Millimètres de mercure
MMP-1	Matrix metalloproteinase-1
Na ⁺	Ion sodium
NO	Monoxyde d'azote
PGE ₂	Prostaglandine E ₂
PKC	Protéine kinase C
PLC	Phospholipase C
RER	Réticulum endoplasmique rugueux
SH	Sulphydryl
SHR	Spontaneously hypertensive rat
SNA	Système nerveux autonome
SNC	Système nerveux central
SOLVD	Studies Of Left Ventricular Dysfonction
SRAA	Système rénine-angiotensine-aldostérone
STOP-2	Swedish Trial in Old Patients-2
TGF- β	Transforming growth factor- β
TIMP	Tissue inhibitors of metalloproteinase
WKY	Wistar-Kyoto

REMERCIEMENTS

Je tiens d'abord à remercier Dre Chantal Lambert, ma directrice de recherche, pour son expertise, sa rigueur scientifique, son support et sa grande disponibilité dans l'achèvement de ce projet. Je lui suis également très reconnaissante de m'avoir donné l'opportunité de diversifier mes apprentissages.

À Francine Legault, agente de recherche, sans qui ce projet n'aurait jamais été possible. Je tiens à lui transmettre ma profonde reconnaissance pour tout le temps et l'énergie investis dans cette étude ainsi que d'avoir su me faire partager son expertise et son amour des animaux.

Au Dr Stephano Evangelista (Menarini Ricerche S.p.A. Florence, Italie) pour sa collaboration scientifique et pour m'avoir gentiment permis de présenter les résultats de cette étude.

Au Dr Jean-François Tanguay de m'avoir reçu dans son laboratoire et à Pedro Geraldès pour sa collaboration scientifique dans l'étude de l'expression des collagènes de type I et III par coloration au rouge Sirius.

À toute l'équipe du Dr Angelino Calderone et en particulier à Frédéric Colombo de m'avoir fait découvrir la biologie moléculaire, malgré l'absence malheureuse de résultats pouvant être présentés dans ce mémoire.

Au Dr Sylvain Meloche pour m'avoir également accueilli dans son laboratoire et à Stéphane Pelletier pour son support technique dans l'apprentissage des essais de liaison effectués lors de mon 1^{er} projet de recherche.

À tous les collègues du département que j'ai eu le plaisir de côtoyer et tout particulièrement à Élisabeth Pérès : pour l'aide informatique apportée lors des présentations orales ou par affiches, à Marie-Yolaine Thomas : pour m'avoir fait partager ses connaissances lors des travaux pratiques et pour son rire communicatif, à Normand McNicoll : pour ses conseils «radioactifs», à Odette Boissé : pour tous les bons de commande «urgents» qu'elle m'a si gentiment procurés, à Francine Côté : pour son dévouement, sa bonne humeur et son sourire contagieux et à Lucie Héroux : pour son support technique et amical.

Ma gratitude va aussi à toute la gang d'étudiants de Pharmacologie : Annie, Fannie, Hugo, Jean-François, Julie Deschênes, Julie «La française» Nicolas, Simon et Stéphanie pour votre amitié et nos soirées inoubliables... Un merci tout spécial à Caroline et Claudia pour nos longues conversations sur la vie, votre écoute attentive et vos conseils. La complicité et l'amitié qui s'en découlent ont une place de choix dans ma vie et m'ont grandement aidée à finaliser ce projet.

À Sophie et Pascal, mes «échappatoires» du 5^e et du 8^e étage. Merci d'avoir toujours été là, de m'avoir écouté et encouragé dans les moments difficiles et surtout, d'apporter autant d'agrément dans ma vie!

À vous tous, ma merveilleuse et fidèle gang de Biologie : Claudie, Claudia, Geneviève, Lyne, Pascal, Sébastien, Sophie et Véronique. Merci d'être toujours aussi présents dans ma vie et de me divertir autant!

À Élise, Isabelle et Véronique, mine de rien, une profonde amitié s'est tissée au cours de ces 5 dernières années de vie montréalaise. Je ne saurais dire à quel point votre présence, votre support, votre folie et votre joie de vivre ont su me procurer l'énergie et la force nécessaires à l'accomplissement de ce mémoire. Merci d'être tout simplement ce que vous êtes, votre amitié m'est très chère!

À mes parents, qui ont su m'inculquer le respect, l'estime de soi, le courage et la détermination, des valeurs sans lesquelles je n'aurais pu mettre à terme ce projet. Maman et Bruno, merci pour vos conseils et pour avoir pris soin de moi durant une partie de la rédaction de ce mémoire. Papa, merci pour ta disponibilité, ton sens de l'humour et ta joie de vivre!

À mon frère Martin et à Mireille, dont j'ai le bonheur d'avoir auprès de moi. L'amitié à toute épreuve qui nous unit s'étend bien au-delà de nos liens familiaux et est extrêmement précieuse à mes yeux. Merci d'être toujours là pour moi, de me soutenir dans tout ce que j'entreprends et d'égayer ma vie.

Au Lac St-Jean, mon lac, mes origines, ma source intarissable d'énergie. Ta beauté majestueuse et ta grandeur démesurée m'apportent toujours autant d'émerveillement et me rappellent l'importance de garder son cœur d'enfant...

Je remercie finalement la Faculté des études supérieures de m'avoir permis de bénéficier d'une bourse pour la rédaction de ce mémoire.

*« Voici mon secret. Il est très simple :
on ne voit bien qu'avec le cœur.
L'essentiel est invisible pour les yeux. »*

Le petit prince, Antoine de Saint-Exupéry

À Francine,

À ma mère, Rosianne et à Bruno

Et à mon père, Gilles

CHAPITRE 1

INTRODUCTION

1. HYPERTENSION ARTÉRIELLE

1.1 Définition

L'hypertension artérielle (HTA) est définie comme étant une pression artérielle augmentée de manière chronique. La pression artérielle est la force motrice qui est nécessaire pour que le sang irrigue correctement les organes et leur apporte l'oxygène et les autres nutriments nécessaires à leur fonctionnement. De façon plus précise, la pression artérielle est le résultat du débit cardiaque multiplié par la résistance rencontrée à l'intérieur du système circulatoire ou la résistance périphérique totale. Cette force exercée par la circulation sanguine contre les vaisseaux sanguins est obtenue par la mesure de deux données. La première donnée, la plus haute, appelée pression artérielle systolique a lieu lorsque le cœur exerce sa force maximale de contraction, la systole. La deuxième donnée, la plus basse, appelée pression artérielle diastolique, est la phase de relaxation et de dilatation du cœur entre deux contractions et durant laquelle le cœur se remplit de sang, la diastole. La différence entre ces deux pressions est appelée pression différentielle. Celle-ci tend à s'élever si le volume sanguin ventriculaire augmente ou si l'élasticité des artères diminuent. La pression artérielle moyenne est relativement constante et est obtenue par la somme de la pression diastolique au tiers de la pression différentielle (Marieb 1999).

Théoriquement, l'hypertension peut résulter d'une augmentation du débit cardiaque, de la résistance périphérique ou des deux. Chez les individus normotendus de même que chez les hypertendus, ces facteurs sont principalement contrôlés par deux

mécanismes qui se chevauchent: les baroréflexes relayés par le système nerveux sympathique et le système rénine-angiotensine-aldostérone (SRAA, voir section 4). Les baroréflexes du système nerveux sympathique sont responsables de la régulation rapide, minute-à-minute, de la pression sanguine. Une baisse de la pression sanguine active les barorécepteurs situés dans la crosse aortique et les sinus carotidiens et reliés au centre vasomoteur du tronc cérébral qui contrôle l'activité du système nerveux autonome. Cette activation neuronale sensible à la pression permet d'envoyer moins d'impulsions aux centres cardiovasculaires de la moelle épinière. Ainsi, cela engendre une réponse réflexe qui augmente l'influx sympathique et diminue l'influx parasympathique au cœur et à la vasculature. Il en résulte une augmentation du débit cardiaque et une vasoconstriction, ce qui mène à une augmentation compensatoire de la pression artérielle.

Le contrôle à long terme de la pression sanguine est sous l'égide des reins, via la modification du volume sanguin. Une réduction de la pression de perfusion rénale entraîne une redistribution du flux sanguin dans le rein ainsi qu'une augmentation de la réabsorption de sel et d'eau. De plus, les barorécepteurs rénaux répondent à une diminution de pression sanguine de même qu'à une stimulation des récepteurs β -adrénergiques en libérant l'enzyme rénine, qui augmente la production d'angiotensine II (Ang II, voir section 4.2). L'Ang II est une substance fortement vasoconstrictrice et elle stimule de plus la synthèse d'aldostérone qui conduit à une réabsorption rénale de sodium, d'où une augmentation du volume sanguin contribuant encore davantage à élever la pression artérielle (Benowitz 1995).

1.2 Physiopathologie

Selon l'Organisation mondiale de la santé, l'HTA se chiffre à une pression artérielle systolique égale ou supérieure à 140 millimètres de mercure (mmHg) et à une pression artérielle diastolique égale ou supérieure à 90 mmHg, la valeur optimale de pression artérielle étant inférieure à 120/80 mmHg. L'HTA est divisée en plusieurs grades qui sont l'hypertension artérielle légère (entre 140-159 et 90-99 mmHg), l'hypertension artérielle modérée (entre 160-179 et 100-109 mmHg) et l'hypertension artérielle sévère (supérieure à 180-110 mmHg) (Rayburn 1998).

Dans la très grande majorité des cas (90 à 95%), l'hypertension est *essentielle* ou *idiopathique*, c'est-à-dire qu'elle n'a aucune cause organique décelable. Il est très probable que des facteurs génétiques soient alors impliqués; l'HTA est d'ailleurs fréquemment retrouvée chez plusieurs membres d'une même famille (Williams 2000). Dans les autres cas, l'hypertension est dite *secondaire*, c'est-à-dire qu'elle résulte de pathologies diverses comme une maladie rénale (insuffisance rénale, pyélonéphrite) ou un trouble endocrinien ou vasculaire (artériosclérose) (Khan 2000a). Elle peut aussi être secondaire à un syndrome d'apnée du sommeil ou peut survenir chez la femme enceinte. Certains médicaments peuvent provoquer ou aggraver une HTA: pilule contraceptive, corticoïdes, anti-inflammatoires. De plus, plusieurs facteurs environnementaux influencent le développement de l'hypertension: l'apport en sel, l'obésité, la consommation d'alcool, la situation professionnelle, etc. (Williams 2000).

Une hypertension non traitée peut à long terme endommager des régions vitales du corps humain soit le cœur, le cerveau et les reins. Une pression artérielle élevée exige que le cœur pompe plus fort, ce qui entraîne son grossissement, obtenu par une hypertrophie concentrique du ventricule gauche (voir section 2), tout en le rendant moins efficace. Une pression sanguine élevée augmente aussi les risques d'un accident vasculaire cérébral (AVC) à cause d'un blocage ou de la rupture d'une artère alimentant le cerveau. Dans les deux cas, il y a destruction du tissu cérébral. De plus, l'hypertension peut causer le rétrécissement des minuscules vaisseaux de l'arrière de l'œil ou une hémorragie, entraînant une vision trouble et même la cécité. Les vaisseaux sanguins des reins peuvent également être touchés par l'hypertension. Le rétrécissement ou la rupture de petits vaisseaux sanguins des reins peut éventuellement conduire à une insuffisance rénale, c'est-à-dire une moins bonne performance des reins à filtrer les déchets du sang (Williams 2000).

1.3 Épidémiologie

L'HTA essentielle est une maladie très fréquente puisqu'elle affecte 10 à 15% de la population en Amérique du Nord et représente donc un problème sérieux de santé publique (Benowitz 1995). En effet, l'hypertension vient au troisième rang des principales causes de mortalité dans le monde (Kuulasmaa et al. 2000). Elle constitue un facteur de risque important dans le développement de l'athérosclérose, des AVC, des maladies cardiovasculaires (angine de poitrine, infarctus du myocarde, insuffisance cardiaque) et de l'insuffisance rénale (Cartier et al. 1999), non seulement dans les pays développés de l'Ouest, mais aussi en Europe de l'Est et en

Asie. En règle générale, les hommes sont plus concernés par l'HTA que les femmes non ménopausées. De plus, plusieurs études ont démontré que la prévalence de l'hypertension augmente avec l'âge. D'autres données indiquent que les sujets américains de race noire sont plus hypertendus que les individus d'autres races, possiblement à cause d'une sensibilité plus élevée au sel, qui retient l'eau et augmente ainsi la pression artérielle (Khan 2000a).

Encore aujourd'hui, bien qu'il soit relativement simple de diagnostiquer et de traiter l'HTA, cette maladie demeure mal contrôlée. D'après une récente étude canadienne portant sur la santé cardiaque, seulement 16% des hypertendus ont une pression artérielle contrôlée adéquatement (Joffres et al. 1997). Les statistiques compilées par Santé et Bien-Être Canada montrent que 23% des tensions artérielles chez les hypertendus traités ne sont pas bien contrôlées, que 19% des hypertendus connus ne sont pas traités et que 42% des Canadiens hypertendus ne sont pas diagnostiqués (Cartier et al. 1999). Ces chiffres sont d'ailleurs comparables à la situation retrouvée dans d'autres pays industrialisés (Feldman et al. 1999).

D'un point de vue économique, le coût des prescriptions médicamenteuses liées au traitement de l'HTA représente plus de 12% de celui de l'ensemble des prescriptions pharmaceutiques. À titre de comparaison, cela équivaut à plus de 1,5 fois le coût lié aux prescriptions d'antibiotiques, à plus de 1,6 fois celui de l'ensemble des psychotropes ou encore, à 3 fois les dépenses liées aux analgésiques (Norber 2001). Ainsi, l'HTA constitue actuellement, de par sa fréquence, son coût et la gravité de ses complications, un des principaux enjeux de santé publique au Canada et ailleurs dans le monde.

2. HYPERTROPHIE CARDIAQUE

2.1 Définition

Le développement de l'hypertrophie ventriculaire gauche (HVG) constitue un des principaux mécanismes de compensation du cœur suite à une augmentation de charge (Lorell 1997). Il est bien établi que l'étirement du tissu cardiaque secondaire à l'hypertension est un élément déterminant dans l'initiation de l'HVG (Robert et al. 1993) En effet, comme la pression est élevée dans les artères, celles-ci deviennent très rigides, d'où une diminution de la compliance, et le cœur est obligé de travailler d'avantage pour évacuer le sang. Ainsi, il va s'hypertrophier, devenir beaucoup plus épais. L'HVG observée lors de l'HTA est caractérisée par une augmentation de la masse ventriculaire secondaire à l'hypertrophie des cellules myocardiques et au développement à divers degrés du tissu de soutien (collagène; voir section 3.2) et des capillaires (Amabile 1998). Elle résulte surtout d'une augmentation de la taille des cardiomyocytes et, en second lieu, d'une hyperplasie des cellules musculaires lisses et non-musculaires.

2.2 Caractéristiques et causes de l'hypertrophie ventriculaire gauche

Dans le cœur adulte, une élévation de la pression dans les ventricules induit une hypertrophie concentrique caractérisée par une augmentation de l'épaisseur de la paroi ventriculaire sans élargissement de la chambre. Ce phénomène s'accomplit par une expansion latérale des cardiomyocytes sans changement dans le nombre des cellules ou la longueur moyenne des myocytes (Weber et al. 1992). Les

modifications de la composante musculaire sont aussi bien quantitatives, avec la synthèse de nouvelles unités contractiles, que qualitatives avec des changements phénotypiques liés à l'activation d'un programme génique de type fœtal (Kim et al. 2000).

Il y a, par exemple, réexpression d'une isoforme de type embryonnaire (isoforme β) de la chaîne lourde de la myosine dans le ventricule gauche hypertrophié de rat adulte (Izumo et al. 1987). Cela permet une dépense énergétique moindre puisque la fibre cardiaque développe une tension active normale avec une vitesse de raccourcissement diminuée. Plusieurs iso-protéines de type fœtal sont également réexprimées lors de l'hypertrophie: l'actine α -squelettique (Schwartz et al. 1986), la β -tropomyosine et l'isoforme $\alpha 3$ de la Na^+ , K^+ -ATPase (Robert et al. 1993). D'autre part, il y a une diminution relative de la synthèse de plusieurs enzymes clés du métabolisme calcique avec l'hypertrophie: Ca^{2+} -ATPase et isoforme $\alpha 2$ de la Na^+ , K^+ -ATPase. L'activité de l'échangeur sodium-calcium est aussi diminuée. L'ensemble de ces modifications mène à une diminution de la contrainte pariétale par augmentation de la masse ventriculaire, ce qui constitue le volet adaptatif du remodelage ventriculaire. Cependant, cela aboutit également à une diminution des mouvements calciques et à un ralentissement de la relaxation, ce qui peut avoir des conséquences délétères sur la diastole et le remplissage ventriculaire. De plus, cet effet ne peut qu'être aggravé si la compliance ventriculaire est diminuée, comme c'est le cas si une fibrose importante existe (voir section 3.3.1) (Robert et al. 1993).

Ainsi, les myocytes et les fibroblastes cardiaques jouent un rôle majeur dans le développement de l'hypertrophie et de la dysfonction cardiaques. Weber et ses collaborateurs (Brilla et al. 1990; Chapman et al. 1990) ont proposé que l'hypertrophie cardiaque est régulée par des facteurs biochimiques circulants, tels que l'Ang II et/ou l'aldostérone (voir section 4). Plusieurs évidences *in vitro* et *in vivo* supportent le fait que l'Ang II est impliquée dans l'ensemble des processus menant à l'hypertrophie cardiaque, incluant l'hypertrophie des cardiomyocytes, la reprogrammation de gènes fœtaux, la prolifération des fibroblastes et l'accumulation des protéines de la matrice extracellulaire (Kim & Iwao 2000). Il a aussi été proposé que des mécanismes neurohumoraux comme l'activation du système rénine-angiotensine et du système adrénergique pourraient contribuer au développement de l'HVG (Zhu et al. 1997). L'Ang II stimule également d'autres facteurs, les endothélines 1 et 3 (ET₁ et ET₃) et le TGF-β1 (*transforming growth factor-β₁*), qui sont aussi impliqués dans le développement de l'HVG et l'accumulation de collagène (voir section 3) (Weber 2000).

3. BIOSYNTHÈSE DE LA MATRICE EXTRACELLULAIRE DU COEUR

3.1 Composition de la matrice extracellulaire cardiaque

Alors que les cardiomyocytes constituent le compartiment contractile du myocarde, l'importance fonctionnelle des fibroblastes cardiaques repose sur la production d'une matrice extracellulaire hautement organisée (Nicoletti 1995). Cette matrice va permettre le passage de tous les éléments nutritifs essentiels. C'est aussi le lieu où vont s'accumuler les divers produits de sécrétion des cellules musculaires lisses, des cellules endothéliales et des macrophages ainsi que des débris cellulaires. Elle est principalement composée de collagène et d'élastine. La cohésion entre ces cellules et ces protéines fibreuses est assurée par les glycoprotéines de structure, la fibronectine, la laminine, la vitronectine et la thrombospondine ainsi que par les protéoglycanes (Rouis et al. 1996).

La matrice extracellulaire relie les cardiomyocytes les uns aux autres et aux capillaires. Les travées qui relient les cardiomyocytes permettent l'alignement des cellules, la répartition équitable des forces entre les cellules et empêchent tout glissement entre les cellules (Nicoletti 1995). Ainsi, la matrice extracellulaire joue un rôle essentiel dans la constitution, le maintien et le remodelage de l'architecture tissulaire.

3.2 Le collagène

Jusqu'à maintenant, 18 types différents de collagène codés par un groupe de 30 gènes ont été identifiés. On en retrouve au moins cinq (I, III, IV, V, VI) dans la matrice extracellulaire, où ils sont la principale composante. Les collagènes sont constitués de trois chaînes α polypeptidiques qui s'enroulent en une triple hélice et comprennent des régions globulaires de nature glycoprotéique. Les chaînes contiennent une proportion élevée d'hydroxyproline, un acide aminé qui est présent dans très peu d'autres protéines dont l'élastine. La mesure de la concentration d'hydroxyproline peut ainsi être utilisée pour déterminer le contenu en collagène dans la plupart des tissus (Bishop et al. 1995).

3.2.1 Réseau de collagène cardiaque

Les collagènes de types I et III sont fibrillaires, ils représentent respectivement environ 85% et 10% des collagènes cardiaques (Robert et al. 1993) et ils sont exclusivement synthétisés par les fibroblastes (Eghbali et al. 1989). Le collagène I est composé de deux chaînes $\alpha_1(I)$ et d'une chaîne $\alpha_2(I)$, alors que le collagène III est composé de trois chaînes $\alpha_1(III)$. Le collagène I forme des fibres épaisses de 50-150 nm de diamètre (Bishop & Laurent 1995) et sa concentration détermine la rigidité du myocarde. De son côté, le collagène III forme un réseau fibrillaire fin et il est plus extensible que le type I (Brilla et al. 1993). Les collagènes V et VI ont été identifiés dans l'espace extracellulaire cardiaque et le collagène IV à la base des membranes myocytaires (Bishop & Laurent 1995).

Ce réseau de collagène cardiaque est essentiel au maintien de la structure tridimensionnelle du myocarde et lui permet de résister à des variations importantes de pression. Les fibrilles de collagène relient les myocytes entre eux, ce qui les empêchent d'avoir une élongation ou un raccourcissement exagéré et permet leur synchronisation pendant le cycle cardiaque. Les collagènes sont en permanence synthétisés et dégradés. Leur concentration dépend donc d'un équilibre constant entre ces deux phénomènes biochimiques, et une fibrose pourra résulter d'une augmentation de synthèse ou d'une diminution de la dégradation (Robert et al. 1993).

3.2.2 Synthèse du collagène

La synthèse du collagène comprend plusieurs étapes post-transcriptionnelles et post-traductionnelles (figure 1) (Bishop & Laurent 1995). Les gènes de pro-collagène codent pour les chaînes pro- α_1 (I) et pro- α_2 (I) constituées d'environ 18 000 et 40 000 bases. Les deux gènes contiennent à peu près 50 introns, qui sont généralement plus courts pour le gène pro- α_1 (I) que pour celui pro- α_2 (I). Les exons sont principalement constitués de 54 ou 108 paires de bases, une caractéristique commune à tous les gènes de collagène fibrillaire. Les séquences en amont du promoteur, impliquées dans la régulation de la transcription, ont été déterminées pour plusieurs des gènes de pro-collagène. Les collagènes de type I et III ont en commun une boîte TATA et CCAAT. Il a été également décrit que des séquences «enhancer» se retrouvent dans le premier intron des gènes codant pour les pro-collagènes

fibrillaires. Il a été postulé que ces séquences avaient un rôle à jouer dans la détermination de l'expression tissulaire.

Après de nombreuses modifications, les chaînes polypeptidiques sont transformées en triple hélice de pro-collagène. D'abord, la prolyl hydroxylase catalyse l'hydroxylation de la proline pendant l'élongation du polypeptide. Le vitesse de formation de la triple hélice dépend de la 4-hydroxyproline, qui est essentielle pour la stabilité de ces hélices. Ensuite, la lysyl hydroxylase transforme la lysine en hydroxylysine. Dans le réticulum endoplasmique rugueux (RER), d'autres systèmes d'enzymes ajoutent des sucres aux résidus hydroxylysyl dans les régions hélicales et à l'extrémité carboxyl du pro-collagène. Ces modifications enzymatiques cessent lorsque la molécule forme une triple hélice. Il semble aussi que ces étapes soient précédées par la formation de ponts disulfure permettant l'assemblage des chaînes pro- α à l'extrémité C-terminale. Les pro-collagènes sont alors formés et ils représentent la forme intracellulaire majoritaire. C'est sous cette forme qu'ils quitteront le RER et l'appareil de Golgi, d'où ils seront sécrétés dans l'espace extracellulaire par exocytose.

Dès l'extrusion de la cellule, des pro-collagénases clivent les propeptides en positions NH_2 et COOH terminales des pro-collagènes, ce qui permet la formation des fibres de collagène dans la matrice extracellulaire. Les fibres de collagène sont finalement stabilisées par des liens covalents intra- et inter-moléculaires (Bishop & Laurent 1995).

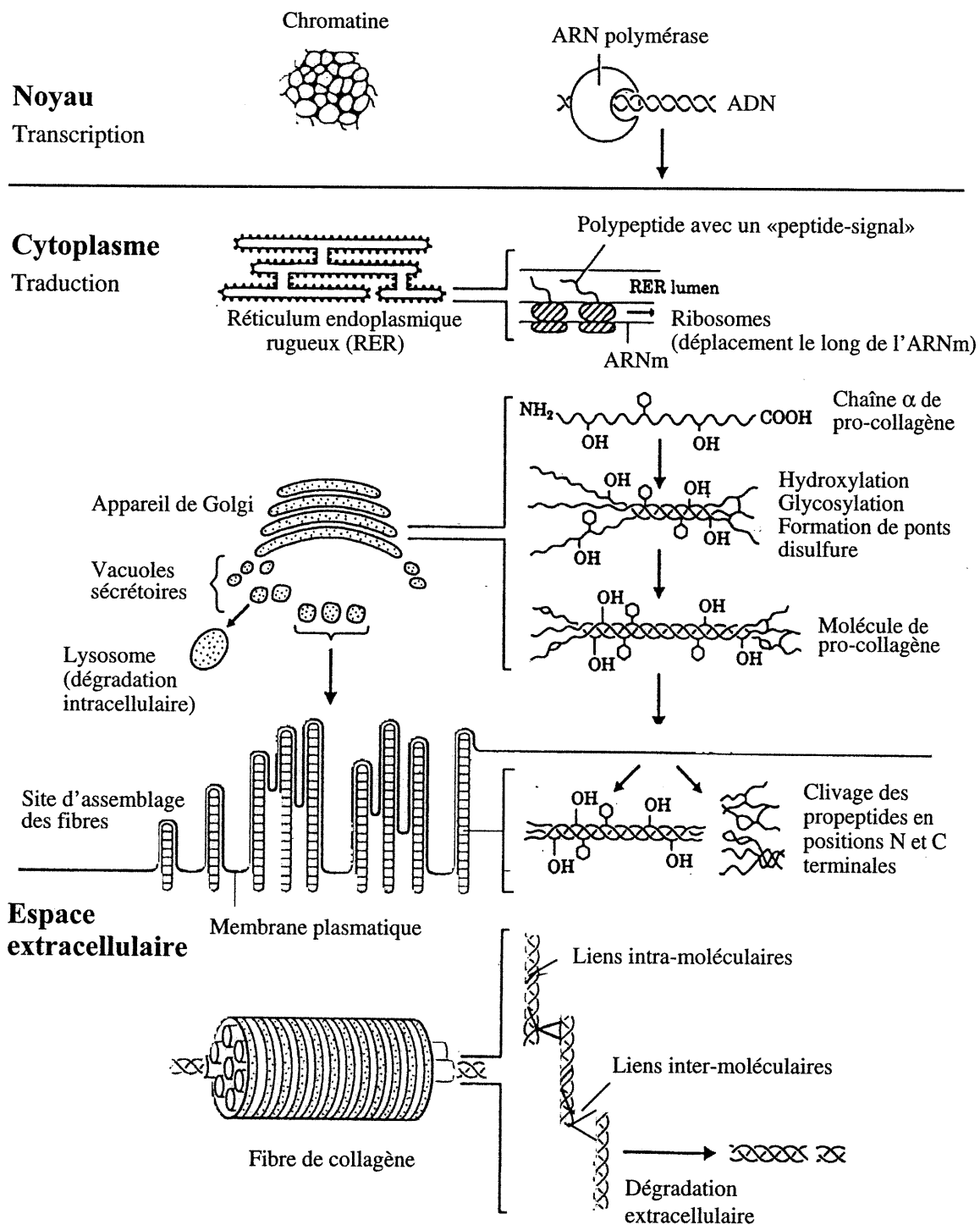


Figure 1. Processus de formation transcriptionnel et post-traductionnel du collagène fibrillaire (Bishop & Laurent 1995).

3.2.3 Dégradation du collagène

Il existe deux voies principales de dégradation du collagène: une voie intracellulaire qui dégrade les molécules de pro-collagène (possiblement 10 minutes après sa synthèse) et une voie extracellulaire impliquée dans la dégradation du collagène fibrillaire (Bishop & Laurent 1995). Chez des rats Lewis âgés de 6 mois, il a été démontré que le niveau de dégradation du collagène nouvellement synthétisé était de 14% dans la peau et de 93% dans le cœur (McAnulty et al. 1987).

3.2.3.1 Voie intracellulaire

Bien que la dégradation intracellulaire se produise principalement dans les lysosomes, un faible niveau basal d'environ 15% est non-lysosomal (Bienkowski 1984). Les processus de régulation de la dégradation intracellulaire ne sont pas encore bien connus, mais ils pourraient résulter de l'activité de plusieurs protéases non-spécifiques ayant d'autres fonctions dans la cellule. Il a été proposé que cette voie de dégradation du collagène joue un rôle dans la prévention de la sécrétion de molécules défectueuses. Elle aurait aussi pour fonction de fournir un bon niveau de régulation de la production de collagène en réponse à des stimuli extracellulaires (Bishop & Laurent 1995).

3.2.3.2 Voie extracellulaire

L'enzyme clé responsable de la dégradation du collagène extracellulaire est la métalloprotéase-1 de la matrice (MMP-1, *matrix metalloproteinase*) ou collagénase. Cette voie de dégradation joue un rôle important dans le remodelage de la matrice

extracellulaire pendant la croissance rapide des tissus (Bishop & Laurent 1995). Spinale et al. (Spinale et al. 1998) ont stipulé que l'activité et l'expression des MMP sont augmentées dans le remodelage du myocarde observé lors de la défaillance cardiaque. Ils ont démontré que l'ajout d'inhibiteurs de la MMP dans un modèle de défaillance cardiaque induite par entraînement rapide diminue le degré de dilatation du ventricule gauche, suggérant un rôle fondamental de cette enzyme dans le remodelage cardiaque (Spinale et al. 2000). L'activité de la MMP peut également moduler l'hypertension reliée à l'accumulation des protéines de la matrice extracellulaire dans les artères de résistance (Intengan et al. 2001). Une étude chez des patients hypertendus a effectivement démontré que les concentrations sériques de MMP-1 sont anormalement diminuées lors de l'hypertension essentielle, suggérant une diminution de la dégradation extracellulaire du collagène de type I (Laviades et al. 1998). Les collagénases clivent les molécules de collagène présentes dans les fibres en deux fragments, et ces enzymes se déplacent sur la molécule voisine après le clivage. Ensuite, la triple hélice de collagène se déroule et elle est dégradée par des protéases non-spécifiques. Dans le cœur normal d'animaux adultes, cette voie de dégradation ne représente généralement qu'une faible proportion de l'ensemble du collagène qui est dégradé (Bishop & Laurent 1995). Les inhibiteurs spécifiques des métalloprotéases, appelés TIMP (*tissue inhibitors of metalloproteinase*), peuvent aussi être impliqués dans la régulation de la dégradation du collagène extracellulaire qui est observée lors de pathologies hypertensives (Brilla et al. 1994a).

Une étude chez le rat Lewis a démontré que le taux de synthèse du collagène est de 9% par jour à l'âge de 6 mois (McAnulty & Laurent 1987). À cet âge, plus de 90%

du collagène synthétisé est rapidement dégradé dans le cœur, comparativement à 70% dans le poumon et seulement 14% dans la peau. Il a aussi été démontré que la synthèse de collagène diminue avec l'âge dans le cœur de rat normal (Mays et al. 1991).

3.3 Altérations fonctionnelles et phénotypiques de la matrice extracellulaire du cœur

3.3.1 Fibrose cardiaque

Dans certains modèles d'HTA, l'hypertrophie s'accompagne de la prolifération des fibroblastes et d'une synthèse accrue de collagène pouvant aboutir à l'altération des propriétés mécaniques et électriques du cœur: il s'agit de la fibrose cardiaque. L'accumulation de collagène (et des protéines conjonctives associées) dans l'espace interstitiel et périvasculaire est observée chez l'homme, comme chez l'animal, dans tous les modèles de surcharge de pression d'origine mécanique, rénovasculaire ou génétique (Robert et al. 1993). La déposition accrue de collagène interstitiel augmente la rigidité du myocarde (Doering et al. 1988; Jalil et al. 1989) et elle résulte en une dysfonction diastolique (Pelouch et al. 1993).

L'évolution de la fibrose cardiaque de l'HVG se fait en trois étapes. Il y a d'abord la *fibrose réactionnelle*, où le nombre et le diamètre des fibres de collagène intermyocytaires et des fibres entre myocytes et capillaires sont augmentés (Robert et al. 1993). Ensuite apparaît la *fibrose excessive*, qui se caractérise par des fibres de collagène épaisses qui entourent les myocytes et les obstruent (Zhu et al. 1997). La dernière étape mène à l'apparition de nombreux foyers de nécrose cellulaire et de

larges bandes de tissu cicatriciel, témoins d'une *fibrose réparatrice* (Robert et al. 1993).

Selon Weber (Weber 2000), le cœur adulte normal doit son homogénéité structural à un équilibre entre des signaux stimulateurs et inhibiteurs qui régulent la croissance cellulaire (et l'apoptose) de même que la réorganisation du collagène. Les stimulateurs incluent l'Ang II, l'aldostérone, les endothélines et les catécholamines. Les inhibiteurs ont des effets opposés et ils sont constitués de la bradykinine, du monoxyde d'azote (NO), des prostaglandines, des peptides natriurétiques et des glucocorticoïdes. La fibrose peut résulter d'un excès de stimulateurs, dû à une surproduction absolue, ou à un manque de formation d'inhibiteurs.

3.3.2 Altérations quantitatives et qualitatives du collagène

Jusqu'à présent, il existe peu de données sur les mécanismes qui sont impliqués dans l'accumulation de collagène cardiaque pendant une surcharge de pression. Dans le ventricule gauche surchargé de rat, le contenu en ARNm des collagènes (I, III et IV) augmente (Chapman et al. 1990). Cependant, des modifications post-transcriptionnelles (traduction des messagers plus efficace) ou post-traductionnelles (plus grande stabilité des protéines ou diminution quantitative de la collagénase ou de son activité) peuvent exister. De plus, de nombreux résultats suggèrent que l'Ang II joue un rôle important dans l'expression des gènes cardiaques de collagène et qu'elle pourrait être responsable de la fibrose du myocarde (Brilla et al. 1994b; Villarreal et al. 1993). En effet, l'Ang II et l'aldostérone ont la capacité de stimuler la migration des fibroblastes et la synthèse de collagène ainsi que de limiter la

dégradation du collagène en inhibant l'activité de la MMP-1. À l'opposé, la bradykinine et le NO suppriment les facteurs de croissance TGF- β et la synthèse de collagène.

Il a aussi été suggéré que la qualité plutôt que la quantité de collagène présent dans le cœur joue un rôle important dans la détermination de la fonction cardiaque (Mukherjee et al. 1990). Ainsi, il n'y a pas seulement l'augmentation du contenu en collagène ventriculaire total qui peut mener à un état pathologique, mais aussi un changement dans le ratio de collagène de type I et III. Dans le cœur normal d'un primate non-humain, le ratio I :III est de 4-7:1 et il est de 3-5:1 dans le cœur de rat normal (Brilla et al. 1993). Une étude chez des rats spontanément hypertendus (SHR; voir sections 5.1.2 et 5.2) a démontré une augmentation marquée du ratio de collagène I/III à l'âge de 30 semaines par rapport aux témoins normotendus, ce qui suggère que la fonction cardiaque peut dépendre de la distribution des types de collagène présent dans le cœur (Mukherjee et al. 1993).

Plusieurs études ont démontré que la fibrose cardiaque mène à une accumulation de collagène de type I et III (Eghbali et al. 1989; Weber 1989; Weber et al. 1991). Selon certains auteurs, le collagène III augmente dans les premières étapes du développement de la pathologie humaine, de même que chez les modèles animaux (Bishop & Laurent 1995). D'autres équipes croient à une augmentation du collagène I (Bishop et al. 1990; Mukherjee & Sen 1990), à une augmentation du collagène III (Medugorac et al. 1983) ou à un retour à un niveau normal (Chapman et al. 1990) à un stade plus avancé de la pathologie.

L'équipe de Yang et al. (Yang et al. 1997) a montré que la concentration de collagène de type III demeure inchangée chez le rat SHR pendant la phase chronique de l'hypertrophie. Leur étude corrobore celle de Mukherjee et Sen (Mukherjee & Sen 1990), selon laquelle la phase d'hypertrophie concentrique serait associée à une augmentation de la déposition des fibres épaisses de collagène de type I, tel que démontré chez des rats SHR âgés de 34 semaines. De son côté, la déposition accrue des fibres de collagène de type III a été observée chez des rats SHR de 86 semaines. De plus, Pfeffer et al. (Pfeffer et al. 1982) ont rapporté que le captopril, un inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (IECA; voir sections 4.4.1 et 6) améliore la fonction cardiaque des rats SHR. D'après eux, cette amélioration pourrait être due, en partie, à la normalisation du ratio de collagène I/III due principalement à une augmentation du collagène de type III par le captopril.

Néanmoins, il a été récemment suggéré que des altérations dans le maillage (*cross-linking*) du collagène plutôt que des changements dans la quantité ou les phénotypes de collagène contribuent également de façon importante à la rigidité du myocarde au cours de l'hypertension (Norton et al. 1997). Le(s) mécanisme(s) selon le(s)quel(s) des surcharges de pression peuvent induire une augmentation dans le maillage du collagène cardiaque n'a (ont) pas encore été déterminé(s). Cependant, il semblerait que la lysyl oxydase, l'enzyme impliquée dans la formation des liens covalents entre les molécules de collagène, a une activité augmentée dans la vasculature des rats SHR (Rodgers et al. 1985). Il en est possiblement ainsi dans le tissu cardiaque, ce qui augmenterait les liens intra- et inter-moléculaires des molécules de collagène (Norton et al. 1997).

4. SYSTÈME RÉNINE-ANGIOTENSINE-ALDOSTÉRONE

4.1 Cascade d'activation du système rénine-angiotensine-aldostérone

Le système rénine-angiotensine-aldostérone (SRAA) (figure 2) joue un rôle très important dans la régulation de la fonction cardiovasculaire et de l'équilibre électrolytique. La régulation du système se fait à l'étape de la sécrétion de la rénine par les cellules de l'appareil juxtaglomérulaire. La rénine est une protéase enzymatique de nature glycoprotéique comprenant 340 acides aminés. Elle est produite dans le rein à partir d'une préhormone qui donne la pro-rénine transformée en rénine par la perte de 43 acides aminés sur l'extrémité N-terminale. Sa synthèse est régulée par une baisse de pression dans l'artériole afférente du glomérule rénal, par une diminution de la concentration de Na^+ dans le tubule distal ou encore par une stimulation provenant du système nerveux sympathique. La rénine scinde l'angiotensinogène, une globuline plasmatique provenant majoritairement du foie, pour produire le décapeptide inactif angiotensine I (Bernier et al. 1996).

L'angiotensine I est clivée par l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA). Cette enzyme est ancrée à la membrane de nombreux types cellulaires, en particulier celle des cellules endothéliales vasculaires (Zhu et al. 1997). Les résultats de certains travaux suggèrent que son effet sur les peptides vasopresseurs ainsi que l'activité de ces derniers seraient en partie locaux. L'ECA est également retrouvée sous forme circulante. Chez un même individu, le taux circulant de l'enzyme et son activité sont très stables, mais ils varient fortement entre les individus. Il a

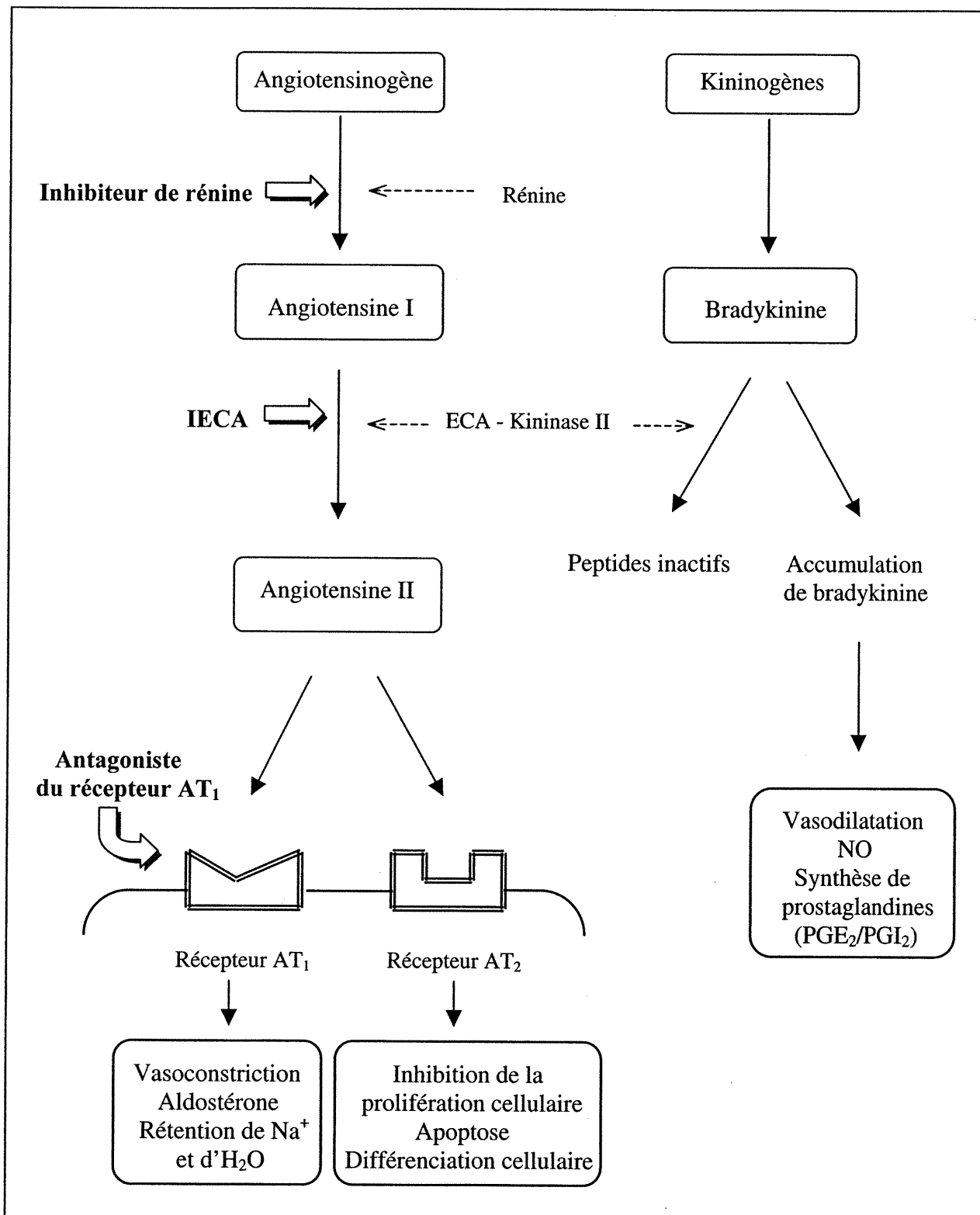


Figure 2. Cascade d'activation du système rénine-angiotensine-aldostérone.

(Miserey et al. 1998; Pitt et al. 1998)

d'ailleurs été démontré que 50% de la variabilité interindividuelle de l'enzyme plasmatique pouvait être expliquée par un effet génétique majeur (Cambien et al. 1992). L'ECA a deux sites catalytiques potentiels, mais seul l'un des deux domaines doit être actif puisqu'un seul atome de zinc se lie à la molécule de l'enzyme de conversion (Soubrier et al. 1988). Cette métalloprotéase hydrolyse le dipeptide His-Leu pour produire l'octapeptide Ang II (Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe) (Bernier & Guillemette 1996). Cette hormone peptidique est l'élément actif du système et elle exerce une action vasoconstrictrice sur l'ensemble du réseau artériel, tant périphérique que coronaire, contrôlant ainsi la pression artérielle et un volume sanguin adéquat (Chassagne et al. 1996).

L'ECA est non spécifique puisqu'elle inactive aussi la bradykinine, d'où son autre appellation de kininase II. La bradykinine est un nonapeptide qui entraîne la formation de NO (Conlon 1998) et augmente la transformation de l'acide arachidonique en prostaglandines vasodilatatrices, comme la prostacycline et le PGE₂ (Schorr 1992). Ainsi, la même enzyme qui produit une puissante substance vasoconstrictrice dégrade aussi un puissant peptide vasodilatateur.

4.2 Rôles physiologiques de l'angiotensine II

L'Ang II présente une action vasoconstrictrice quarante fois plus puissante que la norépinéphrine (Reid 1984). Elle contracte les muscles lisses de la paroi vasculaire, augmente la force de contraction du cœur, stimule la sécrétion d'aldostérone par la corticosurrénale et module la filtration glomérulaire (Timmermans et al. 1993). Elle favorise la réabsorption de sodium par le tubule proximal du rein et la libération

d'aldostérone conduit à la réabsorption de sodium et d'eau ainsi qu'à l'excrétion de potassium par le tubule rénal distal. L'Ang II contribue également à la libération de peptides vasoactifs (endothélines) par l'endothélium vasculaire et de catécholamines au niveau du système nerveux autonome (SNA) sympathique. Dans le système nerveux central (SNC), elle entraîne la libération de vasopressine (ADH, hormone antidiurétique) et de catécholamines, en plus d'avoir des effets sur la soif et le comportement (Chassagne et al. 1996; White 1998).

En plus de ces effets classiques, l'Ang II est reconnue comme étant un facteur de croissance pour divers types cellulaires, tels les fibroblastes, les cellules du cortex surrénalien, les myocytes cardiaques, les cellules du muscle lisse vasculaire, les cellules mésangiales et les cellules endothéliales de la microvascularisation coronaire (Chassagne et al. 1996). L'Ang II est également impliquée dans le remodelage vasculaire et cardiaque, l'hypertrophie des myocytes cardiaques et la stimulation de la synthèse du collagène (Asmar et al. 1998).

L'Ang II présente aussi des effets oxydants en augmentant la production d'anion superoxyde (O_2^-) par une stimulation directe des NADH-/NADPH oxydases via le récepteur AT_1 (Warnholtz et al. 1999). Cet effet de l'Ang II a été démontré dans plusieurs modèles expérimentaux: dans des cellules musculaires lisses vasculaires de rat en culture (Griendling et al. 1994), dans des préparations d'anneaux aortiques prélevés chez des rats rendus hypertendus par la perfusion d'Ang II (Rajagopalan et al. 1996) ainsi que dans des cellules endothéliales vasculaires humaines en culture (Zhang et al. 1999). Dans ces études, la production d' O_2^- dépendante de l'Ang II est

rapidement convertit en H_2O_2 (Griendling et al. 2000c). Ces résultats soulignent le rôle fondamental que semble jouer l'Ang II dans la modulation de la production radicalaire et indirectement dans la mise en jeu des systèmes de défenses antioxydants au niveau vasculaire (Oudot et al. 2001).

Les enzymes membranaires NAD(P)H sont la source majeure de radicaux libres dérivés de l'oxygène dans les cellules vasculaires et les myocytes (Griendling et al. 2000a). En fait, les NAD(P)H oxydases du système cardiovasculaire sont des enzymes associées à la membrane plasmique permettant au NADH ou au NADPH de céder un électron à l'oxygène moléculaire (Griendling et al. 2000b):



Les radicaux libres dérivés de l'oxygène et les NAD(P)H oxydases sont impliqués dans de nombreux processus cellulaires et troubles vasculaires. L'activation des NAD(P)H oxydases peut mener à l'adhésion et à la migration des monocytes/macrophages, à l'hypertrophie des cellules de muscles lisses vasculaires, à la prolifération et à la survie de plusieurs types de cellules vasculaires, à l'apoptose dans certains types cellulaires, à l'inflammation ainsi qu'au remodelage de la matrice extracellulaire (Griendling et al. 2000b). Une fonction importante des NAD(P)H oxydases dans les myocytes cardiaques et les cellules de muscles lisses vasculaires est la participation à la croissance cellulaire. À cet effet, il a été démontré dans ce dernier type cellulaire que l'Ang II induit une hypertrophie cellulaire dépendante de la production intracellulaire d' H_2O_2 , ce radical étant en partie dérivé des NAD(P)H oxydases. Des résultats similaires ont été rapportés dans les myocytes cardiaques, où l'induction de l'hypertrophie par l'Ang II était associée à une production de radicaux

libres dérivés de l'oxygène, celle-ci étant bloquée par des antioxydants (Griendling et al. 2000a). Plusieurs évidences supportent également le rôle d' O_2^- dans diverses formes d'hypertension (Griendling et al. 2000b). De plus, la plupart des radicaux libres dérivés de l'oxygène jouent un rôle de seconds messagers pour activer de nombreuses protéines et enzymes intracellulaires, telles la tyrosine kinase c-Src, le récepteur EGF (epidermal growth factor), la protéine Ras, la sérine-thréonine kinase Akt/protéine kinase B (Griendling et al. 2000a) et les MAP kinases p38, JNK et possiblement ERK1/2 (Griendling & Ushio-Fukai 2000c).

4.3 Récepteurs AT₁ et AT₂ de l'Ang II: caractérisation et voies de signalisation

Les effets de l'Ang II sur les systèmes cardiovasculaire, endocrinien et nerveux dépendent de sa liaison à des récepteurs membranaires spécifiques. Les deux sous-types majeurs de récepteurs, AT₁ et AT₂, appartiennent à la famille des récepteurs à sept domaines transmembranaires. Ils sont généralement caractérisés par leur couplage aux protéines G hétérotrimériques (Chassagne et al. 1996).

4.3.1 Récepteur AT₁

Le récepteur AT₁ a été cloné en 1991 (Murphy et al. 1991; Sasaki et al. 1991) et il possède deux isoformes (AT_{1A} et AT_{1B}) chez les rongeurs mais pas chez l'homme, qui sont très semblables puisqu'elles partagent 95% d'homologie au niveau de la séquence protéique (Kim & Iwao 2000). Ce récepteur est codé par un seul gène du génome humain, localisé sur le chromosome 3q21-3q25 (Curnow et al. 1992), alors qu'il est codé par les chromosomes 17 et 2 chez le rat (Kim & Iwao 2000). Il est

constitué de 359 acides aminés ayant une masse moléculaire de 41 kDa. Par contre, la masse moléculaire observée est d'environ 65 kDa, à cause de la glycosylation de la protéine. Chez plusieurs espèces adultes (homme, singe, bœuf, lapin, rat), le récepteur AT₁ est distribué de façon ubiquitaire et abondante dans bon nombre de tissus et d'organes incluant l'aorte, les artères pulmonaires et rénales ainsi que dans les muscles lisses vasculaires, le cœur, les poumons, les cortex rénal et surrénal, le cerveau et le foie (Chassagne et al. 1996).

Le récepteur AT₁ est responsable de la majorité des effets physiologiques connus de l'Ang II. La liaison de l'Ang II à ce récepteur active plusieurs voies de signalisation par l'intermédiaire d'au moins deux classes de protéines G. Un mécanisme bien documenté est l'activation de la phospholipase C (PLC), probablement relayée par la sous-unité α de la protéine G_q. Cela entraîne la formation de deux seconds messagers: l'inositol 1,4,5-triphosphate (IP₃) et le diacylglycérol (DAG) (Timmermans et al. 1993). Par sa liaison à des récepteurs-canaux calciques spécifiques, l'IP₃ induit la libération de calcium à partir des réservoirs intracellulaires. Le DAG, de son côté, active plusieurs isoformes de la protéine kinase C (PKC). De plus, par l'intermédiaire d'une protéine G_i, l'Ang II inhibe l'activité de l'adénylyl cyclase (AC) dans plusieurs tissus cibles. L'Ang II active également la phospholipase D (Lassegue et al. 1993) et la phospholipase A₂ qui mène à la production d'acide arachidonique (Rao et al. 1994; Sadoshima et al. 1997).

L'augmentation de la concentration intracellulaire des seconds messagers conduit à l'activation de plusieurs cascades. Celles-ci agissent de façon synergique pour

augmenter la vitesse de synthèse globale des protéines. Des travaux ont démontré que l'activation du récepteur AT₁ stimule la phosphorylation et l'activité enzymatique des protéines kinases p70S6 (Giasson et al. 1995; Takano et al. 1996) et p90RS (Sadoshima et al. 1995), et active la protéine tyrosine kinase Jak₂ (Marrero et al. 1995). D'autres équipes ont également rapporté que l'Ang II stimule l'activité enzymatique des MAP (*mitogen activated protein*) kinases ERK1 et ERK2 (*extracellular signal-regulated kinase*) (Tsuda et al. 1992). Ces trois voies de signalisation sont possiblement responsables du rôle de l'Ang II dans la croissance et la différenciation cellulaires (Dostal 2000).

En effet, les diverses études *in vitro* utilisant des myocytes et/ou des fibroblastes cardiaques en culture suggèrent que les MAP kinases, incluant ERK et JNK, sont responsables de l'hypertrophie des cardiomyocytes, de la reprogrammation des gènes et de la prolifération des fibroblastes (Force et al. 1996; Sugden et al. 1998; Wang et al. 1998). Cependant, le mécanisme selon lequel l'Ang II active simultanément toutes ces cascades de signalisation n'est pas encore précisé. Il reste à déterminer jusqu'à quel point chacune de celles-ci est impliquée dans le développement de l'hypertrophie des myocytes cardiaques et la reprogrammation des gènes induits par l'Ang II et observées *in vivo* dans l'hypertrophie cardiaque (Kim & Iwao 2000). De plus, la stimulation du récepteur AT₁ par l'Ang II active les enzymes membranaires NAD(P)H oxydases, entraînant une production d'anion superoxyde (O₂⁻) rapidement métabolisé en H₂O₂ (Warnholtz et al. 1999). Ces deux radicaux libres dérivés de l'oxygène servent comme seconds messagers pour activer de nombreuses voies de signalisation intracellulaires, une fonction importante des NAD(P)H oxydases étant

la participation à la croissance cellulaire dans les cellules musculaires lisses vasculaires et les myocytes cardiaques (Griendling et al. 2000b).

À l'instar de tous les facteurs de croissance, l'Ang II stimule également l'induction des gènes de réponse précoce, tels *c-fos*, *fosB*, *c-jun*, *egr-1* et *c-myc*, qui codent pour des facteurs de transcription (Chassagne et al. 1996). En effet, il a été observé que l'Ang II, via le récepteur AT₁, augmente l'expression en ARNm de ces gènes dans des myocytes cardiaques néonataux (Schunkert et al. 1995) ainsi que dans des fibroblastes cardiaques en culture (Sadoshima et al. 1993). En fait, ces gènes codent pour des protéines régulatrices de la croissance et la différenciation cellulaires et sont surexprimés lors de l'hypertrophie cardiaque (Izumo et al. 1988). L'Ang II stimule la production de collagène I en activant le gène de pro-collagène de type I, possiblement via la voie de signalisation MAP kinase/ERK. Ces effets semblent relayés par le récepteur AT₁, bien qu'il soit possible que le récepteur AT₂ joue un rôle via un couplage à la protéine G_i (Intengan & Schiffrin 2001).

4.3.2 Récepteur AT₂

De son côté, le récepteur AT₂ est une protéine de 363 acides aminés ayant une masse moléculaire de 41,3 kDa et il est également codé par un gène unique chez l'homme (Chassagne et al. 1996), le chromosome X (Kim & Iwao 2000). Chez le rat, le récepteur AT₂ est abondamment distribué dans les tissus mésenchymateux du fœtus, le cerveau et les glomérules rénaux pendant leur maturation, ainsi que dans le cœur et l'aorte lors des premières semaines après la naissance (Keiser & Panek, 1994). Il n'est pratiquement pas exprimé chez l'adulte et il se retrouve essentiellement dans la

médullosurrénale, l'appareil reproducteur féminin ainsi que dans des régions définies du cerveau, d'où son rôle probable dans les fonctions cérébrales et la reproduction chez l'adulte. Sa synthèse augmente lors du processus de cicatrisation cutanée (Viswanathan et al. 1992), après la désendothélialisation de la paroi vasculaire et dans le cœur, suite à l'HVG consécutive à une sténose de l'aorte thoracique (Heymes et al. 1998; Lopez et al. 1994).

La signalisation intracellulaire et les effets physiologiques du récepteur AT₂ sont plus controversés. Il semble que ce récepteur soit impliqué dans l'inhibition de la prolifération cellulaire, l'apoptose et la différenciation neuronale (Miserey et al. 1998). Des travaux récents indiquent que le récepteur AT₂ serait couplé à la protéine G_i (Hayashida et al. 1996; Zhang et al. 1996), mais l'absence d'effet du GTP sur la liaison de l'Ang II à ce récepteur met en doute le rôle des protéines G (Miserey & Clauser 1998). Des études *in vitro* stipulent que ce récepteur exerce un effet antiprolifératif sur des cardiomyocytes néonataux (Booz et al. 1996), des fibroblastes (Ohkubo et al. 1997) et des cellules coronaires endothéliales de rat en culture (Stoll et al. 1995). Ces observations *in vitro* et d'autres effectuées *in vivo* (Janiak et al. 1992), supportent l'hypothèse que le récepteur AT₂ inhibe la croissance cellulaire différemment selon le type de cellules, contribuant ainsi à la régulation de l'homéostasie tissulaire.

Suite à des études portant sur différentes lignées cellulaires (R3T3 et PC12W) et sur des cellules de la granulosa ovarienne, il a été précisé que l'effet antiprolifératif du récepteur AT₂ s'exercerait en partie grâce à une induction de l'apoptose, c'est-à-dire

la mort cellulaire programmée (Yamada et al. 1996). *In vivo*, il a été démontré que le récepteur AT₂ stimule l'apoptose et inhibe la croissance des cellules musculaires lisses vasculaires de rats SHR (Hamet et al. 2001; Tea et al. 2000). Dans les myocytes cardiaques, il semble aussi que l'activation de ce récepteur entraîne la libération d'acide arachidonique, probablement via la phospholipase A₂ (Lokuta et al. 1994). Des études ont montré que cet acide gras a la capacité d'activer les canaux calciques et potassiques des cellules cardiaques (Huang et al. 1992; Kim et al. 1989) et de stimuler la libération de calcium du réticulum sarcoplasmique cardiaque (Damron et al. 1993). Ainsi, l'acide arachidonique peut moduler des étapes importantes du couplage excitation-contraction (Lokuta et al. 1994). Il a été suggéré que l'activation du récepteur AT₂ influence la fibrose cardiaque, mais cette relation n'est pas clairement définie (Opie & Sack 2001). À ce sujet, une étude a montré une diminution de la fibrose périvasculaire cardiaque chez la souris déficiente en récepteur AT₂ et exposée à une constriction aortique (Akishita et al. 2000). D'autres investigateurs utilisant les mêmes souris ont rapporté que l'activation du récepteur AT₂ joue un rôle important dans le développement de la fibrose du ventricule gauche observée suite à une surcharge de pression (Senbonmatsu et al. 2000).

4.4 Blocage du système rénine-angiotensine aldostérone

Plusieurs agents différents peuvent bloquer la formation ou les actions de l'Ang II. Parmi ceux-ci, certains bloquent la sécrétion ou l'action enzymatique de la rénine (voir figure 2). En effet, certaines substances interférant avec le système nerveux sympathique ont démontré la capacité d'inhiber la sécrétion de rénine. Il s'agit, entre

autres, de la clonidine, du propranolol et du méthyldopa. L'action de la rénine peut aussi être bloquée par la pepstatine, un pentapeptide qui inhibe également l'action d'autres protéases, telles la pepsine et la cathepsine D. Cependant, la faible solubilité de cette substance en limite l'utilisation *in vivo*, mais une forme plus soluble a été synthétisée, la N-acétylpepstatine. Des inhibiteurs compétitifs de la rénine ont aussi été synthétisés et leur principe est basé sur la séquence d'acides aminés située près du site de clivage de l'angiotensinogène. Le problème majeur de ces agents est également leur faible solubilité. Des inhibiteurs de rénine actifs oralement ont récemment été développés et certains d'entre eux sont puissants, présentent une haute spécificité pour la rénine et diminuent la pression artérielle chez les patients hypertendus. Néanmoins, ces agents nécessitent une amélioration de leur biodisponibilité orale ainsi que de leur efficacité (Reid, 1995).

Le SRAA peut aussi être inhibé de deux autres façons, par des inhibiteurs de l'ECA (IECA) ou par des antagonistes du récepteur AT₁. Le tableau I résume les principales différences pharmacologiques de ces deux types d'agents. Ils bloquent le système à des niveaux différents: les IECA s'opposent à la formation d'Ang II et ils diminuent sa fixation sur ses deux sous-types de récepteurs. De plus, les IECA empêchent la dégradation de la bradykinine (Kim & Iwao 2000). Les antagonistes AT₁, quant à eux, bloquent les effets relayés par l'Ang II; ils induisent cependant une accumulation d'Ang II et ils entraînent possiblement une stimulation des récepteurs AT₂. Il a été suggéré que l'activation de ces récepteurs puisse mener à une augmentation de la bradykinine, du NO et de la formation du GMP cyclique (Tsutsumi et al. 1999, Yang et al. 2001).

Tableau I : Comparaison des actions pharmacologiques *in vivo* d'un inhibiteur de l'ECA et d'un antagoniste du récepteur AT₁.

	Inhibiteur de l'ECA	Antagoniste du récepteur AT ₁
Récepteur AT ₁	Inhibition indirecte	Inhibition directe
Activité de l'ECA	Inhibition directe	Pas d'effet
Rénine plasmatique	↑	↑
Ang II plasmatique	↓	↑
Récepteur AT ₂	Inhibition indirecte	Stimulation
Bradykinine	↑	→ ou ↑

↑, augmentation; →, pas de changement; ↓, diminution.

4.4.1 Inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine

L'histoire des IECA a débuté il y a environ 50 ans, suite à la découverte d'un composé hypotensif dans un plasma humain incubé avec le venin de vipère *Bothrops Jararaca*. Cette découverte a rapidement mené en 1971 à la caractérisation du principe actif par Ferreira et Greene (Krieger et al. 1971). Il s'est avéré que ce peptide était capable de majorer les effets biologiques de la bradykinine, et donc d'inhiber l'ECA (kininase II). Le téprotide a été le premier IECA à être évalué cliniquement. Les recherches se sont ensuite poursuivies afin de produire un composé actif oralement et assez puissant pour avoir un effet antihypertenseur, ce qui a mené au développement du captopril, avec des études cliniques à partir de 1977 (Komajda et al. 2000). À ce jour, onze IECA différents ont été développés et ces agents diffèrent considérablement selon leurs propriétés pharmacologiques,

pharmacocinétiques et thérapeutiques qui sont détaillées dans le tableau II (Khan, 2000b; White 1998).

Tous les IECA se caractérisent par une moitié 2-méthyl-propranolol-L-proline, qui est structurellement importante pour bloquer le site actif de l'ECA. Les IECA se divisent en trois classes distinctes, dépendamment de leur groupement fonctionnel permettant l'adhésion à la composante zinc du site actif de l'ECA. La grande majorité des IECA se caractérisent par un groupement fonctionnel carboxyl. Le captopril et le zofénopril possèdent un groupement fonctionnel sulphydryl (SH) alors que le fosinopril est le seul à avoir un groupement phosphinyl (White 1998). La figure 3 présente les structures chimiques du lisinopril (groupement fonctionnel carboxyl), du zofénopril et du zofénoprilat, son métabolite actif (groupement fonctionnel sulphydryl).

Le captopril et le lisinopril ne requièrent pas d'activation hépatique; c'est la substance-mère qui est active. Tous les autres IECA sont des pro-drogues, c'est-à-dire qu'ils sont d'abord transformés par le foie pour obtenir le métabolite actif, et ils ont une biodisponibilité, un taux d'absorption et une durée d'action plus grands (White 1998). Les IECA diffèrent aussi selon leur lipophilicité, qui est un indice de pénétration tissulaire. Chez des animaux et lors d'études *ex vivo*, il a été démontré qu'une lipophilicité élevée est reliée à une meilleure inhibition de l'ECA dans les tissus (Leonetti et al. 1995; Ruzicka et al. 1995; Wiseman et al. 1994). D'après ces études, une certaine gradation peut être attribuée aux IECA quant à leur lipophilicité, par exemple: lisinopril 0, captopril +, fosinopril +++ et zofénopril +++ (pour les

Tableau II : Différentes propriétés pharmacologiques, pharmacocinétiques et thérapeutiques des inhibiteurs de l'ECA.
(Khan 2000b; White 1998).

	Bénazépril	Captopril	Énalapril	Fosinopril	Lisinopril	Moexipril	Périmopril	Quinapril	Ramipril	Trandolapril	Zoféno- prilat
Groupe- ment fonctionnel	Carboxyl	Sulphydryl	Carboxyl	Phosphinyl	Carboxyl	Carboxyl	Carboxyl	Carboxyl	Carboxyl	Carboxyl	Sulphydryl
Pro-drogue	Oui	Non	Oui	Oui	Non	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui
Métabolite Actif	Bénazé- prilat	—	Énalaprilat	Fosino- prilat	—	Moexi- prilat	Périmo- prilat	Quina- prilat	Rami- prilat	Trandola- prilat	Zoféno- prilat
Durée d'action (h)	24	6-10	18-30	24	18-30	24	24	24	24	24	24
Élimination	Rénale	Rénale	Rénale	Rénale, fécale	Rénale	Rénale, fécale	Rénale	Rénale, fécale	Rénale, fécale	Rénale, fécale	Rénale
Lipophilicité	+	+	++	+++	0	++	+	++	+	++	+++
Indications	HTA	HTA, DC, Post-IM, Néph-D	HTA, DC, DVG	HTA, DC	HTA, DC, Post-IM	HTA	HTA	HTA, DC	HTA, DC Néph-D	HTA	HTA, DC, Post-IM

DC = Défaillance cardiaque; DVG = Dysfonction ventriculaire gauche; HTA = Hypertension artérielle; Néph-D = Néphropathie diabétique; Post-IM = Post-infarctus du myocarde.

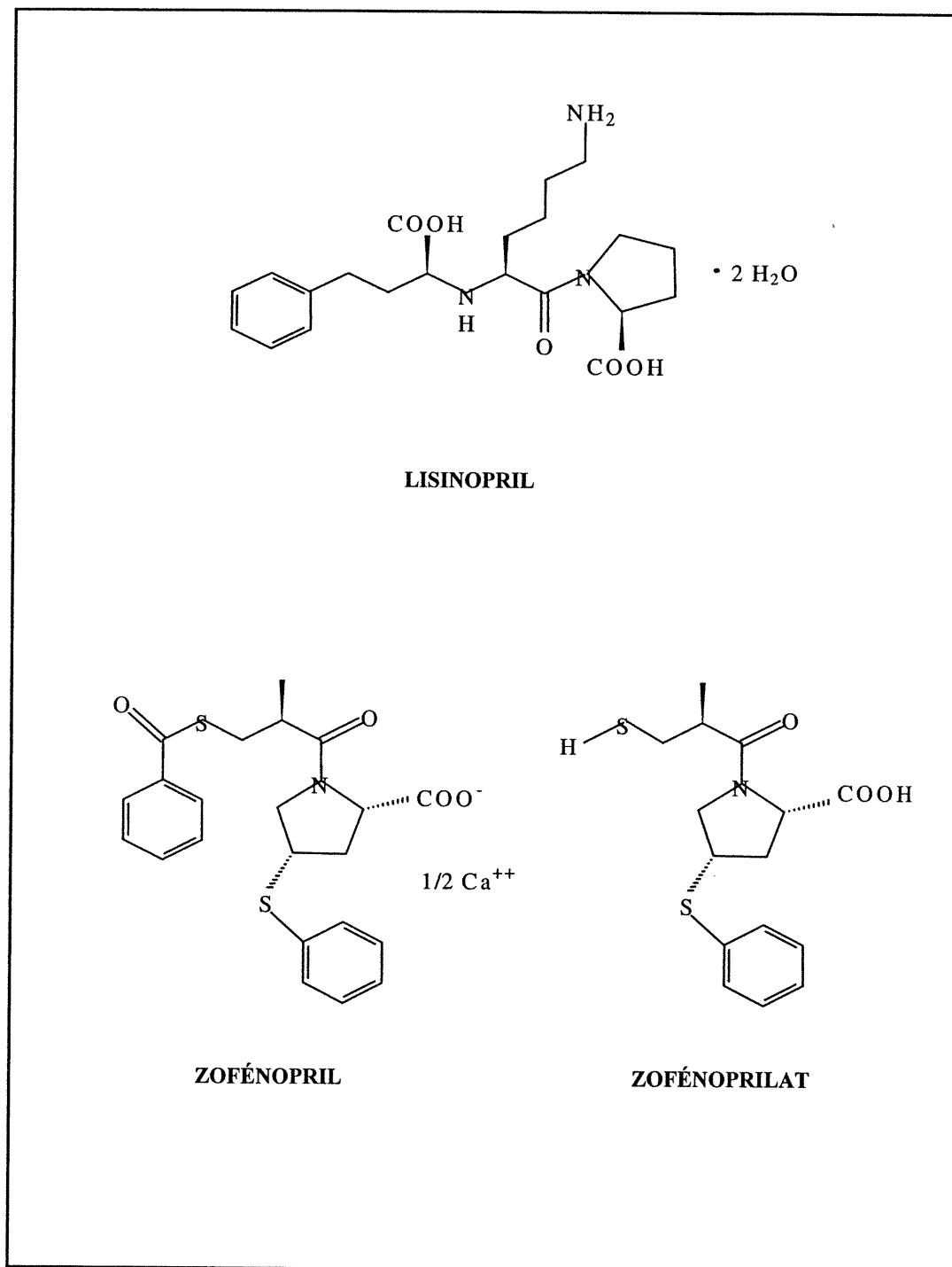


Figure 3. Structures chimiques du lisinopril (groupe fonctionnel carboxyle) (Case 1989) du zofénopril et du zofénoprilat, son métabolite actif (groupe fonctionnel sulphydryl) (Subissi et al. 1999).

autres IECA, voir tableau II). Cependant, il a aussi été stipulé que la puissance et la durée de l'inhibition (incluant l'action locale) engendrée par un IECA dépendent davantage de ces propriétés de liaison que de ces propriétés de pénétration tissulaire (Zhu et al. 1997).

Une étude *ex vivo* a été réalisée avec différents inhibiteurs afin d'examiner leur effet sur l'ECA dans le coeur et les reins. Après une administration orale de lisinopril, de zofénopril et de captopril à des rats, l'autoradiographie quantitative *in vitro* a permis d'obtenir la durée d'action, le degré et les sites d'inhibition de l'ECA. Les résultats obtenus suggèrent que ces inhibiteurs bloquent l'ECA dans toutes les régions du coeur et des reins sans sélectivité. De plus, le lisinopril et le zofénopril, à la dose utilisée (10 mg/kg) lors de cette étude, produisent une inhibition de l'ECA de plus longue durée comparativement au captopril (Sun et al. 1991).

4.4.1.1 Propriétés antioxydantes du captopril et du zofénopril

Certains IECA présentent également des caractéristiques qui sont indépendantes de l'inhibition spécifique de l'enzyme de conversion. Ces IECA possèdent des propriétés anti-inflammatoires et ils protègent le myocarde ischémique contre l'effet délétère de la reperfusion menant à la formation de radicaux libres (Mira et al. 1993). Ces derniers sont des molécules ou des fragments de molécules qui possèdent un électron isolé dans une de leurs orbitales et qui cherchent à perdre ou à gagner un électron puisque normalement, chacune des orbitales comporte deux électrons. Ces radicaux sont très instables, donc très réactifs et ils ont une durée de vie très brève. Plusieurs types de radicaux libres dérivent de l'oxygène (figure 4) par transfert

d'énergie interne et modification de la répartition des électrons (O_2 , oxygène singlet) ou par addition d'un électron (O_2^- , radical superoxyde). L'ion peroxyde O_2^{2-} est formé de deux électrons supplémentaires et il est très réactif. Il est neutralisé par deux protons pour former l'eau oxygénée (H_2O_2). Cependant, celle-ci donne naissance au dernier des radicaux libres, le radical hydroxyl (OH^\bullet) (Borel et al. 1988).

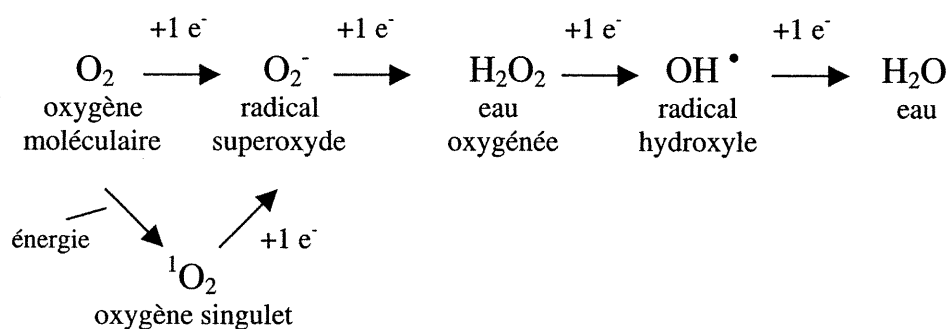


Figure 4. Les divers radicaux libres dérivés de l'oxygène (Borel et al. 1988).

Les effets nocifs des radicaux libres oxygénés proviennent de leur capacité de réaction avec les acides gras polyinsaturés, les acides aminés, les protéines, les sucres et les acides nucléiques. Cela aboutit à la dégradation de ces molécules avec la possibilité de libération de substances toxiques (Borel et al. 1988). Certaines évidences expérimentales montrent aussi que les radicaux libres ont des effets délétères sur le métabolisme, de même que sur les fonctions électrique et contractile du myocarde (Bolli et al. 1989; Goldhaber et al. 1989; Prasad et al. 1989). De récentes études cliniques et expérimentales ont d'ailleurs indiqué que la production de radicaux libres dérivés de l'oxygène est augmentée lors de l'insuffisance cardiaque chronique, d'où une hausse du stress oxydatif (Givertz et al. 1998; Hill et

al. 1996; Katz 1997). De plus, le radical hydroxyl réagit avec la plupart des molécules biologiques qui l'entourent; ainsi, il peut endommager les protéines, causer des bris dans les brins d'ADN et initier la peroxidation des lipides (Freeman et al. 1982; Southorn et al. 1988). Finalement, les radicaux libres peuvent avoir un effet toxique sur les membranes plasmiques, qui se traduit par un accroissement de la perméabilité passive aux ions K^+ (Maridonneau et al. 1983).

Certains auteurs ont suggéré que quelques IECA pourraient agir comme des piègeurs de radicaux libres selon leur configuration chimique s'ils sont aptes à fixer et à inactiver ces molécules. En fait, il s'agit de ceux qui possèdent un groupement fonctionnel sulphydryl (SH ou fonction thiol), le captopril et le zofénopril (Chopra et al. 1992; Chopra et al. 1989; Egan et al. 1988). Plusieurs équipes ont tenté d'évaluer cet aspect du captopril, mais leurs résultats sont contradictoires. Les études de Mira et al. (Mira et al. 1993) indiquent que la présence du groupement SH dans la structure chimique des IECA n'est pas impliquée dans leur habileté à piéger les radicaux libres oxygénés. Cependant, Bagchi D et al. (Bagchi et al. 1989) ont rapporté que le captopril pouvait piéger les radicaux O_2^- , OH^\bullet , et $HOCl$ *in vitro*. Une autre équipe a également démontré, en utilisant des cellules endothéliales d'artère pulmonaire bovine en culture, que les IECA avec un groupement SH protégeaient ce type cellulaire contre une attaque radicalaire (O_2^- et OH^\bullet) (Mak et al. 1990). D'autres études ont par contre rapporté que l'inactivation du radical O_2^- par le captopril n'était pas un mécanisme envisageable *in vivo* puisque cet agent réagit très lentement avec O_2^- et que les concentrations dans les fluides corporels des patients traités au captopril sont seulement de l'ordre du micromolaire (Aruoma et al.

1991; Kukreja et al. 1990). Néanmoins, ces mêmes études soulignent que le captopril est un puissant piègeur de HOCl. De plus, Chopra et ses collaborateurs (Chopra et al. 1992) stipulent que les effets antioxydants des IECA dépendent du groupement sulphydryl. D'un autre côté, ces auteurs indiquent que la peroxydation des lipides peut être inhibée par des IECA qui contiennent, ou non, un groupement SH.

D'un autre côté, Buikema et al. (Buikema et al. 2000) suggèrent que l'inhibition de l'ECA avec une fonction thiol présente un avantage potentiel pour améliorer la dysfonction endothéliale suite à l'induction expérimentale d'un infarctus du myocarde chez le rat. Cette équipe a démontré que le zofénopril, mais non le lisinopril, potentialise les effets du NO endogène après sa relâche par l'endothélium de la paroi du vaisseau sanguin. Des études expérimentales d'ischémie-reperfusion ont aussi été réalisées avec des cœurs isolés de rat montrant une dysfonction du myocarde. Il s'avère que l'action combinée de l'inhibition de l'ECA et de l'inactivation des radicaux libres oxygénés, par le zofénopril et le captopril (mais non par le fosinopril), expliquerait l'effet protecteur de ces agents sur le myocarde (Liu et al. 1992; Sargent et al. 1993; Westlin et al. 1988). Récemment, une autre équipe s'est attardée aux effets cardioprotecteurs du zofénopril dans la prévention de la cardiotoxicité induite par un traitement chronique à la doxorubicine chez le rat (Sacco et al. 2001). Le(s) mécanisme(s) par le(s)quel(s) un traitement avec cet agent induit une dysfonction cardiaque reste(nt) à être démontré(s). Des hypothèses ont toutefois été émises pour tenter d'expliquer l'induction de la cardiotoxicité, telles la formation de métabolites de l'anthracycline, un changement dans l'homéostasie du

Ca²⁺ et la formation de radicaux libres. D'après les auteurs, la présence du groupement fonctionnel sulphydryl dans la structure du zofénopril lui permet d'agir en tant que piègeur de radicaux libres. Les résultats indiquent que cette propriété du zofénopril lui permet de prévenir les effets néfastes de la doxorubicine sur le cœur des rats et ce, sans interférer avec l'activité anti-tumorale de cet anthracycline. Ainsi, il semble que la présence du groupement SH du captopril et du zofénopril leur confère des propriétés antioxydantes (Bartosz et al. 1997) leur permettant probablement d'avoir des effets cardioprotecteurs additionnels (Pi et al. 1989; Subissi et al. 1999).

4.4.1.2 Mécanismes d'action des IECA

En premier lieu, les IECA diminuent les concentrations d'Ang II circulants, d'où un effet vasodilatateur et hypotenseur (voir figure 2). Un second mécanisme d'action est l'inhibition des systèmes rénine-angiotensine tissulaire, incluant l'activité de l'ECA dans les cellules cardiaques. Les IECA diminuent également l'activité adrénérgique en abaissant la libération de norépinéphrine par les neurones terminaux. Via la diminution de la formation de l'Ang II, un autre mécanisme proposé est la baisse de la formation de l'endothéline vasoconstrictrice provenant de l'endothélium vasculaire. Les IECA augmentent aussi la formation de bradykinine, de prostaglandines vasodilatatrices et de NO. Enfin, ils réduisent la rétention de sodium en diminuant la sécrétion d'aldostérone (Opie, 1994). Finalement, puisque les IECA altèrent la synthèse d'Ang II, ils entraînent possiblement une baisse de la stimulation des NADH-/NADPH oxydases, résultant en une diminution de la libération du

radical O_2^- dans la circulation. En plus de leur effet antihypertenseur bien connu, les IECA peuvent donc agir en tant que de puissants antioxydants. (Zhang et al. 1999).

Ainsi, il y a plusieurs conséquences à l'inhibition de l'ECA: une dilatation artériolaire, qui cause une diminution de la résistance vasculaire systémique totale, de la pression artérielle et de la postcharge. La baisse de l'activité sympathique cause une vasodilatation avec une réduction additionnelle de la postcharge, ainsi qu'une certaine diminution de la précharge. Cet effet indirect «anti-sympathique» et l'effet vagal parasympathique diminuant la fréquence et la force de contraction du myocarde empêchent l'augmentation de la fréquence cardiaque par les IECA, contrairement à d'autres hypotenseurs comme les vasodilatateurs. La sécrétion diminuée d'aldostérone mène à l'excrétion de Na^+ et d'eau et à la rétention de K^+ (Khan, 2000b).

De plus, tel qu'énoncé précédemment, les IECA n'atténuent pas seulement la formation de l'Ang II dans la circulation et les tissus périphériques, mais ils permettent également l'accumulation de la bradykinine en inhibant sa dégradation, puisque l'ECA est identique à la kininase II (Linz et al. 1995; Waeber et al. 1996). Cela stimule la libération de vasodilatateurs, le NO et les prostacyclines, qui peuvent protéger l'endothélium et contribuer à la dilatation artérielle ainsi qu'à la diminution de la résistance vasculaire périphérique. Ainsi, l'accumulation de bradykinine présente des effets bénéfiques significatifs dans le cas de certaines maladies cardiovasculaires. En ce sens, les IECA semblent supérieurs aux antagonistes du récepteur AT_1 (voir section 4.4.2) (Kim & Iwao 2000).

4.4.1.3 Effets bénéfiques des IECA sur les paramètres cardiaques

Chez l'homme, il a été démontré que ces inhibiteurs sont de puissants agents dans le traitement de l'hypertension (voir section 6), de la défaillance cardiaque (The SOLVD Investigators 1991; The CONSENSUS Trial Study Group 1987), de la dysfonction ventriculaire, dans la prévention de l'infarctus du myocarde (Pfeffer et al. 1992) ainsi que pour traiter certaines néphropathies diabétiques (Khan, 2000b).

Lors de la défaillance cardiaque chronique après infarctus du myocarde, il a été démontré que les IECA améliorent la fonction cardiaque et augmentent la survie chez les rats (Pfeffer et al. 1985) et les humains (The SOLVD Investigators 1991; The AIRE Study Investigators 1993; Pfeffer et al. 1992). De plus, plusieurs équipes ont indiqué que l'inhibition de l'ECA permet la réduction de la zone infarctée dans des modèles d'occlusion de l'artère coronaire gauche chez le chien et d'ischémie-reperfusion chez le lapin (Ertl et al. 1982; Hartman et al. 1993). Cet effet semble être indépendant de l'inhibition de la synthèse d'Ang II puisque l'ajout d'un antagoniste des récepteurs B₂ de la bradykinine (l'icatibant) atténue la diminution de la zone infarctée. Supportant ces résultats, la perfusion de bradykinine réduit l'ampleur de l'infarctus (Martorana et al. 1990; Stauss et al. 1994).

D'après les données de l'étude de Framingham (Levy et al. 1990), l'HVG est une des complications majeures de l'hypertension, donc un facteur de risque important de maladies cardiovasculaires. De nombreuses études expérimentales démontrent que les IECA, en plus d'avoir la capacité de diminuer la pression artérielle, préviennent ou font régresser l'hypertrophie du ventricule gauche. Les agents étudiés incluent le

captopril (Brooks et al. 1997; Kost et al. 2000; Muiesan et al. 1988; Swislocki et al. 1999), le périndopril (Asmar et al. 1988; Black et al. 2001), l'énalapril (Childs et al. 1990; Grandi et al. 1989; Susic et al. 1999), le ramipril (Eichstadt et al. 1987), le lisinopril (Mori et al. 1995; Nishimura et al. 1992) et le zofénopril (van Wijngaarden et al. 1991). Par exemple, une étude a comparé les effets du ramipril (IECA), de la nifédipine (antagoniste calcique) et de la dihydralazine (vasodilatateur artériel) chez des rats avec une constriction de l'aorte. Cette expérience conclue que seul l'IECA prévient et diminue l'hypertrophie cardiaque et ce, même à des doses non-antihypertensives (Linz et al. 1989).

De façon très intéressante, Weber et Brilla (Weber & Brilla 1991) ont suggéré que les agents qui causent une régression de l'hypertrophie cardiaque ne mènent pas nécessairement à la régression de la fibrose. Par exemple, bien que le vérapamil réduise l'HVG chez les rats SHR, il ne diminue pas le contenu en collagène ventriculaire (Ruskoaho et al. 1985). D'autres médicaments antihypertenseurs, tels l'aténolol (Vogt et al. 1987), le minoxidil (Sen et al. 1977), l' α -méthyldopa (Sen et al. 1976), l'hydrochlorothiazide (Brilla et al. 2000) ou l'hydralazine (Kojima et al. 1994) contrôlent la pression artérielle dans les modèles expérimentaux d'hypertension artérielle, mais ils n'ont pas d'effet significatif sur la régression de la fibrose cardiaque; ils peuvent parfois même induire une augmentation de la concentration de collagène dans le cœur (Brilla 2000). Par ailleurs, un traitement prolongé avec le captopril (Jalil et al. 1991), le lisinopril (Brilla et al. 1991a; Brilla et al. 1996), le périndopril (Michel 1990) ou l'énalapril (Pahor et al. 1991) réduit la fibrose du myocarde des rats SHR. Chez l'homme, il a été démontré qu'un

traitement avec le lisinopril diminue la fibrose myocardique améliorant ainsi la fonction diastolique du ventricule gauche, sans toutefois observer de régression de l'HVG (Brilla et al. 2000).

L'équipe de Brilla (Brilla et al. 1991a) a réalisé une étude chez des rats SHR âgés de 14 semaines traités au lisinopril pour 12 semaines. Par rapport aux rats normotendus Wistar-Kyoto, les résultats révèlent que le traitement a permis de normaliser la pression artérielle et la rigidité du myocarde, de diminuer l'HVG et la fibrose interstitielle, ainsi que de renverser le remodelage artériel coronaire. Ils ont ensuite démontré que la régression de la fibrose était indépendante de l'effet antihypertenseur du lisinopril (Brilla et al. 1991b). La même équipe a également évalué l'effet du lisinopril à un stade beaucoup plus avancé de la pathologie (rats SHR âgés de 78 semaines) et ils ont observé les mêmes effets cardioprotecteurs. Ils concluent que la réponse fibrolytique du lisinopril est due, en partie, à une augmentation de la dégradation du collagène par l'activation de la MMP-1 (Brilla et al. 1996). D'un autre côté, Sen et Bumpus (Sen et al. 1979) ont démontré que le contenu en hydroxyproline du myocarde diminue chez les rats SHR traités avec le captopril et que cette baisse est associée à une réduction de la synthèse de collagène.

D'un point de vue clinique, les IECA font actuellement partie des médicaments de première intention chez les patients hypertendus de tous âges (voir section 6). En plus d'être une des thérapies de première ligne pour le traitement de l'hypertension, ces agents constituent le traitement de choix de l'insuffisance cardiaque chronique symptomatique ou asymptomatique associée à une fraction d'éjection inférieure à

36% (Cartier et al. 1999). En effet, un groupe d'investigateurs suggèrent que les IECA sont une stratégie adéquate dans la prévention et le traitement de l'insuffisance cardiaque chez les patients avec un infarctus du myocarde aigu, tel qu'indiqué dans l'étude SMILE (Survival of Myocardial Infarction Long-term Evaluation) (Borghi et al. 1996). En fait, cette étude a démontré que l'administration de zofénopril chez des patients présentant un infarctus du myocarde aigu diminue la progression des symptômes et des conséquences cliniques de l'insuffisance cardiaque. De son côté, l'étude HOPE a montré qu'un traitement avec le ramipril diminue l'incidence des infarctus du myocarde, de la revascularisation coronaire, de la défaillance cardiaque et des décès chez les patients à haut risque cardiovasculaire (Yusuf et al. 2000).

4.5.1 Antagonistes de l'angiotensine II

Le blocage compétitif par des inhibiteurs peptidiques de la liaison de l'Ang II sur son récepteur AT₁ est connu depuis longtemps (Boutouyrie 1999). Au cours des dernières années, de nombreux antagonistes non-peptidiques sélectifs du récepteur AT₁ ont été développés, comme le losartan, le candésartan, le valsartan, l'irbésartan, l'éprosartan, le telmisartan, le tasosartan, etc. (Kim & Iwao 2000).

Il a été démontré que les antagonistes du récepteur AT₁ bloquent les effets de l'Ang II sur la croissance et la prolifération cellulaires, de même que ses actions hémodynamiques (Zhu et al. 1997). Le blocage du récepteur AT₁ résulte en une augmentation des concentrations de rénine et d'Ang II (voir figure 2), ce qui peut mener à un rebond tensionnel à l'arrêt brusque du traitement (Boutouyrie 1999). L'augmentation de l'Ang II plasmatique peut mener celle-ci à compétitionner avec

l'antagoniste AT₁ pour le déplacer de son site de liaison et ainsi, atténuer l'effet de l'inhibition. De plus, en parallèle, la hausse d'Ang II circulante favorise sa liaison au récepteur AT₂ (Kim & Iwao 2000). De façon intéressante, il a été observé dans le cœur défaillant humain, que le ratio de récepteurs AT₂ : AT₁ est augmenté à cause d'une régulation à la baisse du récepteur AT₁ (Asano et al. 1997). L'activation du récepteur AT₂ pourrait donc jouer un rôle important quant aux différences pharmacologiques observées entre les antagonistes du récepteur AT₁ et les IECA.

En raison de l'existence de voies alternatives indépendantes de l'ECA de synthèse de l'Ang II, le blocage du récepteur AT₁ pourrait apporter un bénéfice thérapeutique au-delà de celui conféré par les IECA. À ce sujet, des auteurs font mention de l'existence d'une voie alternative pour la formation de l'Ang II, indépendante de l'ECA, présente dans les tissus cardiovasculaires et rénaux de plusieurs espèces animales, de même que chez l'humain (Hollenberg et al. 1998). Il a été démontré dans des tissus vasculaires et cardiaques humains, qu'il existe une chymase, une puissante enzyme spécifique à la famille des sérines protéases permettant la formation d'Ang II, et qui n'est pas affectée par les IECA. Cela suggère que ces agents ne bloqueraient pas complètement la production d'Ang II dans les tissus humains (Liao et al. 1995; Urata et al. 1990). Une controverse existe cependant quant à l'importance pathophysiologique de cette voie indépendante (Johnston 1994).

La plupart des antagonistes AT₁, tels le losartan, le candésartan et le valsartan ont été utilisés cliniquement pour le traitement de l'hypertension artérielle (voir section 6)

(Bauer et al. 1995; Johnston 1995; Pitt et al. 1998). En effet, chez l'hypertendu, le blocage du récepteur AT₁ entraîne une baisse de la pression artérielle qui est dépendante de la dose (Boutouyrie 1999). D'un autre côté, l'induction expérimentale d'un infarctus du myocarde chez le rat a permis de démontrer que les antagonistes du récepteur AT₁ ont des effets bénéfiques similaires à ceux des IECA sur la dysfonction, l'hypertrophie et la fibrose cardiaques (Schieffer et al. 1994; Weber 1997).

Dans ce sens, plusieurs études indiquent que le losartan prévient le développement de l'HVG chez les rats SHR (Gohlke et al. 1996; Menard et al. 1997; Oddie et al. 1992). Un effet anti-fibrose cardiaque du losartan a été démontré dans un modèle de rats rendus hypertendus par la perfusion d'Ang II (Crawford et al. 1994; Kim et al. 1995), ainsi que chez des rats présentant une hypertension rénovasculaire (Nicoletti et al. 1995). Il a aussi été rapporté que cet antagoniste du récepteur AT₁ prévient la fibrose cardiaque chez de jeunes rats SHR «stroke-prone» (voir section 5.1.2) (Fornes et al. 1993). Chez des rats SHR âgés de 30 semaines, le losartan induit une régression de l'hypertrophie ventriculaire gauche et prévient le développement de la fibrose myocardique (Varo et al. 1999).

5. MODÈLES EXPÉRIMENTAUX D'HYPERTENSION ARTÉRIELLE

Plusieurs modèles animaux d'hypertension artérielle ont été développés: ils reproduisent les hypertensions secondaires (rénovasculaire et hyperaldostéronisme) ou essentielles (génétiques et dépendantes ou non de l'environnement, en particulier des apports sodés) rencontrées en pathologie humaine. Dans les modèles d'hypertension secondaire, les animaux deviennent hypertendus suite à des interventions comme des injections d'hormones (désoxycorticostérone), un apport en sel ou une constriction artérielle rénale expérimentale, alors que les animaux présentant une hypertension essentielle deviennent hypertendus à cause d'influence génétique (Nicoletti, 1995).

5.1 Modèles d'hypertension secondaire

On retrouve d'abord le modèle d'hypertension rénovasculaire, mis au point par Goldblatt en 1934 (Goldblatt et al. 1934). Dans ce modèle, applicable au chien ou au rat, une sténose est provoquée par la pose d'un clip sur une artère rénale, le rein controlatéral étant laissé en place. On note au niveau du rein ischémié, une stimulation du système rénine-angiotensine avec élévation de la concentration d'Ang II, ce qui entraîne une augmentation de la pression artérielle et un hyperaldostéronisme secondaire avec rétention de sel et hypokaliémie. Au niveau du rein controlatéral, l'élévation de la pression artérielle mène à une suppression de la production de rénine et à une augmentation de la natriurèse liée à l'élévation de la pression de perfusion. Une hypertrophie cardiaque est également observée chez ces animaux hypertendus.

Un autre modèle d'hypertension artérielle secondaire est la surcharge en acétate de désoxycorticostérone (DOCA) associée à un régime enrichi en sel (Selye et al. 1976). Ce modèle entraîne une hypertrophie cardiaque importante, en relation avec une surcharge mixte de volume (rétention hydrosodée) et de pression, et tente de reproduire l'hyperaldostérionisme primaire rencontré en clinique.

Plus récemment, Arnal et al. (Arnal et al. 1992) ont développé un autre modèle expérimental d'HTA en bloquant la synthèse de NO par la L-nitro-arginine méthyl ester (L-NAME). Le NO est produit par une famille d'enzymes, les NO-synthases, à partir d'un substrat commun, la L-arginine. Il induit la relaxation des cellules musculaires lisses et, *in vivo*, la vasodilatation en activant la guanylate cyclase soluble qui produit le GMP cyclique, son second messenger (Michel et al. 1993). Chez le rat, l'administration chronique de L-NAME s'accompagne d'une élévation dose-dépendante de la pression artérielle. Cette HTA chronique présente deux caractéristiques, l'absence d'hypertrophie ventriculaire gauche et une atteinte rénale (Ribeiro et al. 1992).

5.2 Modèles d'hypertension génétique

Il existe un modèle génétique d'hypertension en interaction avec l'environnement sodé; il s'agit du rat de Dahl (Dahl et al. 1962). La souche, dite sensible au sel, est pratiquement normotendue lorsque le régime sodé est normal, mais la pression artérielle augmente significativement lorsque ces animaux sont soumis à un régime riche en sel. L'ajout d'un régime sodé à l'âge de 6 semaines mène à une

hypertrophie cardiaque concentrique à 11 semaines et à une dilatation ventriculaire gauche vers 15 à 20 semaines d'âge (Doggrell et al. 1998).

En 1990, les groupes de Mullins (Mullins et al. 1990) et d'Ohkubo (Ohkubo et al. 1990) ont créé des rats transgéniques exprimant le gène *Ren-2* et des souris exprimant des gènes du système rénine-angiotensine de rat (rénine et angiotensinogène). Chez le rat transgénique, l'expression d'un des deux gènes rénine exprimés normalement chez la souris provoque une hypertension fulminante. Vers l'âge de 12 à 14 semaines, les rats transgéniques mâles développent une hypertrophie cardiaque concentrique, sans toutefois présenter de dilatation ou de signes de défaillance cardiaque (Doggrell & Brown 1998). Dans le second modèle, les souris double-transgéniques développent une hypertension variable et une hypertrophie cardiaque (Mazzolai et al. 1998), où une élévation modérée de la pression artérielle est observée.

Le modèle de rat spontanément hypertendu (SHR) de souche Okamoto (voir section 5.3) est le plus connu et le plus utilisé, avec plus de 4000 références Medline au cours des dix dernières années (Doggrell & Brown 1998). Comme son nom l'indique, cette souche développe spontanément une hypertension artérielle sévère, indépendante des conditions environnementales et son témoin normotendu est le rat Wistar-Kyoto (WKY) (Okamoto et al. 1963). Il existe également des rats spontanément hypertendus «stroke-prone» (SHR-SP) qui sont dérivés de la souche précédente et qui présentent un niveau de pression supérieur aux rats SHR ainsi qu'une plus grande vulnérabilité aux accidents vasculaires cérébraux (Laurent et al. 1997).

5.3 Modèle expérimental : le rat spontanément hypertendu (SHR)

5.3.1 Origine

La souche de rats SHR a été établie à Kyoto, au Japon, en couplant un rat Wistar mâle hypertendu avec une femelle présentant une pression artérielle élevée. Les frères et les sœurs ont ensuite été couplés afin d'obtenir une hypertension se développant spontanément et se traduisant par une pression systolique supérieure à 150 mmHg qui persiste sur plus d'un mois (Okamoto & Aoki 1963).

5.3.2 Développement de la pathologie

Jusqu'à 6 à 8 semaines d'âge, les rats SHR présentent une phase pré-hypertensive, avec une pression systolique autour de 100-120 mmHg. L'hypertension se développe dans les 12 à 14 semaines suivantes, avec une pression systolique supérieure à 190-200 mmHg, et ce chez tous les rats sans exception. Comme chez l'homme, l'hypertension se développe plus rapidement et elle est plus sévère chez le mâle SHR que chez la femelle (Doggrell & Brown 1998). Ces animaux présentent une hypertrophie cardiaque qui apparaît tôt au cours de leur développement, vers 3 à 4 semaines d'âge (Sen et al. 1974).

Vers l'âge de 18 mois, les premières indications d'une dysfonction ventriculaire gauche apparaissent chez le mâle SHR et à 24 mois, les animaux sont en phase de défaillance cardiaque. Chez le mâle SHR, cela se caractérise par une augmentation des gènes codant pour les composantes de la matrice extracellulaire, associée à une augmentation de la fibrose myocardique (Brooks et al. 1997). En effet, le cœur

défaillant des rats SHR présente une fibrose périvasculaire et interstitielle (Lorell 1997). Ce modèle expérimental unique offre donc la possibilité d'étudier de façon systématique l'HTA et le développement naturel et lent de l'hypertrophie et de la fibrose cardiaques.

Ainsi, les SHR présentent non seulement une hypertrophie cardiaque, mais aussi une reprogrammation des gènes cardiaques. L'expression d'ARNm de l'actine α -squelettique, de l'ANF et du collagène de type I et III est plus élevée chez les SHR, alors que les niveaux d'ARNm de la chaîne lourde α de la myosine (α -MHC; *myosin heavy chain*) sont plus faibles comparativement à ceux des WKY normotendus (Ohta et al. 1996). Une étude utilisant des rats SHR traités avec un antagoniste du récepteur AT₁ (SC-52458) ou un IECA (imidapril) produisant un effet hypotenseur moyen (~30 mmHg) a démontré que ces substances atténuent l'augmentation de l'ANF cardiaque et de l'ARNm du collagène de type I et III, en plus de normaliser significativement la diminution de l'ARNm de l' α -MHC. À l'opposé, un traitement avec un bloqueur des canaux calciques ou un bloqueur α_1 -adrénergique n'a pas eu d'effet sur l'expression de ces ARNm chez le SHR, malgré une baisse comparable de la pression artérielle. Ces observations suggèrent que la reprogrammation des gènes cardiaques chez le SHR peut être attribuée, du moins en partie, à une activation directe du récepteur AT₁ par l'Ang II (Kim & Iwao 2000).

6. TRAITEMENTS ANTIHYPERTENSEURS

La normalisation de la pression artérielle chez les patients hypertendus peut se faire tant par la modification du mode de vie que par un traitement pharmacologique. Ainsi, en général, la thérapie commence par la modification de certaines habitudes de vie qui peuvent contribuer à l'élévation de la pression artérielle; on préconise l'arrêt du tabagisme, la perte de poids, l'activité physique régulière, la consommation restreinte d'alcool et de sel, la réduction du stress, etc. Par la suite, si cette option s'avère insuffisante, on y associe un traitement pharmacologique (Williams, 2000). Les traitements antihypertenseurs sont très nombreux, ils sont composés de différentes classes de médicaments et ils abaissent efficacement la pression artérielle (voir section 6.1). En moyenne, ils diminuent de 15 à 20 mmHg la pression artérielle systolique et de 5 à 10 mmHg la pression artérielle diastolique. Le choix du médicament antihypertenseur dépend du type et de la cause de l'HTA ainsi que du profil de santé de l'individu (Khan, 2000a).

L'HTA est une maladie qui évolue insidieusement et qu'il ne faut absolument pas négliger. Au-delà de la simple normalisation des chiffres tensionnels, l'objectif véritable du traitement de l'hypertension est de réduire le «sur-risque» cardiovasculaire, et c'est en termes de morbidité et de mortalité qu'il convient d'évaluer le bénéfice réel des traitements antihypertenseurs (Gosse et al. 2000). Par exemple, le fait de recourir aux antihypertenseurs et de baisser de 5 à 6 mmHg la pression diastolique diminue, chez l'hypertendu d'âge moyen, de 42% le risque de présenter un AVC et de 14% celui de souffrir d'un événement coronarien (Cartier et

al. 1999). Plusieurs études ont montré un lien entre l'augmentation de la masse ventriculaire gauche et le risque cardiovasculaire (Casale et al. 1986; Levy et al. 1990; Schillaci et al. 2000), d'où l'importance d'obtenir une régression de l'HVG par le traitement antihypertenseur (Gosse & Herpin 2000). Récemment, de nombreuses études ont montré que la régression de la masse ventriculaire gauche était associée à une réduction significative de la morbidité-mortalité (Muiesan et al. 1996; Verdecchia et al. 1998). Les données de l'étude HOPE suggèrent par exemple que les IECA diminuent l'incidence des événements cardiovasculaires chez les individus à haut risque et ce, même en absence d'hypertension et de défaillance cardiaque (Yusuf et al. 2000).

6.1 Agents antihypertenseurs

Plusieurs types de médicaments sont utilisés dans le traitement de l'hypertension. Les quatre principales classes d'antihypertenseurs sont les diurétiques, les antagonistes des récepteurs β -adrénergiques, les bloqueurs des canaux calciques et les IECA. Les diurétiques (hydrochlorothiazide, indapamide, amiloride, furosémide, etc.) diminuent la pression artérielle en favorisant une fuite de sodium et d'eau de l'organisme. De leur côté, les β -bloqueurs (aténolol, acébutalol, propranolol, métoprolol, etc.) antagonisent l'effet des catécholamines au niveau des récepteurs β -adrénergiques. Ils diminuent l'activité du SRAA en réduisant la libération de rénine par les cellules juxtaglomérulaires du rein. Les β -bloqueurs interfèrent aussi avec l'activité du système nerveux sympathique vasoconstricteur; cette action étant en partie responsable de leur effet antihypertenseur (Benowitz, 1995). Les antagonistes

calciques (nifédipine, diltiazem, vérapamil), quant à eux, agissent sur la membrane plasmique pour inhiber l'entrée de calcium dans la cellule en bloquant les canaux calciques voltage-dépendants. Ils empêchent ainsi la contraction de tous les types de muscles (cardiaque, squelettique et lisse) et agissent directement sur les muscles de l'artère pour la dilater, ce qui diminue sa résistance et entraîne une diminution de la pression artérielle (Khan, 2000c).

Tel que précédemment discuté, les IECA suppriment la formation d'Ang II et exercent ainsi un effet natriurétique. Ils abaissent la pression artérielle chez les sujets hypertendus par leur action sur la post-charge, en diminuant les résistances vasculaires périphériques, en particulier rénales. Leurs effets bénéfiques sur la structure et la fonction cardiaques s'expliquent aussi par leur action sur la pré-charge, en augmentant la capacité veineuse sans modifier la volémie ni la fréquence cardiaque et sans effet inotrope négatif majeur (Asmar et al. 1998). Les IECA sont indiqués dans le traitement de l'hypertension de tous les grades (voir sections 6.2 et 6.3). Ces agents peuvent être utilisés en monothérapie, c'est-à-dire sans diurétique, puisqu'ils ne causent pas de rétention d'eau et de sodium. Il s'agit d'un avantage majeur en terme d'observance au traitement et cela évite les dérèglements biochimiques et lipidiques causés par les diurétiques. Il sont généralement bien tolérés et leur faible taux d'effets secondaires (toux sèche), de même qu'une qualité de vie améliorée en font des médicaments antihypertenseurs de premier choix (Khan, 2000b).

6.2 Recommandations cliniques canadiennes pour le choix du traitement chez les adultes atteints d'HTA non compliquée

Selon les recommandations canadiennes de 2000 pour le traitement de l'HTA, la pharmacothérapie devrait être prescrite chez tous les adultes de moins de 60 ans dont la pression diastolique se maintient à des valeurs égales ou supérieures à 100 mmHg ou dont la pression systolique est égale ou supérieure à 160 mmHg. Chez les plus de 60 ans, le traitement pharmacologique est fortement recommandé si la pression diastolique est supérieure ou égale à 105 mmHg ou si la pression systolique est supérieure ou égale à 160 mmHg (McAlister et al. 2001). Un traitement pharmacologique devrait être le plus fortement envisagé chez les patients qui présentent les risques de complications cardiovasculaires les plus élevés, compte tenu de l'âge, du sexe, de la race, du tabagisme, des dyslipidémies, etc. (Feldman et al. 1999).

Les médicaments de première intention qui sont maintenant recommandés pour ces deux groupes de patients atteints d'HTA non compliquée sont les diurétiques thiazidiques à faible dose, les inhibiteurs calciques de type dihydropyridine à action prolongée et les IECA (McAlister et al. 2001). Les β -bloqueurs constituent également un traitement de premier choix chez les moins de 60 ans. En effet, malgré le fait qu'ils puissent se révéler utiles comme thérapie d'appoint chez les personnes âgées qui prennent des diurétiques, les antagonistes β -adrénergiques ne sont pas recommandés comme traitement de première intention dans ce groupe d'âge. Si la réponse est inadéquate ou s'il y a des effets secondaires indésirables, la substitution devrait se faire parmi les groupes susmentionnés. L'association d'un diurétique

thiazidique à un antagoniste β -adrénergique ou à un IECA devrait être envisagée s'il n'y a qu'une réponse partielle à la monothérapie. Si la pression artérielle n'est toujours pas normalisée ou s'il y a des effets secondaires intolérables, il faut essayer d'autres classes d'antihypertenseurs (antagonistes du récepteur AT_1 à l'Ang II, antihypertenseurs centraux), seuls ou en association. Les médicaments à action centrale (clonidine, méthildopa, etc.) et les antagonistes α -adrénergiques (prazosin, phentolamine, etc.) sont efficaces pour réduire la pression ainsi que la fréquence des accidents cardiovasculaires. Toutefois, ils ne sont pas recommandés comme traitement de première intention puisqu'ils entraînent de nombreux effets secondaires (confusion, hypotension orthostatique, somnolence, dépression, etc.) limitant leur utilisation chez les personnes âgées (Feldman et al. 1999).

Enfin, peu importe la thérapie privilégiée, l'aspect le plus important à considérer est la nécessité d'atteindre le plus efficacement possible les valeurs cibles de pression artérielle. Selon les recommandations canadiennes concernant le traitement de l'hypertension, l'objectif du traitement est d'atteindre des valeurs de pression inférieures à 90 mmHg pour la pression artérielle diastolique et des valeurs en deçà de 140 mmHg pour la pression systolique (McAlister et al. 2001).

6.3 Les IECA comme traitement de premier choix

Les recommandations concernant le traitement de première intention reposent sur des résultats d'essais cliniques de phase I menés auprès de patients hypertendus chez qui les médicaments ont permis de diminuer efficacement la pression artérielle et de réduire le risque d'accident cardiovasculaire (Feldman et al. 1999). En effet, toutes

les classes d'agents antihypertenseurs ont démontré leur efficacité pour réduire la pression artérielle. Toutefois, la démonstration de la réduction de morbidité et de mortalité n'a été faite que pour trois classes de médicaments antihypertenseurs, les diurétiques, les β -bloqueurs et les IECA (Cartier et al. 1999). Les antagonistes β -adrénergiques, par exemple, ont fait la preuve de leur efficacité en prévention primaire des complications cardiovasculaires ainsi qu'en prévention secondaire du post-infarctus (beta-Blocker Heart Attack Study Group 1981). De plus, il a été démontré que les β -bloqueurs et les IECA sont plus efficaces dans la prévention et la régression de l'HVG comparativement à un diurétique ou à un antagoniste calcique (Schmieder et al. 2000). L'efficacité des inhibiteurs calciques a cependant été démontrée quant à la réduction des complications cardiovasculaires, soit une réduction des AVC (Étude STONE) (Gong et al. 1996) ainsi qu'une réduction des événements vasculaires en général (Étude HOT) (Hansson et al. 1998).

En ce qui concerne les IECA, plusieurs études chez des patients hypertendus ont démontré qu'ils sont très efficaces pour renverser les changements cardiovasculaires (comme l'hypertrophie et la fibrose cardiaques), ce qui augmente les compliances cardiaque et vasculaire. En fait, la justification de l'emploi des IECA dans le traitement des hypertendus de moins de 60 ans repose sur des études cliniques comparant ces agents aux diurétiques thiazidiques et/ou aux antagonistes β -adrénergiques (McAlister et al. 2001). À cet effet, l'étude CAPPP (Captopril Prevention Project) a démontré que le captopril est aussi efficace qu'un traitement conventionnel avec des diurétiques ou des β -bloqueurs, deux médicaments dont l'efficacité a déjà été démontrée par rapport à un placebo, dans la prévention de la

morbidité et de la mortalité cardiovasculaires chez des patients hypertendus (Hansson et al. 1999b). Chez les patients âgés de plus de 60 ans, le choix des IECA est basé sur l'étude STOP-2, qui a démontré que ces agents étaient équivalents aux diurétiques thiazidiques et aux β -bloqueurs (Hansson et al. 1999a).

7. HYPOTHÈSE ET BUT DU PROJET DE RECHERCHE

Les hormones du système rénine-angiotensine-aldostérone contribuent au remodelage du myocarde qui accompagne l'hypertrophie ventriculaire gauche observée chez les patients hypertendus. L'homogénéité du myocarde dépend d'un équilibre entre des signaux stimulateurs (Ang II, aldostérone, endothélines et catécholamines) et inhibiteurs (bradykinine, NO, prostaglandines, peptides natriurétiques et glucocorticoïdes). Une fibrose peut résulter d'une augmentation de synthèse ou d'une diminution de la dégradation du collagène cardiaque. Il a été récemment suggéré que la qualité plutôt que la quantité de collagène présent dans le cœur joue un rôle important dans la détermination de la fonction cardiaque. La concentration de collagène de type I détermine la rigidité du myocarde alors que le collagène de type III forme un réseau fibrillaire fin et est plus extensible que le type I. Les inhibiteurs de l'ECA, en plus de normaliser la pression artérielle, préviennent ou entraînent une régression de l'hypertrophie et de la fibrose cardiaques. Le zofénopril, un nouvel IECA développé récemment, se caractérise par un groupement fonctionnel sulphydryl. L'hypothèse de notre étude est que les propriétés antioxydantes du groupement SH du zofénopril lui confèrent des effets cardioprotecteurs additionnels.

L'objectif du projet de recherche est de comparer l'effet du zofénopril et du lisinopril (groupement carboxyl) dans la prévention de l'hypertrophie et de la fibrose cardiaques secondaires à une augmentation de la pression artérielle. Pour fins de comparaison, l'effet d'un antagoniste AT₁, le losartan, a également été évalué. Pour

ce faire, 24 rats WKY (non-traités) et 96 rats SHR ont été utilisés. Les SHR ont été divisés en quatre groupes expérimentaux égaux. Un groupe était non-traité, tandis que les autres ont reçu du zofénopril (10 mg/kg/jour), du lisinopril (10 mg/kg/jour) ou du losartan (20 mg/kg/jour). Les traitements ont été administrés dans l'eau de boisson à partir de la 4^e semaine d'âge. À 4, 12 et 20 semaines de traitement, 8 rats par groupe ont été sacrifiés afin de déterminer la pression artérielle, l'hypertrophie cardiaque (poids des ventricules/poids corporel de l'animal et évaluations morphométriques) et la disposition du collagène (le contenu en collagène ventriculaire total a été déterminé par la concentration d'hydroxyproline et la distribution du collagène de type I et III par coloration au rouge Sirius).

CHAPITRE 2

ARTICLE

**SULPHYDRYL- AND NON-SULPHYDRYL-ACE INHIBITORS
ON PREVENTION OF CARDIAC HYPERTROPHY AND
COLLAGEN DISPOSITION IN SPONTANEOUSLY
HYPERTENSIVE RATS**

**Caroline Gagnon¹, Francine Legault¹, Pedro Geraldés²,
Jean-François Tanguay², Domenico Regoli³ and Chantal Lambert¹**

**¹ Department of Pharmacology, Faculty of Medicine,
Université de Montréal, ² Institut de Cardiologie de Montréal and
³ Institute of Pharmacology of Sherbrooke**

SUBMITTED AT CARDIOVASCULAR RESEARCH

(October 2001)

Corresponding author :

**Chantal Lambert, B.Pharm., Ph.D.
Department of pharmacology
Faculty of Medicine
Université de Montréal
C.P. 6128, Succursale Centre-Ville
Montréal, Québec, H3C 3J7
Tel : (514) 343-6506
Fax : (515) 343-2291
e-mail : chantal.lambert@umontreal.ca**

ABSTRACT

Sulphydryl- and non-sulphydryl-ACE inhibitors on prevention of cardiac hypertrophy and collagen disposition in spontaneously hypertensive rats.

C. Gagnon, F. Legault, P. Gerales, J.-F. Tanguay, D. Regoli and C. Lambert

Objective: ACE inhibitors prevent the development of hypertension as well as of cardiac hypertrophy and fibrosis. It has been suggested that quality rather than quantity of collagen present in the heart is more important in determining cardiac function, type III collagen being more distensible than type I. The sulphydryl-group of zofenopril (Zof) has free radical scavenging and antioxidant properties that might be responsible for some of its additional cardioprotective effects. The objective of this study was to compare the effects of Zof and lisinopril (Lis, carboxyl group) on the prevention of cardiac hypertrophy and collagen disposition in SHR. The effects of an AT₁ receptor antagonist (losartan, Los) were also evaluated. **Methods:** 24 WKY and 96 SHR were used. The SHR were either untreated or received: Zof (10 mg/kg/day), Lis (10 mg/kg/day) or Los (20 mg/kg/day) in drinking water starting at 4 weeks of age. At 8, 16 and 24 weeks of age, 8 rats/group were sacrificed for determination of blood pressure, cardiac hypertrophy and collagen disposition. **Results:** All treatments significantly decreased blood pressure and cardiac hypertrophy, both variables being significantly correlated. Total ventricular collagen content was similarly decreased in all treated groups. Zof significantly increased the expression of collagen type III and seemed to normalize the collagen type I/III ratio. **Conclusions:** Since all treatments prevented the development of cardiac hypertrophy and disposition of collagen and whereas only Zof had an effect on the expression of collagen III, our results suggest a role for its sulphydryl-group.

KEYWORDS

Experimental
Heart
Organ
Pharmacology

ACE inhibitors
Lisinopril
Losartan
Zofenopril
Angiotensin
Fibrosis
Hypertension
Hypertrophy

INTRODUCTION

Arterial hypertension is the most important aetiological factor for the appearance of symptomatic heart failure, and left ventricular hypertrophy (LVH) is the major risk factor (1). The spontaneously hypertensive rat (SHR) is the analogous experimental model for primary hypertension in humans in comparison to its normotensive genetic control, the Wistar-Kyoto (WKY) rat (2). LVH, which is primarily mediated by myocyte hypertrophy (3), develops progressively in SHR (4) and is associated with a pathological accumulation of fibrous tissue within the cardiac interstitium (5). This remodelling of the collagen network leads, such as in other experimental models and humans, to an increase in myocardial stiffness and abnormalities of cardiac function (6). Therefore spontaneous hypertension in rats offers a good experimental model to study the natural development of cardiac hypertrophy and myocardial fibrosis as well as their prevention/regression by pharmacological interventions.

Using *in vitro* and *in vivo* studies, it has been demonstrated that the renin-angiotensin-aldosterone system and its effector hormone, angiotensin II, are of major importance in regulating myocardial collagen matrix structure in arterial hypertension (2). The incubation of adult rat cultured cardiac fibroblasts with angiotensin II resulted in a dose-dependent increase in collagen synthesis (7). Moreover, angiotensin II suppresses the collagenase activity that synergistically leads to progressive collagen accumulation within the cardiac interstitium (3). Fibrillar type I and III collagens are major structural proteins of the myocardial collagen matrix. Type I collagen is usually present in the form of thick fibres and its

concentration determines the tissue stiffness of the myocardium. Type III collagen forms fine reticular networks and is more distensible than type I collagen (2). It has recently been suggested that the quality, not the quantity, of myocardium in hypertensive heart disease is responsible for adverse cardiovascular events and therefore that their management must not only focus on regression in LVH (8).

Angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitors have successfully reversed LVH and myocardial fibrosis in SHR (3, 9-11). These agents are characterized by a common 2-methyl propranolol-L-proline moiety and can be distinguished by their functional group (sulphydryl, carboxyl or phosphinyl) which allow the drugs to adhere to the zinc component of the active site of ACE (12). Zofenopril is a new ACE inhibitor characterized by a remarkable uptake by cardiac tissue, producing a striking and long-lasting inhibition of cardiac ACE as compared to others drugs of its class (13, 14). Zofenopril contains a sulphydryl group that has free radical scavenging and antioxidant properties that might be responsible for some of its additional cardioprotective effects that have been reported in experimental models of ischaemic myocardial injury and anthracycline-induced cardiotoxicity (15).

The aim of this study was to investigate the effects of an ACE inhibitor containing a sulphydryl-group (zofenopril) with those of a non-sulphydryl ACE inhibitor (lisinopril) on the prevention of hypertension, cardiac hypertrophy and collagen disposition in SHRs. For comparison purposes, the effects of an angiotensin II AT₁ receptor antagonist (losartan) were also evaluated.

METHODS

EXPERIMENTAL ANIMALS

A total of 96 male SHR and 24 male WKY were purchased from Charles River Canada (St-Constant, Québec) at 4 weeks of age, immediately after weaning. The rats were housed individually and received a standard rat chow (Purina Rodent Lab Chow 5001, ICN Biochemicals, Cleveland, Ohio) and water *ad libitum*. They were maintained in a quiet room at constant temperature (20-22°C) and humidity (40%) with a 12h light-dark cycle. Following a 3-day acclimatization period, the animals were randomly divided into 5 groups ($n = 24$ per group): 1) untreated WKY; 2) untreated SHRs (SHR); and SHRs receiving: 3) lisinopril, 10 mg/kg/day (SHR-Lis) (16); 4) zofenopril, 10 mg/kg/day (SHR-Zof) (16); or 5) losartan, 20 mg/kg/day (SHR-Los) (17-19). All procedures were in accordance with the recommendations of the Canadian Council on Animal Care and monitored by an institutional animal care committee.

DRUG ADMINISTRATION

All drugs were administered in drinking water. Lisinopril was obtained from Sigma-Aldrich Chemie (Schnelldorf, Germany). Zofenopril was obtained from Menarini IFR (Firenze, Italy) and was diluted in a solution of 800 mg/L of β -Cyclodextrin (Cycloheptaamylose, Sigma-Aldrich Canada Ltd, Oakville Ontario) in distilled water (20). Cozaar[®] tablets (losartan potassium, 100 mg, Merck Frosst Canada Inc.) were crushed and dissolved in distilled water. The resulting solution was filtered by gravitation using a Whatman filter paper (2 qualitative) and diluted to obtain the

required dosage. The concentration of the final solution was analysed using a spectrophotometer and pure losartan powder solution was used as reference. Untreated rats (SHR and WKY) received tap water. Water consumption and body weight were measured every week and drug concentrations were adjusted accordingly. Treatments began at 4 weeks of age and continued for 16 weeks.

EXPERIMENTAL PROTOCOL

Surgical Procedure

At 8, 16 and 24 weeks of age, 8 rats per group were anaesthetized with sodium pentobarbital (65 mg/kg I.P.). A small incision was made up to the dorsal nape of the neck and a "mixed" catheter consisting of pieces of welded PE-10 and PE-50 polyethylene tubing (Intramedic, Becton Dickinson and Company, Sparks, MD, U.S.A.) was fed, via a long trocar, from the neck to an incision site in the right leg. The left femoral artery was cannulated. The catheter was filled with heparinized saline (30 IU/ml) and sealed with a stainless steel plug. The rats were returned to their cages and allowed full recovery for 24h.

Hemodynamic Determinations

Rats, conscious and unrestrained, were left in their cage. The catheter was connected to a pressure transducer (Cobe, model CDX III, Fogg system company, U.S.A.) via a PE-50 polyethylene tube, and the animals were allowed to calm down (\cong 15 min.) before systolic and diastolic blood pressures were monitored with a Harvard oscillograph (model 50-8655). The mean arterial pressure (MAP) was calculated by

adding one-third of pulse pressure to diastolic pressure. The heart rate was derived from the pressure readings. Rats were sacrificed with CO₂. The heart was immediately removed and placed in ice-cold saline to arrest in diastole and to remove blood. The atria and great vessels were dissected free from the ventricles and discarded. The ventricles were weighed and separated into two parts. A slice approximately 2 mm thick was made from the upper section, placed in 10% formalin and kept for histological study. The right and left ventricles of the upper section were separated and kept. The lower section of the ventricles was also sliced (\cong 2 mm) for morphometric and collagen content evaluation. The right ventricle was then removed and discarded. All samples were frozen in liquid nitrogen and kept at - 80°C until assayed.

Cardiac Hypertrophy Evaluation

The cardiac index was calculated by dividing the weight of the ventricles by the body weight. The lower midlevel slices of the ventricles were scanned using an Agfa Snapscan (model 1212). The pictures were magnified a hundred-fold and morphometry evaluated. The left ventricular wall thickness was measured at 7 points around the circular section and the average was calculated. The internal diameter of the left ventricle was measured from the farthest points of the major and minor internal diameters as already described by Tsoporis et al. (21).

Cardiac Collagen

An estimate of the ventricular collagen content, the hydroxyproline concentration, was evaluated in lower left ventricular (LV) samples using a spectrophotometric

technique as already described by Mukherjee and Sen (22, 23). Briefly, approximately 20 mg of the upper LV slices were analysed ($n = 8$ rats per group). The tissue was homogenized and hydrolysed with 6N HCl at 110°C for 24 hours. Hydrolysis samples were dried using a speed-vac evaporator and 1 ml of isopropanol was added. To this solution, 0.5 ml of oxidant (chloramine T) was added, vortexed and allowed to stand for 4 minutes. 3.25 ml of Ehrlich's reagent (3 ml of Ehrlich's + 16 ml of isopropanol) were then added. The tubes were kept at 25°C for 18 hours and the absorbance was measured at 558 nm using a Beckman Spectrophotometer. The concentration of hydroxyproline was determined from a standard curve. The collagen content was estimated by multiplying the hydroxyproline content by a correction factor of 8.2 (24). The results are expressed as mg of collagen per g or per ventricles.

Cardiac Collagen Type I and Type III

The upper midlevel LV slices were dehydrated and embedded in paraffin. Two sequential 5- μ m-thick sections were obtained for each heart ($n = 8$ rats per group). Each section was stained with the collagen-specific picrosirius red (25). Histological quantification of collagen was done under polarized light using an Olympus microscope. In such conditions, collagen type I appears in red and collagen type III appears in green. For each heart, collagen I and collagen III densities were evaluated in four optical sections by the quantification of the relative number of pixels classified as red or green by adjusting the threshold permitting a binary analysis. Collagen expression (%) was computed by the area of the pixels classified as collagen I or collagen III divided by the respective optical area.

STATISTICAL ANALYSIS

Results are expressed as mean \pm SEM and were compared using one-way analysis of variance followed by a Bonferroni *t*-test if necessary. Relationships between mean arterial pressure and ventricles to body weight ratio or total collagen content were analyzed using Pearson product moment correlation. The critical level of significance was set at P values \leq 0.05.

RESULTS

BODY WEIGHTS

Figure 1 presents body weights measured in 4-, 8-, 16- and 24-week-old rats. The body weights vs. time curves follow a similar pattern in all 5 experimental groups. At 16 and 24 weeks of age, the body weights were however significantly lower in the WKY and SHR-Lis groups compared to the others.

MEAN ARTERIAL PRESSURE AND HEART RATE

Figure 2 shows the time course of MAP determined in conscious and unrestrained rats at 8, 16 and 24 weeks of age. Animals included in the SHR group had significantly sustained higher blood pressure compared to the WKY group. Throughout the treatment period, MAP was significantly decreased by zofenopril and losartan ($P \leq 0.05$ compared to SHR group) whereas significant lower values were obtained in the SHR-Lis group ($P \leq 0.05$ compared to WKY and SHR groups). Despite these marked falls in blood pressure, reflex tachycardia was not observed.

Heart rate was similar in the 5 experimental groups during treatment (269 ± 12 , 302 ± 14 , 317 ± 15 , 303 ± 8 and 306 ± 12 beats/min in the WKY, SHR, SHR-Zof, SHR-Lis and SHR-Los group, respectively, at the end of the treatment phase).

CARDIAC HYPERTROPHY

Figure 3 presents the cardiac indices expressed as the ventricles to body weight ratio (VW/BW) in hearts of 8-, 16- and 24-week-old rats. Animals included in the SHR group tended to have higher VW/BW compared to the WKY group. Throughout the treatment period, cardiac indices were decreased by zofenopril and losartan ($P \leq 0.05$ compared to the SHR group) whereas significantly lower values were obtained in the SHR-Lis group.

Figure 4A shows the left ventricular wall thickness (LVWT) measured in hearts of 8-, 16- and 24-week-old animals. The animals included in the SHR group tended to have higher LVWT compared to the WKY group. Throughout the treatment period, LVWT was decreased by zofenopril and lisinopril ($P \leq 0.05$ compared to the SHR group) whereas losartan had no significant effect when compared to the SHR group. Figure 4B shows the left ventricular internal diameter (LVID) determined in hearts of 8-, 16- and 24-week-old animals. At 8 weeks of age, the animals included in the SHR group had higher LVID compared to the WKY group ($P \leq 0.05$) however, no significant differences were observed between these two groups at 16 and 24 weeks of age. Throughout the treatment period, zofenopril and losartan had no significant effect on LVID whereas lisinopril tended to decrease this parameter when compared to the SHR group.

CARDIAC COLLAGEN

Figure 5A shows the collagen concentration (mg/g) measured in hearts of 8-, 16- and 24-week-old animals. Throughout the treatment period, animals included in the Zof-group tended to have higher collagen concentration whereas losartan had no effect on this parameter when compared to the SHR group. At 16 and 24 weeks of age, lisinopril significantly increased the collagen concentration when compared to the SHR group. Figure 5B presents the total ventricular collagen content (TVCC) determined in hearts of 8-, 16- and 24-week-old animals. In all groups, there was an augmentation in collagen content with aging with a significant increase between 8 and 16 weeks of age. Animals included in the SHR group tended to have higher collagen accumulation compared to the WKY group. Throughout the treatment period, TVCC tended to be or were significantly decreased by all treatments compared to the SHR group.

Figure 6 shows the expression of collagen type I and III evaluated in hearts of 24-week-old rats. The expression of collagen type I was similar in the WKY, SHR and SHR-Los groups whereas a significant increase was observed in the SHR-Zof and SHR-Lis groups ($P \leq 0.05$ compared to the WKY and/or the SHR group). The expression of collagen type III was similar, with a slight tendency to decrease, in the SHR, SHR-Lis and SHR-Los groups compared to the WKY group whereas a significant increase was noted in the SHR-Zof compared to the SHR group. Figure 6 also presents the collagen type I/III ratio derived from the mean values of expression of collagen. The collagen type I/III ratio seems to be increased in all SHR groups

compared to the WKY group except for the SHR-Zof group where the ratio seems to be normalized.

CORRELATIONS WITH MEAN ARTERIAL PRESSURE

Figure 7 shows the relationship of VW/BW to MAP for all experimental groups at all ages. Pearson correlations were calculated using data from all SHR-treated groups. There was a significant positive correlation (linear regression analysis: $y = .0055x + 2.35$; $R = 0.385$; $P < 0.001$; $n = 70$) between MAP and VW/BW whereas there was no significant relationship ($R = 0.190$; $P = 0.115$; $n = 70$) between MAP and TVCC (data not shown).

DISCUSSION

In the present study, we compared the effects of a short-term treatment with an ACE inhibitor containing a sulphydryl-group (zofenopril) with those of a non-sulphydryl ACE inhibitor (lisinopril) on the prevention of hypertension, cardiac hypertrophy and collagen disposition in SHRs. For comparison purposes, the effects of an angiotensin II AT₁ receptor antagonist (losartan) were also evaluated. We report that all treatments significantly prevented the increase in MAP and the development of ventricular hypertrophy compared to untreated SHRs, lisinopril having significantly greater effects, and that all treatments significantly and similarly decreased the disposition of collagen. Zofenopril significantly increased the expression of collagen

III when compared to the WKY and untreated SHR groups and seems to normalize the collagen type I/III ratio.

The body weights vs. time curves follow a similar and normal pattern in all experimental groups. However, lisinopril significantly lowered the body weight of the rats compared to the other SHR groups. This finding has already been reported with lisinopril (4) as well as with other ACE inhibitors (11, 26, 27). Body weight loss due to toxic effects of lisinopril is unlikely since Nishimura et al. (4) found weight reduction only in the left ventricle whereas right ventricular and kidney weights were unaffected. Clozel et al. (28) have suggested that this diminution could be related to the natriuresis produced by ACE inhibitors. If such is the case, the reason why zofenopril did not affect body weight remains unknown.

Previous investigators have showed that ACE inhibitors (29-31) and angiotensin II AT₁ receptor antagonists (32) attenuate the development of hypertension in SHRs when the treatment is initiated at a young age. Accordingly, in our study, all treatments significantly prevented the increase in MAP compared to the untreated SHR group. Zofenopril and losartan reduced MAP by 26% and 22%, respectively. These results are in agreement with the reports of others using losartan in SHRs at the same dosage (20 mg/kg/day) (17-19). On the other hand, lisinopril produced an unexpected decrease of MAP of 52%.

The oral dose (10 mg/kg/day) of zofenopril and lisinopril was selected, based on the results obtained by Cushman et al. (16) using *ex vivo* inhibition experiments in rat, to

yield equivalent levels of circulating ACE inhibitory activity. *Ex vivo* inhibition refers to inhibition of an endogenous enzyme in blood or tissue homogenate taken from an animal previously dosed with the inhibitor. With an irreversible inhibitor, the degree of such *ex vivo* inhibition should be identical to that existing in the tissue of the intact animal. However, any circumstances where a new equilibrium is established between inhibitor and enzyme into the assay incubation mixture might lead to different *ex vivo* and *in vivo* degrees of inhibition (16). It is noteworthy that the potency and duration of inhibition (including local action) of an ACE inhibitor depend on its binding characteristics rather than on its tissue-penetrating property, since most of the physiologically important ACE distribution in various tissues is localized on the luminal surface of endothelial cells with the 2 active sites accessible from the vascular lumen (33). Therefore, as already suggested by Susic et al. (34), it is highly possible that pharmacodynamic differences between zofenopril and lisinopril were responsible for the different reductions in MAP that we obtained.

Although ACE inhibitors have been reported to regress LVH in hypertensive humans and various experimental models, the mechanisms underlying this process have not yet been fully elucidated. Linz et al. (35) have reported that ramipril, at a dose that did not decrease blood pressure, reversed LVH in aortic-banded rats. Moreover, Mori et al. (36) have observed that short-term treatment with lisinopril 3 mg/kg/day for 2 weeks inhibited the progression of hypertension and suppressed the development of LVH in SHR's whereas treatment with lisinopril 0.5 mg/kg/day for 2 weeks suppressed the development of LVH without reducing blood pressure. Nevertheless, it certainly remains that the prevention of myocardial cell hypertrophy

and therefore the regression of LVH depend, at least in part, on afterload reduction. In agreement with this, in the present study, all treatments significantly prevented the development of LVH compared to the untreated SHR group, the resulting VW/BW being well correlated ($R = 0.385$; $P < 0.001$) with the resulting decreased MAPs.

Cardiac hypertrophy is not only due to an enlargement of myocyte size. Myocyte hypertrophy is often accompanied by perivascular fibrosis of intramyocardial coronary arteries and interstitial fibrosis between myocytes. Previous studies in the SHR have shown an increase in interstitial collagen in addition to LVH (23, 37). Accordingly, in our study, the TVCC, measured by the hydroxyproline content, tended to be increased in the untreated SHR group compared to the WKY group. Weber et al. (38) have suggested that although the contribution of the muscle to myocardial mass is far greater than that of collagen (50-85 vs 2-3%), even a minimal increase in collagen may markedly affect myocardial distensibility owing to its stiffness, which is considerably greater than that of muscle. It has been proposed that the excess of ventricular collagen seen in animals and humans with hypertensive LVH is a result of both exaggerated collagen synthesis and inadequate collagen degradation (39). During the past decade, evidence has been provided that the circulating and local angiotensin-aldosterone systems promote the development of myocardial fibrosis in hypertensive heart disease (5). Brilla et al. (7) have found in cultured adult rat cardiac fibroblasts that angiotensin II significantly increases collagen synthesis and inhibits matrix metalloproteinase (MMP-1) activity, the key enzyme of interstitial collagen degradation. Interestingly, the same group has

observed an increase of the myocardial MMP-1 activity following oral lisinopril treatment in SHR_s (40).

Other studies have clearly shown in SHR_s that myocardial fibrosis is decreased by ACE inhibitors, such as lisinopril (37), enalapril (34) and trandolapril (41) and by angiotensin II AT₁ receptor antagonists such as losartan and candesartan (19, 42). Our data showed that the TVCC was similarly reduced by ACE inhibition and angiotensin II AT₁ receptor antagonism and that independently of the resulting decreased MAPs ($R = 0.190$; $P = 0.115$, N.S.). This observation is in agreement with the suggestion of Brilla (5) that the growth of cellular constituents of the various myocardial tissue compartments, namely cardiac myocytes and fibroblasts, which are responsible for myocardial collagen metabolism, may each have different regulatory mechanisms and that mechanical factors would not appear to account for the disproportionate accumulation of collagen that occurs with LVH in contrast to load-dependent growth of cardiac myocytes.

Mukherjee and Sen (24) have reported a marked increase in collagen type I/III ratio in 30-week-old SHR_s and proposed, like others, that myocardial collagen phenotype is perhaps more important for predicting cardiac stiffness than the total amount of collagen present in the myocardium. In the present study, the collagen phenotypes were examined at 24 weeks of age by the collagen-specific picrosirius red staining. Supporting the results of Mukherjee and Sen, there was an increase in collagen type I/III ratio in the untreated SHR group compared to the WKY. There are actually few studies that have evaluated the effect of ACE inhibition or angiotensin II receptor

antagonism on collagen type I/III ratio in SHRs. Kuzuo et al. (43) reported that therapy with captopril (SH-group containing) caused regression of cardiac hypertrophy without changing collagen content and phenotypes in 32-week-old SHRs. Yonezawa et al. (32) showed that ACE inhibition (enalapril) or angiotensin II AT₁ receptor antagonism (FK-739) while causing regression of LVH, did not change collagen content and phenotypes in 20-week-old SHRs compared to untreated animals. On the other hand, it has been reported by Murkherjee and Sen (22) that captopril reduced the total amount of collagen and reversed the altered augmented distribution of type I and III collagen in 34-week-old SHRs. In our study, while the other treatments had no effect, we observed that zofenopril significantly increased the expression of collagen type III compared to the WKY and/or the untreated SHR group. This increase in collagen III expression seems to normalize the collagen type I/III ratio to a value comparable to that of the WKY group. This last result is in agreement with the observation of Yang et al. (23) in 40-week-old SHRs showing that treatment with captopril and lisinopril produced a similar degree of reduction in blood pressure, regressed hypertrophy and reduced collagen whereas decrease in collagen type I/III ratio (mainly due to an increase in type III collagen) was found with captopril, but not with lisinopril.

In summary, the results of this study demonstrate that ACE inhibition and angiotensin II AT₁ receptor antagonism are effective in reducing MAP and LVH (lisinopril having significantly greater effects) as well as collagen disposition in SHR. However, only zofenopril treatment increased the expression of collagen III and seems to normalize the collagen type I/III ratio, suggesting a mechanism

independent of blood pressure (lisinopril having significantly greater effect on MAP than zofenopril), of angiotensin II formation and AT₁ receptor stimulation (both ACE inhibitors having different effects and losartan having no effect) and of bradykinin accumulation (both ACE inhibitors having different effects).

Zofenopril has been reported to act as free radical scavenger of various reactive oxygen species and to have antioxidant properties *in vitro* (44) as well as *in vivo* (45, 46). Moreover, it has been demonstrated that these properties of zofenopril are the likely mechanism implicated in the cardioprotection observed in isolated rat hearts following myocardial ischemic-reperfusion injury (47) and in the prevention of the cardiotoxic effects of doxorubicin in rats (15). The mechanism by which zofenopril significantly increases the expression of collagen III and seemingly normalizes the collagen type I/III ratio remains unknown. The role of its sulphhydryl group in this beneficial effect needs further investigation. Nevertheless, if proven true, it would certainly be of clinical interest.

ACKNOWLEDGEMENTS

Caroline Gagnon was recipient of a studentship from the Faculté des études supérieures de l'Université de Montréal. This work was supported by a grant from Menarini Ricerche S.p.A. Firenze, Italy. The authors wish to thank Dr Stephano Evangelista for his constant support and expert suggestions.

REFERENCES

1. Kannel WB, Levy D, Cupples LA. Left ventricular hypertrophy and risk of cardiac failure: insights from the Framingham Study. *J Cardiovasc Pharmacol* 1987;10 Suppl 6:S135-S140.
2. Brilla CG, Reams GP, Maisch B, Weber KT. Renin-angiotensin system and myocardial fibrosis in hypertension: regulation of the myocardial collagen matrix. *Eur Heart J* 1993;14 Suppl J:57-61.
3. Brilla CG, Funck RC, Rupp H. Lisinopril-mediated regression of myocardial fibrosis in patients with hypertensive heart disease. *Circulation* 2000;102:1388-1393.
4. Nishimura H, Kubota J, Okabe M, Ueyama M, Kawamura K. Effects of lisinopril upon cardiac hypertrophy, central and peripheral hemodynamics and neurohumoral factors in spontaneously hypertensive rats. *J Hypertens* 1992;10:431-436.
5. Brilla CG. Renin-angiotensin-aldosterone system and myocardial fibrosis. *Cardiovasc Res* 2000;47:1-3.
6. Bishop JE, Kiernan LA, Montgomery HE, Gohlke P, McEwan JR. Raised blood pressure, not renin-angiotensin systems, causes cardiac fibrosis in TGRm(Ren2)27 rats. *Cardiovasc Res* 2000;47:57-67.
7. Brilla CG, Zhou G, Matsubara L, Weber KT. Collagen metabolism in cultured adult rat cardiac fibroblasts: response to angiotensin II and aldosterone. *J Mol Cell Cardiol* 1994;26:809-20.

8. Weber KT. Targeting pathological remodeling: concepts of cardioprotection and reparation. *Circulation* 2000;102:1342-1345.
9. Brilla CG. Regression of myocardial fibrosis in hypertensive heart disease: diverse effects of various antihypertensive drugs. *Cardiovasc Res* 2000;46:324-331.
10. Mitchell GF, Pfeffer JM, Pfeffer MA. The transition to failure in the spontaneously hypertensive rat. *Am J Hypertens* 1997;10:120S-126S.
11. Sen S, Tarazi RC, Bumpus FM. Effect of converting enzyme inhibitor (SQ14,225) on myocardial hypertrophy in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 1980;2:169-176.
12. White CM. Pharmacologic, pharmacokinetic, and therapeutic differences among ACE inhibitors. *Pharmacotherapy* 1998;18:588-599.
13. Sun Y, Mendelsohn FA. Angiotensin converting enzyme inhibition in heart, kidney, and serum studied ex vivo after administration of zofenopril, captopril, and lisinopril. *J Cardiovasc Pharmacol* 1991;18:478-486.
14. Subissi A, Evangelista S, Giachetti A. Preclinical profile of zofenopril: an angiotensin converting enzyme inhibitor with peculiar cardioprotective properties. *Cardiovasc Drug Rev* 1999;17:115-133.
15. Sacco G, Bigioni M, Evangelista S, Goso C, Manzini S, Maggi CA. Cardioprotective effects of zofenopril, a new angiotensin-converting enzyme inhibitor, on doxorubicin-induced cardiotoxicity in the rat. *Eur J Pharmacol* 2001;414:71-78.

16. Cushman DW, Wang FL, Fung WC, et al. Comparisons in vitro, ex vivo, and in vivo of the actions of seven structurally diverse inhibitors of angiotensin converting enzyme (ACE). *Br J Clin Pharmacol* 1989;28 Suppl 2:115S-130S.
17. Fortuno MA, Ravassa S, Etayo JC, Diez J. Overexpression of Bax protein and enhanced apoptosis in the left ventricle of spontaneously hypertensive rats: effects of AT1 blockade with losartan. *Hypertension* 1998;32:280-286.
18. Wagner J, Drab M, Bohlender J, Amann K, Wiene W, Ganten D. Effects of AT1 receptor blockade on blood pressure and the renin-angiotensin system in spontaneously hypertensive rats of the stroke prone strain. *Clin Exp Hypertens* 1998;20:205-221.
19. Varo N, Etayo JC, Zalba G, et al. Losartan inhibits the post-transcriptional synthesis of collagen type I and reverses left ventricular fibrosis in spontaneously hypertensive rats. *J Hypertens* 1999;17:107-114.
20. van Wijngaarden J, Pinto YM, van Gilst WH, de Graeff PA, de Langen CD, Wesseling H. Converting enzyme inhibition after experimental myocardial infarction in rats: comparative study between spirapril and zofenopril. *Cardiovasc Res* 1991;25:936-942.
21. Tsoporis J, Fields N, Lee RM, Leenen FH. Arterial vasodilation and cardiovascular structural changes in normotensive rats. *Am J Physiol* 1991;260:H1944-52.
22. Mukherjee D, Sen S. Collagen phenotypes during development and regression of myocardial hypertrophy in spontaneously hypertensive rats. *Circ Res* 1990;67:1474-1480.

23. Yang CM, Kandaswamy V, Young D, Sen S. Changes in collagen phenotypes during progression and regression of cardiac hypertrophy. *Cardiovasc Res* 1997;36:236-245.
24. Mukherjee D, Sen S. Alteration of cardiac collagen phenotypes in hypertensive hypertrophy: role of blood pressure. *J Mol Cell Cardiol* 1993;25:185-96.
25. Jalil JE, Doering CW, Janicki JS, Pick R, Shroff SG, Weber KT. Fibrillar collagen and myocardial stiffness in the intact hypertrophied rat left ventricle. *Circ Res* 1989;64:1041-50.
26. Bastien NR, Juneau AV, Ouellette J, Lambert C. Chronic AT1 receptor blockade and angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibition in (CHF 146) cardiomyopathic hamsters: effects on cardiac hypertrophy and survival. *Cardiovasc Res* 1999;43:77-85.
27. Harrap SB, Van der Merwe WM, Griffin SA, Macpherson F, Lever AF. Brief angiotensin converting enzyme inhibitor treatment in young spontaneously hypertensive rats reduces blood pressure long-term. *Hypertension* 1990;16:603-14.
28. Clozel JP, Kuhn H, Hefti F. Effects of chronic ACE inhibition on cardiac hypertrophy and coronary vascular reserve in spontaneously hypertensive rats with developed hypertension. *J Hypertens* 1989;7:267-75.
29. Swislocki AL, LaPier TL, Khuu DT, Fann KY, Tait M, Rodnick KJ. Metabolic, hemodynamic, and cardiac effects of captopril in young, spontaneously hypertensive rats. *Am J Hypertens* 1999;12:581-9.

30. Kost CK, Jr., Rominski BR, Herzer WA, Jackson EK, Tofovic SP. Persistent improvement of cardiovascular risk factors in spontaneously hypertensive rats following early short-term captopril treatment. *Clin Exp Hypertens* 2000;22:127-43.
31. Harrap SB, Nicolaci JA, Doyle AE. Persistent effects on blood pressure and renal haemodynamics following chronic angiotensin converting enzyme inhibition with perindopril. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1986;13:753-65.
32. Yonezawa T, Umemoto S, Fujii A, Katayama K, Matsuzaki M. Comparative effects of type 1 angiotensin II-receptor blockade with angiotensin-converting-enzyme inhibitor on left ventricular distensibility and collagen metabolism in spontaneously hypertensive rats. *J Cardiovasc Pharmacol* 1996;27:119-124.
33. Zhu YC, Zhu YZ, Gohlke P, Stauss HM, Unger T. Effects of angiotensin-converting enzyme inhibition and angiotensin II AT1 receptor antagonism on cardiac parameters in left ventricular hypertrophy. *Am J Cardiol* 1997;80:110A-117A.
34. Susic D, Varagic J, Frohlich ED. Pharmacologic agents on cardiovascular mass, coronary dynamics and collagen in aged spontaneously hypertensive rats. *J Hypertens* 1999;17:1209-1215.
35. Linz W, Wiemer G, Schaper J, et al. Angiotensin converting enzyme inhibitors, left ventricular hypertrophy and fibrosis. *Mol Cell Biochem* 1995;147:89-97.

36. Mori T, Nishimura H, Ueyama M, Kubota J, Kawamura K. Comparable effects of angiotensin II and converting enzyme blockade on hemodynamics and cardiac hypertrophy in spontaneously hypertensive rats. *Jpn Circ J* 1995;59:624-30.
37. Brilla CG, Janicki JS, Weber KT. Impaired diastolic function and coronary reserve in genetic hypertension. Role of interstitial fibrosis and medial thickening of intramyocardial coronary arteries. *Circ Res* 1991;69:107-15.
38. Weber KT, Janicki JS, Shroff SG, Laskey W. The mechanics of ventricular function. *Hosp Pract (Off Ed)* 1983;18:113-7, 121-5.
39. Varo N, Iraburu MJ, Varela M, Lopez B, Etayo JC, Diez J. Chronic AT(1) blockade stimulates extracellular collagen type I degradation and reverses myocardial fibrosis in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 2000;35:1197-1202.
40. Brilla CG, Matsubara L, Weber KT. Advanced hypertensive heart disease in spontaneously hypertensive rats. Lisinopril-mediated regression of myocardial fibrosis. *Hypertension* 1996;28:269-275.
41. Chevalier B, Heudes D, Heymes C, et al. Trandolapril decreases prevalence of ventricular ectopic activity in middle-aged SHR. *Circulation* 1995;92:1947-53.
42. Kojima M, Shiojima I, Yamazaki T, et al. Angiotensin II receptor antagonist TCV-116 induces regression of hypertensive left ventricular hypertrophy in vivo and inhibits the intracellular signaling pathway of stretch-mediated cardiomyocyte hypertrophy in vitro. *Circulation* 1994;89:2204-11.

43. Kuzuo H, Honda M, Ishinaga Y, et al. Angiotensin converting enzyme inhibitor, captopril, inhibits cardiac hypertrophy without changing collagen types and concentration in spontaneously hypertensive rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1993;20:253-60.
44. Chopra M, McMurray J, Stewart J, Dargie HJ, Smith WE. Free radical scavenging: a potentially beneficial action of thiol-containing angiotensin converting enzyme inhibitors. *Biochem Soc Trans* 1990;18:1184-1185.
45. Napoli C, Cicala C, D'Armiento FP, et al. Beneficial effects of ACE-inhibition with zofenopril on plaque formation and low-density lipoprotein oxidation in watanabe heritable hyperlipidemic rabbits. *Gen Pharmacol* 1999;33:467-77.
46. Buikema H, Monnick SH, Tio RA, Crijns HJ, de Zeeuw D, van Gilst WH. Comparison of zofenopril and lisinopril to study the role of the sulfhydryl-group in improvement of endothelial dysfunction with ACE-inhibitors in experimental heart failure. *Br J Pharmacol* 2000;130:1999-2007.
47. Liu X, Engelman RM, Rousou JA, Cordis GA, Das DK. Attenuation of myocardial reperfusion injury by sulfhydryl-containing angiotensin converting enzyme inhibitors. *Cardiovasc Drugs Ther* 1992;6:437-43.

FIGURE 1

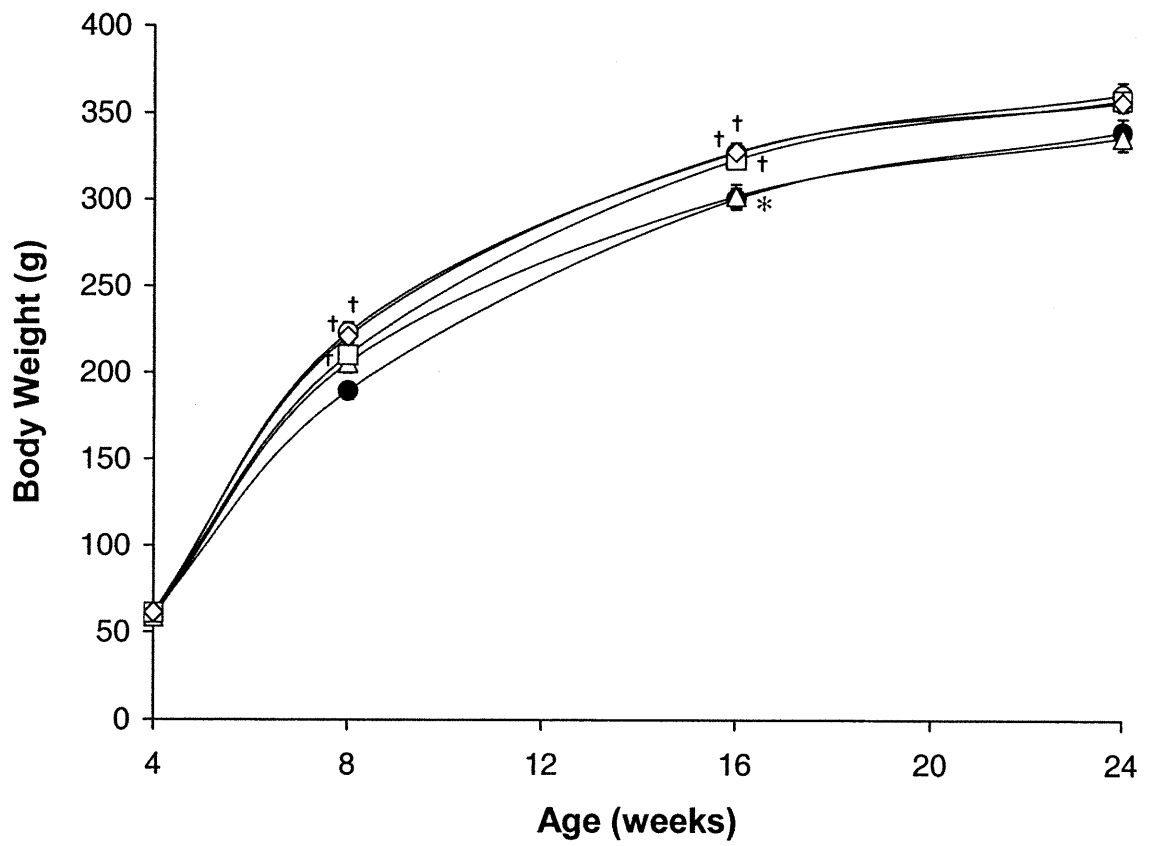


FIGURE 2

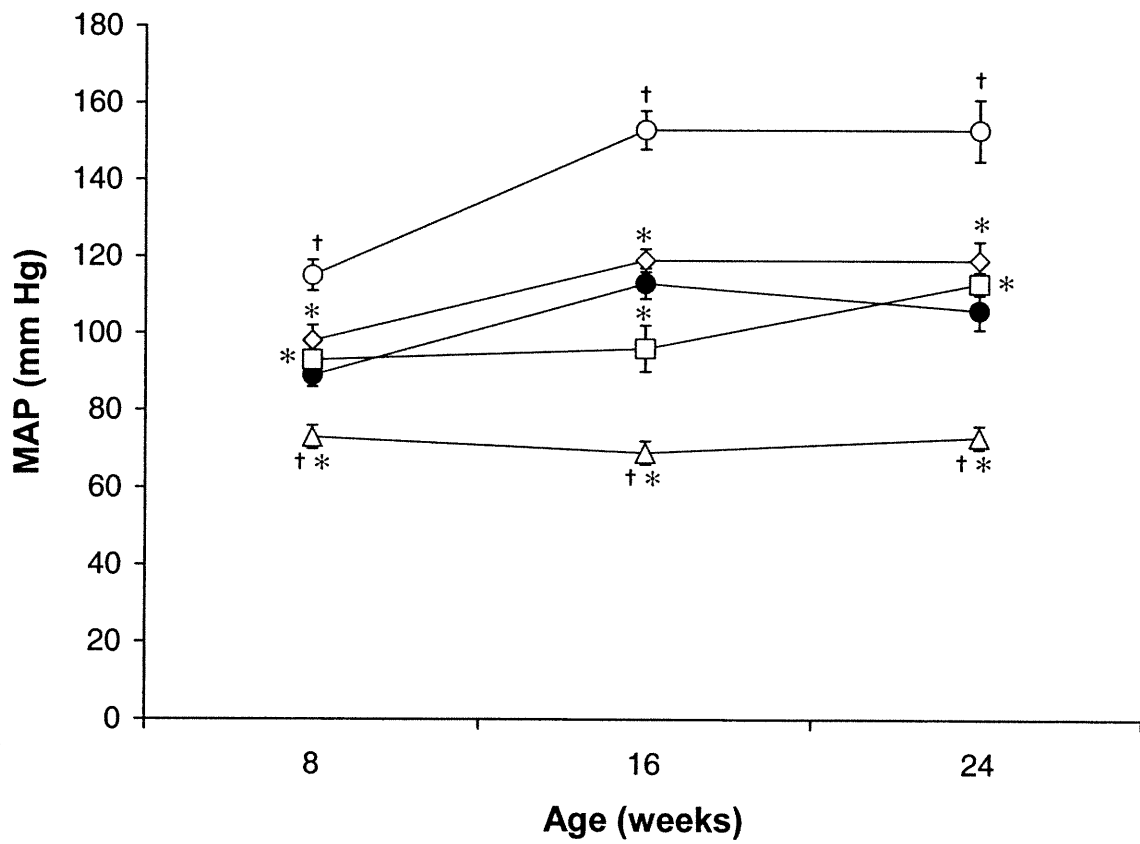


FIGURE 3

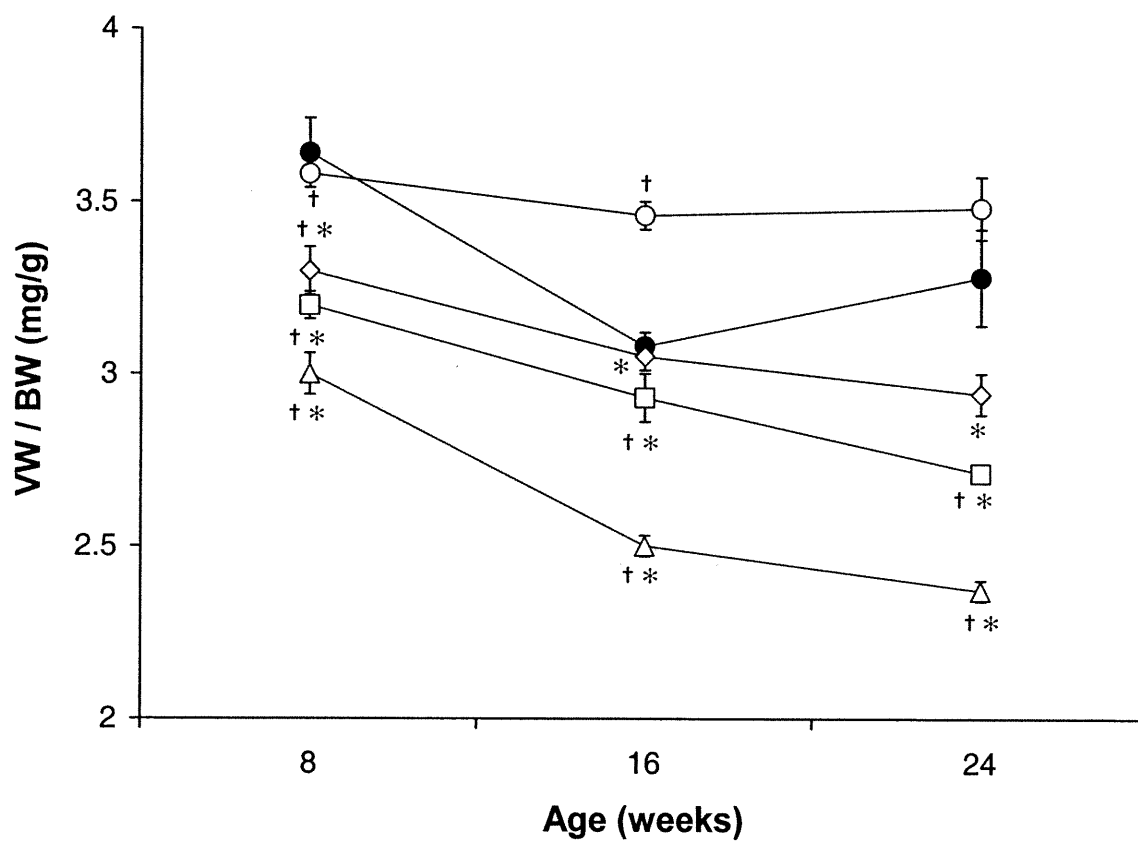
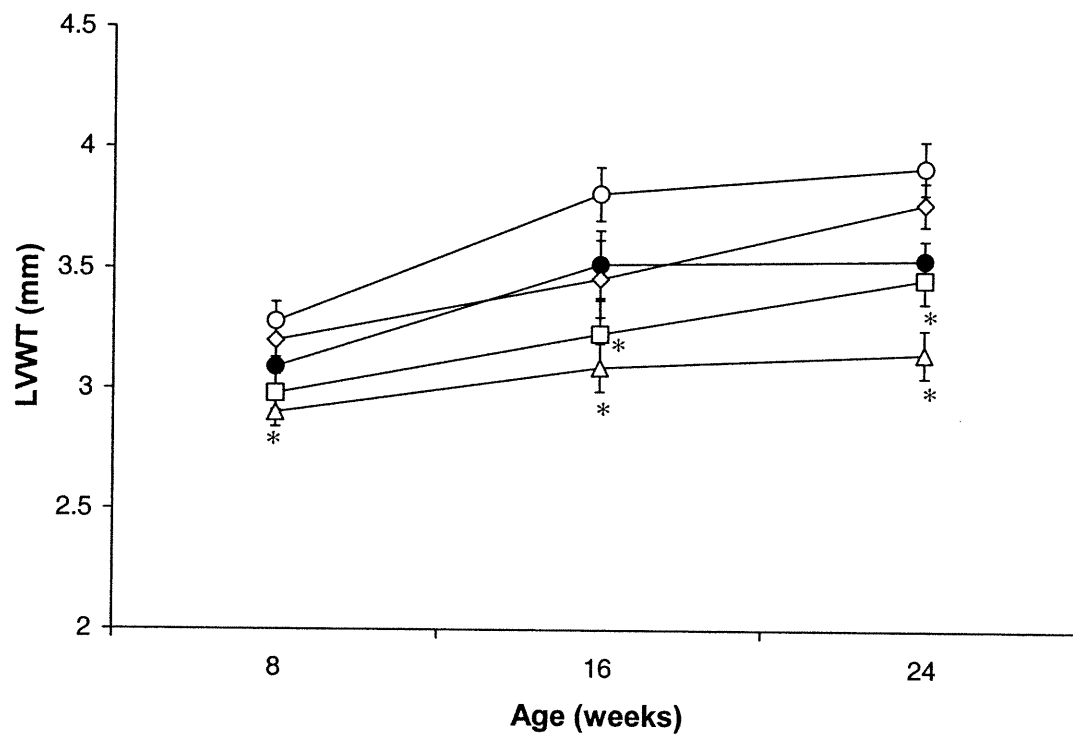


FIGURE 4

A)



B)

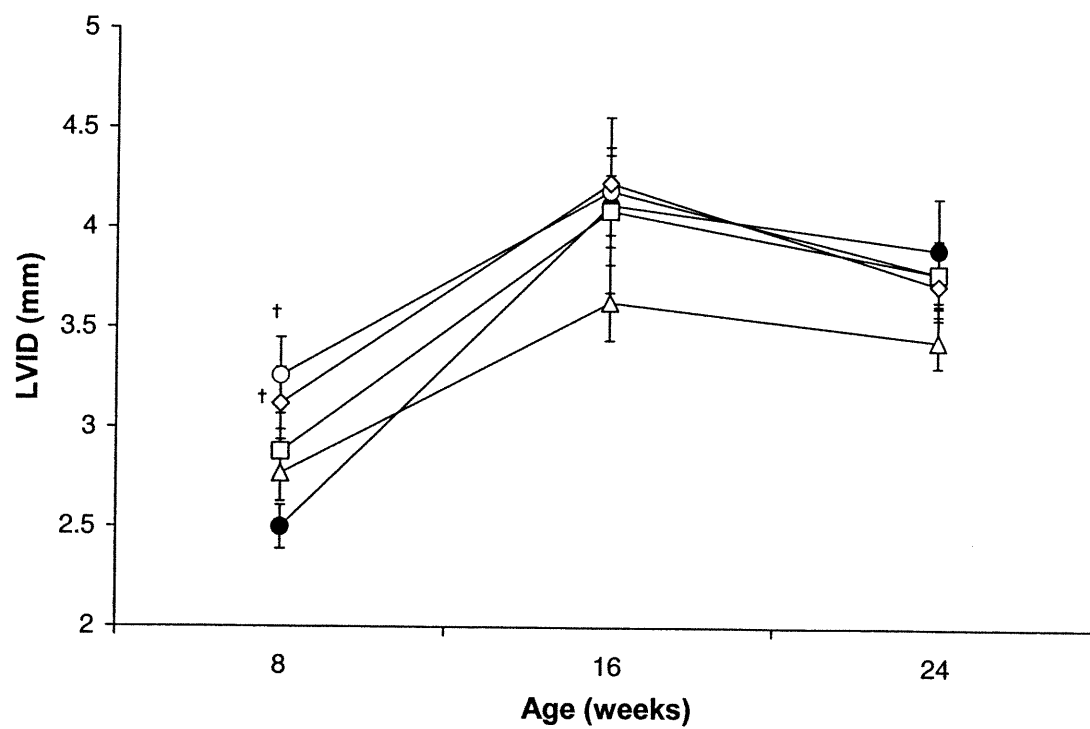
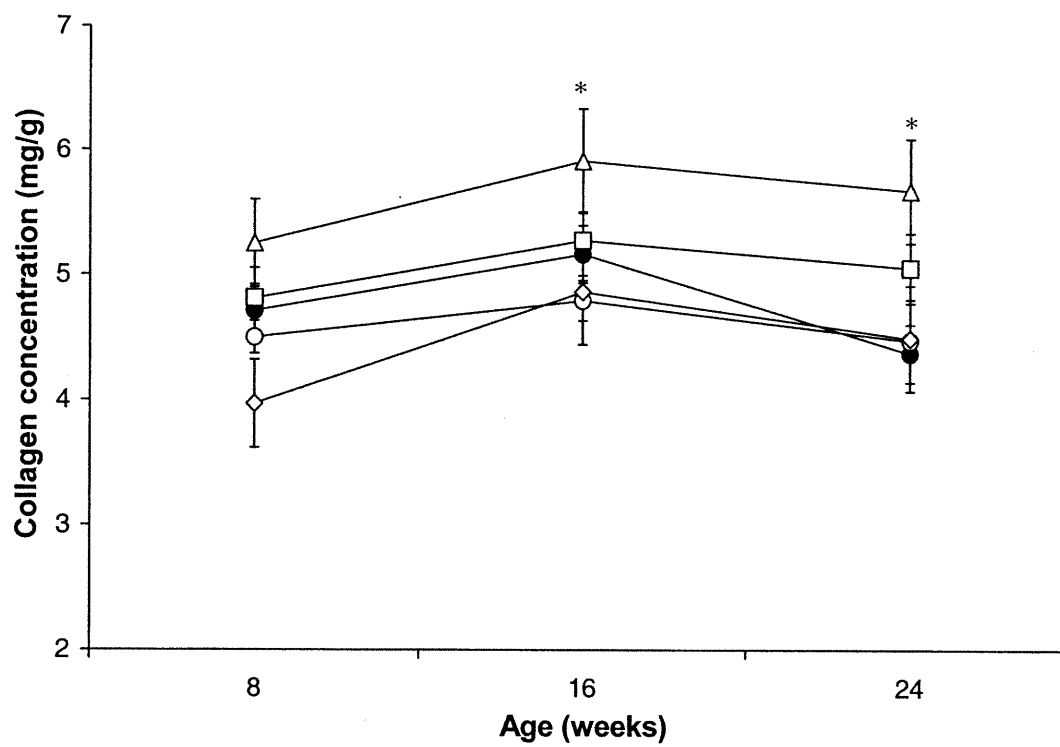


FIGURE 5

A)



B)

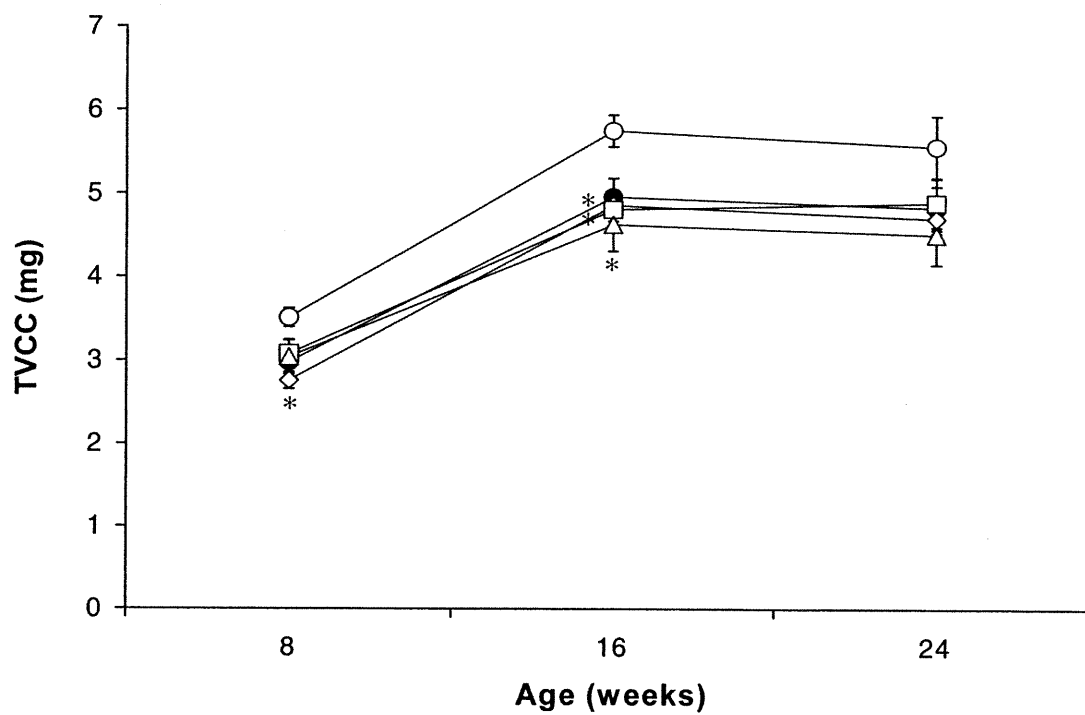


FIGURE 6

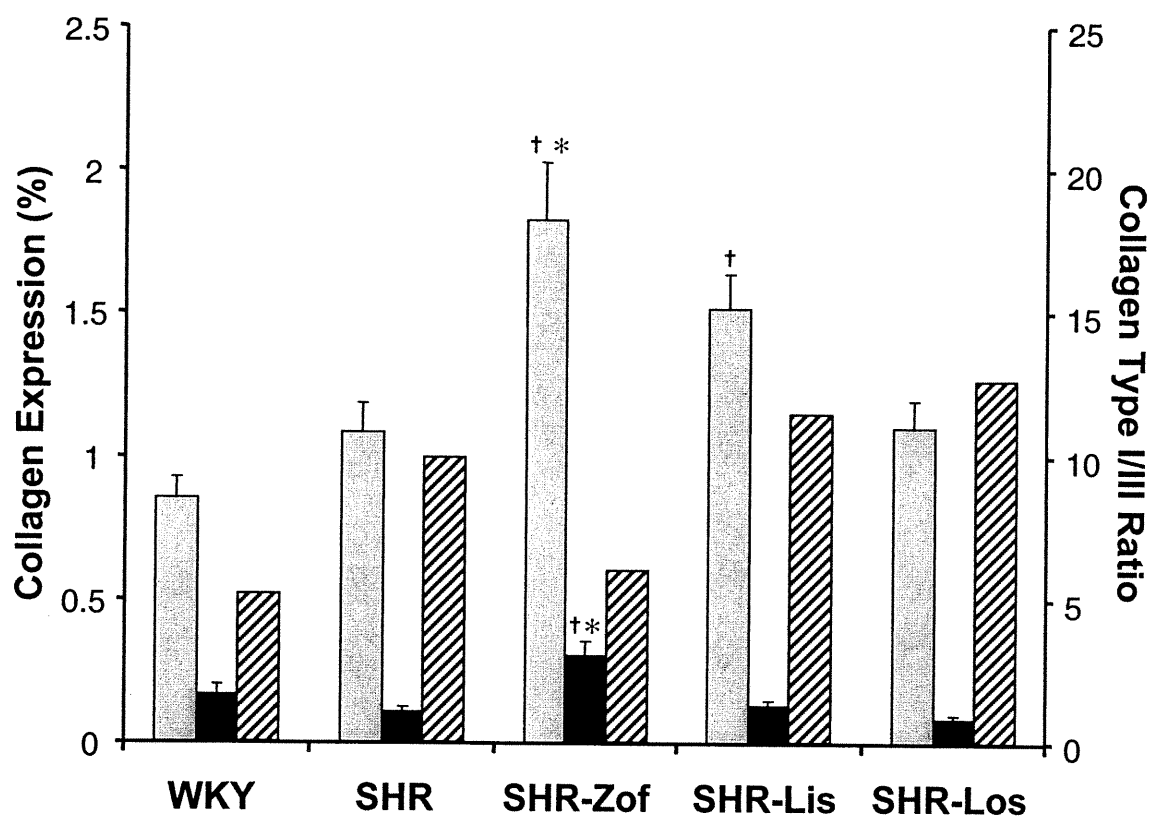
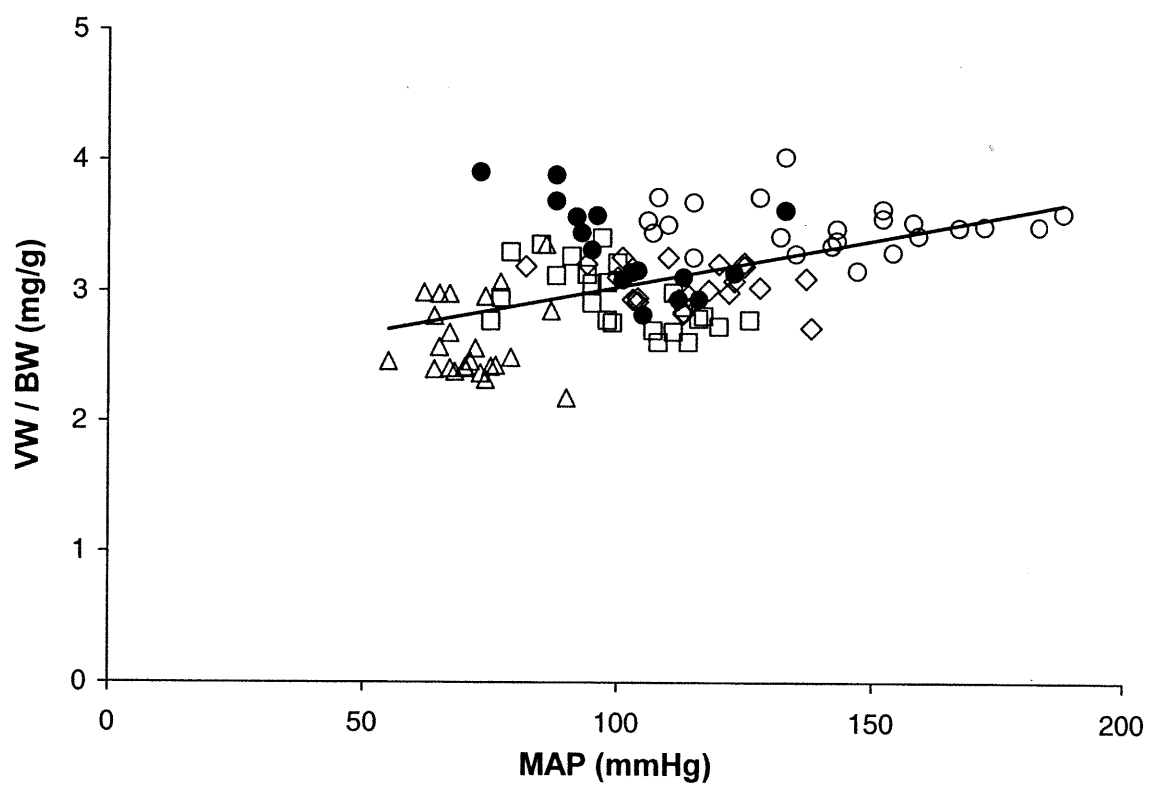


FIGURE 7



LEGENDS TO FIGURES

FIGURE 1

Graph showing the body weight of WKY rats (●), untreated SHRs (○) and SHRs treated with zofenopril 10 mg/kg/day (□), lisinopril 10 mg/kg/day (Δ) or losartan 20 mg/kg/day (◇) determined at 4, 8, 16 and 24 weeks of age. The values are expressed as mean ± SEM, $n = 8$ per group. † $p < 0.05$ vs. WKY rats. * $p < 0.05$ vs. untreated SHRs.

FIGURE 2

Graph showing the mean arterial pressure (MAP) measured in conscious and unrestrained WKY rats (●), untreated SHRs (○) and SHRs treated with zofenopril 10 mg/kg/day (□), lisinopril 10 mg/kg/day (Δ) or losartan 20 mg/kg/day (◇) at 8, 16 and 24 weeks of age. The values are expressed as mean ± SEM, $n = 8$ per group. † $p < 0.05$ vs. WKY rats. * $p < 0.05$ vs. untreated SHRs.

FIGURE 3

Graph showing the ventricles to body weight ratio (VW/BW) of WKY rats (●), untreated SHRs (○) and SHRs treated with zofenopril 10 mg/kg/day (□), lisinopril 10 mg/kg/day (Δ) or losartan 20 mg/kg/day (◇) determined at 8, 16 and 24 weeks of age. The values are expressed as mean ± SEM, $n = 8$ per group. † $p < 0.05$ vs. WKY rats. * $p < 0.05$ vs. untreated SHRs.

FIGURE 4

Graph showing **A)** the left ventricular wall thickness (LVWT) and **B)** the left ventricular internal diameter (LVID) of WKY rats (●), untreated SHRs (○) and SHRs treated with zofenopril 10 mg/kg/day (□), lisinopril 10 mg/kg/day (Δ) or losartan 20 mg/kg/day (◇) determined at 8, 16 and 24 weeks of age. The values are expressed as mean ± SEM, *n* = 8 per group. † *p* < 0.05 vs. WKY rats. * *p* < 0.05 vs. untreated SHRs.

FIGURE 5

Graph showing **A)** the collagen concentration (mg/g) and **B)** the total ventricular collagen content (TVCC) of WKY rats (●), untreated SHRs (○) and SHRs treated with zofenopril 10 mg/kg/day (□), lisinopril 10 mg/kg/day (Δ) or losartan 20 mg/kg/day (◇) determined at 8, 16 and 24 weeks of age. The values are expressed as mean ± SEM, *n* = 8 per group. * *p* < 0.05 vs. untreated SHRs.

FIGURE 6

Graph showing expression of collagen type I (■) and III (■) and collagen type I/III ratio (▣) of WKY rats, untreated SHRs (SHR) and SHRs treated with zofenopril 10 mg/kg/day (SHR-Zof), lisinopril 10 mg/kg/day (SHR-Lis) or losartan 20 mg/kg/day (SHR-Los) determined at 24 weeks of age. The values are expressed as mean ± SEM, *n* = 4 optical sections per heart; 8 rats per group. † *p* < 0.05 vs. WKY rats. * *p* < 0.05 vs. untreated SHRs.

FIGURE 7

Relationship of ventricles to body weight ratio (VW/BW) to mean arterial pressure (MAP) (n = 107) of WKY rats (●), untreated SHR (○) and SHR treated with zofenopril 10 mg/kg/day (□), lisinopril 10 mg/kg/day (Δ) or losartan 20 mg/kg/day (◇) at all ages.

CHAPITRE 3

DISCUSSION ET CONCLUSION

1. Problématique

L'HTA est un facteur de risque cardiovasculaire bien connu et il n'y a plus de doute sur l'intérêt d'abaisser les valeurs de pression artérielle chez les sujets hypertendus (Rayburn 1998). En effet, la maîtrise de l'hypertension est cruciale pour l'amélioration de la qualité de vie des patients puisqu'elle permet de diminuer l'invalidité et la mortalité ainsi que de réduire les coûts des soins de santé associés au traitement des maladies auxquelles elle contribue (McAlister et al. 2001). Dans les dernières années, de nombreuses évidences ont démontré l'avantage clinique du blocage du SRAA. En effet, on a vu que le système rénine-angiotensine joue un rôle primordial dans la régulation de la pression artérielle et de l'homéostasie hydro-sodée. L'Ang II, l'effecteur principal du SRAA, est impliquée dans le déterminisme de l'HTA à cause de ses propriétés vasoconstrictrices, de rétention hydro-sodée, de sécrétion d'aldostérone et de stimulation du système sympathique. Cette hormone est également impliquée dans le remodelage vasculaire et cardiaque et elle est responsable de la prolifération des cellules musculaires lisses vasculaires, de l'hypertrophie des myocytes cardiaques et de la stimulation de la synthèse de collagène (Asmar et al. 1998).

De ce fait, les IECA ont un rôle bien établi dans le contrôle de l'hypertension ainsi que pour abaisser la morbidité et la mortalité cardiovasculaires liées à l'insuffisance cardiaque (Garg et al. 1995). De plus, de nombreuses études ont montré que les IECA avaient un effet sur la structure et la fonction du myocarde. Ces médicaments possèdent, parallèlement à leur effet antihypertenseur, un effet sur la régression de l'HVG observée lors de l'hypertension (Cipriano et al. 2001; Muiesan et al. 1996;

Verdecchia et al. 1998). Les IECA jouent également un rôle dans le remodelage du myocarde en entraînant une régression de la fibrose myocardique (Brilla et al. 1996; Brooks et al. 1997). Il existe plusieurs types d'IECA et chacun présente des différences pharmacologiques, pharmacocinétiques et thérapeutiques, d'où l'importance de bien les comprendre afin d'obtenir un traitement optimal. Ainsi, cette étude a été réalisée afin d'évaluer l'effet de la présence du groupement fonctionnel sulphydryl du zofénopril sur le développement de l'hypertrophie et de la fibrose cardiaques suite à une élévation de la pression artérielle. L'effet cardioprotecteur du zofénopril a été comparé à celui d'un autre IECA, le lisinopril, ainsi qu'à un placebo et à un antagoniste du récepteur AT₁ de l'Ang II, le losartan.

Suite à un traitement de 20 semaines (de 4 à 24 semaines d'âge) chez des rats SHR, nos données indiquent que ces trois agents réduisent la pression artérielle, préviennent le développement de l'hypertrophie cardiaque et l'accumulation de collagène comparativement aux rats SHR non-traités. Aucune différence n'a été observée quant aux effets antihypertenseurs du zofénopril (10 mg/kg/jour) et du losartan (20 mg/kg/jour). En effet, ces deux agents ont respectivement diminué la pression artérielle moyenne de 26% et de 22%. Ils ont également réduit de façon équivalente l'index d'hypertrophie cardiaque. Cependant, le lisinopril, à la dose utilisée lors de cette étude (10 mg/kg/jour), a diminué de façon plus importante l'hypertrophie cardiaque et il a produit une chute inattendue de 52% de la pression artérielle.

À 16 et 24 semaines d'âge, le lisinopril et le zofénopril ont abaissé de façon comparable et significative l'épaisseur de la paroi ventriculaire gauche par rapport aux rats SHR non-traités. Le traitement au losartan n'a pas eu d'effet significatif sur ce paramètre, mais il tendait également à diminuer l'épaisseur de la paroi du ventricule gauche chez les rats de tous âges. De plus, aucune différence significative n'a été observée entre les 5 groupes expérimentaux concernant le diamètre interne du ventricule gauche. Nos résultats démontrent également une réduction similaire du contenu en collagène ventriculaire total par l'inhibition de l'ECA et l'antagonisme du récepteur AT₁ de l'Ang II par rapport aux rats SHR non-traités. Toutefois, seul le zofénopril semblait normaliser la distribution du collagène de type I et III, due en grande partie à une augmentation significative de l'expression (%) du collagène de type III, alors que le ratio I/III semblait augmenté dans tous les autres groupes de rats SHR.

2. Modèle expérimental d'hypertension artérielle

Tel que précisé auparavant, de nombreux modèles expérimentaux ont été utilisés pour étudier la physiopathologie de l'HTA. Comparativement aux animaux qui deviennent hypertendus par des facteurs génétiques, ceux qui le deviennent suite à des interventions telles des injections de DOCA, un apport en sel ou une constriction artérielle rénale expérimentale présentent de nombreuses variations inter-individuelles introduisant des différences importantes dans le développement de l'hypertension. De leur côté, les rats SHR offrent de nombreux avantages comme modèle d'étude pour l'hypertension humaine. En effet, ces animaux présentent une

progression lente de la maladie avec des phases pré-hypertensive, de développement et d'établissement de l'hypertension, chacune de celles-ci se prolongeant sur plusieurs semaines (Folkow 1993). Cependant, les rats deviennent hypertendus en bas âge plutôt qu'en âge moyen comme chez l'homme. L'absence de variations inter-individuelles est un autre avantage majeur des rats SHR. Ainsi, il n'est pas surprenant que ce modèle soit utilisé avec succès depuis plus de 30 ans pour évaluer l'efficacité des médicaments antihypertenseurs, de même que pour étudier les mécanismes impliqués dans l'hypertension (Doggrell et al. 1998).

3. Choix et initiation du traitement

Dans notre étude, l'effet du zofénopril a été comparé à un autre IECA, le lisinopril, et à un antagoniste du récepteur AT₁ de l'Ang II, le losartan. Le choix du lisinopril se justifie par le fait que la moitié active de ce médicament possède une puissance inhibitrice de l'ECA équivalente à celle du zofénopril, tel qu'évalué dans des homogénats tissulaires de rats SHR (Cushman et al. 1989a). De son côté, le choix du losartan peut s'expliquer par les résultats d'une étude précédente de Varo et al. (Varo et al. 1999) qui démontrait une régression de l'HVG et de la fibrose ventriculaire chez de jeunes rats SHR suite à un blocage chronique des récepteurs AT₁ de l'Ang II avec cet agent. De plus, le losartan est le premier antagoniste sélectif, non peptidique, des récepteurs AT₁ de l'Ang II et actif par voie orale (Asmar et al. 1998). Les effets bénéfiques du lisinopril et du losartan ont par ailleurs été évalués en clinique chez des patients hypertendus (Brilla et al. 2000; Diez et al. 1995; Pitt et al. 1997).

L'administration des médicaments a débuté chez des rats âgés de 4 semaines présentant une pression artérielle normale. Le fait de commencer le traitement chez de jeunes rats se justifie par le désir d'évaluer l'efficacité de la thérapie à prévenir le développement de l'hypertension, de l'hypertrophie et de la fibrose cardiaques. Par exemple, une étude chez les rats SHR a démontré que la capacité du captopril à prévenir l'apparition de dysfonctions contractiles était reliée à l'âge auquel le traitement était initié ainsi qu'à la durée d'administration du médicament (Brooks et al. 1997). D'après cette équipe, un meilleur effet est observé lorsque le traitement débute tôt et se prolonge sur une longue période. D'autres études ont également fait la démonstration que les IECA (Kost et al. 2000; Swislocki et al. 1999) et les antagonistes du récepteur AT₁ de l'Ang II (Yonezawa et al. 1996) diminuent le développement de l'hypertension et de l'hypertrophie cardiaque chez les SHR quand le traitement est initié en bas âge.

Des doses quotidiennes de 10 mg/kg de zofénopril et de lisinopril ont été administrées oralement aux rats SHR. Le zofénopril étant insoluble dans l'eau, de la β -cyclodextrine (800 mg/L) a été ajoutée afin de former un complexe soluble et ainsi, permettre une administration orale du zofénopril. Il est bien de préciser que cette substance ne pénètre pas dans la circulation et qu'elle n'affecte en aucun cas l'absorption du zofénopril (van Wijngaarden et al. 1991). Les doses retenues pour les deux IECA ont été déterminées en se basant sur des études *ex vivo* qui démontraient une inhibition équipotente de l'ECA à cette dose (Cushman et al. 1989a). La dose de losartan (20 mg/kg/jour) a été choisie en fonction d'études

précédentes qui démontreraient un bon effet hypotenseur à une telle dose (Fortuno et al. 1998; Varo et al. 1999; Varo et al. 2000; Wagner et al. 1998).

Une inhibition *ex vivo* réfère à l'inhibition d'une enzyme endogène présente dans le sang ou dans un homogénat tissulaire d'un animal ayant préalablement reçu un inhibiteur. En présence d'un inhibiteur irréversible, le degré d'inhibition *ex vivo* devrait être identique à celui retrouvé dans les tissus de l'animal intact. Cependant, un nouvel équilibre peut s'établir entre l'inhibiteur et l'enzyme pendant l'incubation, ce qui peut mener à des degrés d'inhibition *ex vivo* et *in vivo* différents (Cushman et al. 1989b), ce qui pourrait expliquer les divergences de résultats concernant l'effet antihypertenseur des deux IECA. De plus, tel que discuté précédemment, les IECA possèdent des propriétés pharmacologiques différentes, dont la lipophilicité qui est un indice de pénétration tissulaire. Par conséquent, le zofénopril, qui possède une lipophilicité élevée, devrait être relié à une meilleure inhibition de l'ECA cardiaque comparativement au lisinopril, qui a une très faible lipophilicité. L'effet plus important du lisinopril sur la pression artérielle et l'hypertrophie cardiaque pourrait toutefois s'expliquer par ses propriétés de liaison plutôt que par celles de pénétration tissulaire (Zhu et al. 1997). Ainsi, tel que suggéré par Susic et al. (Susic et al. 1999), il est fort probable que des différences pharmacodynamiques entre le zofénopril et le lisinopril soient responsables des résultats que nous avons obtenus.

4. Importance de l'intégrité de la matrice extracellulaire

Un des principaux mécanismes de compensation du cœur à une augmentation de charge est le développement de l'hypertrophie cardiaque. En effet, il est bien établi

que la masse du ventricule gauche et l'épaisseur de sa paroi augmentent lors d'une surcharge de pression chronique, qui s'accompagne également d'une fibrose interstitielle (Brilla et al. 1990). Nos résultats démontrent une augmentation de la masse ventriculaire gauche ainsi qu'une paroi ventriculaire plus épaisse chez les rats hypertendus de tous âges par rapport aux rats normotendus. On a vu que le zofénopril et le lisinopril ont diminué de façon comparable et significative ces paramètres alors que le losartan a eu un effet moindre sur la réduction de l'hypertrophie et sur l'épaisseur de la paroi ventriculaire gauche. Ces effets cardiaques différents pourraient possiblement s'expliquer par des mécanismes d'action distincts de ces deux types d'agents. En effet, les antagonistes AT₁ de l'Ang II bloquent les effets relayés par l'Ang II et ils entraînent donc une accumulation d'Ang II, et possiblement une stimulation des récepteurs AT₂ pouvant être associée à une augmentation de la génération de kinines via une activation de la kininogénase (Tsutsumi et al. 1999, Yang et al. 2001). D'un autre côté, l'inhibition de l'ECA inhibe la synthèse d'Ang II et potentialise l'effet de la bradykinine. Cela mène à une augmentation des taux circulants et tissulaires des kinines, des prostaglandines et du NO, ce qui résulte en un effet anti-croissance (Chrysant 1998).

Il a été rapporté que les IECA ont la capacité de faire régresser l'HVG chez les patients hypertendus et dans divers modèles expérimentaux d'hypertension. Le mécanisme par lequel ces agents diminuent l'hypertrophie cardiaque n'est cependant pas encore complètement élucidé. Il semble que la réduction de la post-charge soit un facteur important dans la régression de l'HVG. Dans la présente étude, tous les traitements ont empêché de façon significative le développement de l'HVG par

rapport au groupe de rats SHR non-traités. Nos résultats indiquent que le degré de réduction de l'hypertrophie est corrélé avec celui de la diminution de la pression artérielle ($R = 0.385$; $P < 0.001$); le lisinopril ayant un effet significatif plus important sur ces deux paramètres. D'un autre côté, l'équipe de Linz et al. (Linz et al. 1995) a rapporté que le ramipril, à une dose ne diminuant pas la pression artérielle, renverse l'HVG chez les rats avec une constriction de l'aorte. De plus, Mori et al. (Mori et al. 1995) ont observé qu'un traitement au lisinopril à une dose de 3 mg/kg/jour pendant 2 semaines inhibe la progression de l'hypertension et supprime le développement de l'hypertrophie, alors qu'un traitement au lisinopril à une dose plus faible (0,5 mg/kg/jour) durant la même période empêche le développement de l'HVG sans réduire la pression artérielle. Ces données suggèrent que des facteurs autres que la réduction de la pression artérielle jouent un rôle dans la régression de l'HVG par les IECA.

Lors de l'HVG associée à l'hypertension, le réseau conjonctif cardiaque, majoritairement constitué de collagène, est modifié (Robert et al. 1993). Notre étude révèle que le contenu en collagène ventriculaire total, évalué par dosage d'hydroxyproline, augmente de façon importante dès les premières semaines d'âge. De plus, la quantité de collagène présent dans le cœur des rats SHR non-traités tendait à être plus élevée que dans les autres groupes expérimentaux. Une étude précédente chez les rats SHR a indiqué la présence d'une augmentation du collagène interstitiel évalué par morphométrie, en plus de l'hypertrophie cardiaque observée (Brilla et al. 1991). Cet excès de collagène cardiaque observé tant chez les animaux (Doering et al. 1988; Michel et al. 1988; Pick et al. 1989) que chez les humains

hypertendus (Huysman et al. 1989; Pardo Mindan et al. 1993) présentant une HVG est le résultat d'une synthèse exagérée et d'une dégradation inadéquate du collagène (Varo et al. 2000). Des études *in vitro* de Brilla et al. ont démontré que l'Ang II stimule de façon dose-dépendante la synthèse de collagène dans des fibroblastes cardiaques de rats adultes. Dans le même modèle expérimental, cette équipe a également montré que ce peptide vasoconstricteur empêche la dégradation du collagène en inhibant l'enzyme MMP-1 (Brilla et al. 1994b). D'un autre côté, certaines données suggèrent que l'Ang II mène à une régulation à la hausse du TGF- β_1 dans les cardiomyocytes (Sadoshima et al. 1993), ce facteur de croissance ayant la capacité de stimuler la synthèse du collagène de type I (Davidson et al. 1993; Rossi et al. 1988). Ainsi, lors de maladies hypertensives où le SRAA circulant ou tissulaire est activé, on observe une interaction directe entre ce système et les fibroblastes cardiaques modulant la composition et la quantité de collagène (Brilla et al. 1994a).

Suite à l'inhibition de l'ECA et à l'antagonisme des récepteurs AT₁ de l'Ang II, les résultats de notre étude indiquent que la quantité de collagène présent dans le coeur des rats SHR a été réduite de façon similaire par ces deux types d'agents et ce, indépendamment de la réduction de la pression artérielle (R = 0.190; P = 0.115, N.S.). Ces résultats corroborent ceux d'autres études chez les rats SHR qui ont clairement démontré une réduction de la fibrose cardiaque suite à un traitement avec des IECA tels le lisinopril (Brilla et al. 1991), l'énalapril (Susic et al. 1999) et le trandolapril (Chevalier et al. 1995) ou des antagonistes du récepteur AT₁ tels le losartan (Varo et al. 1999) et le candésartan (Brilla 2000).

En plus d'observer une augmentation du contenu total de collagène chez les rats SHR avec l'âge, la nature du collagène présent dans le cœur change. Tel que précisé auparavant, les principales protéines de structure de la matrice extracellulaire cardiaque sont les collagènes fibrillaires de type I et III (Medugorac et al. 1983). Ce réseau de collagène permet de préserver l'architecture du myocarde contre les forces dynamiques de contraction, de relaxation et de remplissage observées lors du cycle cardiaque (Brilla et al. 1997). D'où l'importance du concept selon lequel la qualité plutôt que la quantité de collagène présent dans le cœur joue un rôle majeur dans la détermination de la fonction cardiaque. En effet, il est important de reconnaître que la concentration totale de collagène n'est pas le seul déterminant des propriétés mécaniques du cœur et que la composition chimique du collagène, de même que son arrangement dans le myocarde sont également cruciaux. À ce sujet, Mukherjee et Sen (Mukherjee et al. 1990) ont démontré que le ratio de collagène de type I/III est altéré chez le rat SHR âgé suggérant que la distribution des divers types de collagène, tout comme la quantité, peut influencer la fonction du myocarde dans ce modèle expérimental.

Nous avons donc examiné les différents phénotypes de collagène par une coloration au rouge Sirius. Cette méthode, couplée à la morphométrie informatisée, permet la quantification des collagènes de type I et III dans les mêmes préparations histologiques. Cette approche est basée sur une étude de Junqueira et al. (Junqueira et al. 1979) qui a rapporté la propriété biréfringente des collagènes, permettant une différenciation d'après le diamètre de leurs fibres. Ainsi, suite à une coloration au rouge Sirius observée sous lumière polarisée, cette équipe a démontré que les fibres

épaisses de collagène de type I apparaissent en rouge et que les fibres plus fines de collagène de type III apparaissent en vert.

Nos données expérimentales indiquent un patron d'expression du collagène de type I similaire, avec une tendance à l'augmentation chez les rats hypertendus non-traités par rapport aux rats normotendus. L'expression du collagène de type III était également comparable, avec une tendance à la diminution chez les rats SHR non-traités comparativement aux rats WKY. Le groupe de Yang et al. (Yang et al. 1997) a rapporté une distribution semblable du collagène I et III chez les rats WKY et les rats SHR au cours des 40 premières semaines d'âge, avec une quantité plus importante du collagène de type I par rapport au type III, le ratio de collagène de type I et III dans le cœur normal de rat adulte étant de 3-5:1 (Medugorac & Jacob 1983). La quantification des phénotypes de collagènes I et III a été réalisée par une digestion au bromure de cyanogène suivie d'une électrophorèse sur gel de SDS-polyacrylamide et leurs résultats sont exprimés en % d'expression par mg de collagène. Toutefois, les données de la littérature divergent au sujet des changements dans la distribution du collagène de type I et III observés pendant le développement de l'hypertrophie cardiaque. Selon certains auteurs, le collagène de type III augmente dans les premiers stades de la maladie et ce, en utilisant la même technique pour évaluer la proportion des collagènes de type I et III (Bishop et al. 1995). À un stade plus avancé de la pathologie humaine et animale, d'autres investigateurs stipulent que l'expression de collagène de type I augmente (digestion au bromure de cyanogène suivie d'une électrophorèse sur gel de SDS-polyacrylamide) (Bishop et al. 1990; Mukherjee & Sen 1990), que la proportion de

collagène de type III augmente (digestion du collagène par la pepsine suivie d'une électrophorèse sur gel de SDS-polyacrylamide) (Medugorac & Jacob 1983) ou qu'il y a un retour à un niveau normal d'expression de l'ARNm de ces deux phénotypes de collagène lorsqu'évalué par analyse Northern blot (Chapman et al. 1990). Ces différences peuvent dépendre, entre autres, du modèle expérimental privilégié (espèce animale, âge, temps de prélèvements, etc.) et de la méthode d'extraction du collagène.

Chez des patients hypertendus, une étude révèle qu'une administration de lisinopril pendant 6 mois est associée à une baisse de la synthèse de collagène de type I (Diez et al. 1995). Nous avons observé une augmentation significative de l'expression du collagène de type I dans les groupes de rats SHR traités sur une période de 20 semaines au zofénopril et au lisinopril. D'un autre côté, une augmentation de l'expression du collagène de type III a été notée uniquement dans le groupe traité au zofénopril par rapport aux rats WKY et SHR non-traités. Lorsque l'on exprime ces résultats sous forme de ratio, soit l'expression du collagène de type I / l'expression du collagène de type III, on remarque que le zofénopril était le seul traitement qui semblait normaliser la distribution du collagène I et III.

Supportant nos résultats, le groupe de Mukherjee et Sen (Mukherjee & Sen 1990) a rapporté une réduction de la quantité totale de collagène cardiaque ainsi qu'une normalisation du ratio de collagène I/III suite à l'administration de captopril (50 mg/kg/jour) pendant 6 semaines à des rats SHR âgés de 34 semaines. Nos résultats sont aussi en accord avec ceux de Yang et al. (Yang et al. 1997), qui ont

observé une diminution du ratio du collagène I/III par le captopril (50 mg/kg/jour) et non par le lisinopril (10 mg/kg/jour) suite à un traitement de 13 semaines à des rats SHR âgés de 8 semaines. Puisque dans leur étude ces deux médicaments contrôlaient la pression artérielle et diminuaient l'hypertrophie cardiaque de façon équivalente, en plus de prévenir la formation d'Ang II *in vivo*, ces auteurs suggèrent que le changement dans l'expression des phénotypes de collagène n'est pas dû exclusivement à la prévention de la formation d'Ang II.

D'un autre côté, on a vu que les IECA peuvent agir en tant que de puissants antioxydants (Zhang et al. 1999). En altérant la synthèse d'Ang II, ces agents entraînent une baisse de la stimulation des NADH-/NADPH oxydases, associée à une diminution de la libération du radical O_2^- dans la circulation. Dans nos conditions expérimentales, le losartan (antagoniste du récepteur AT_1) n'a pas eu d'effet sur l'expression du collagène de type III. Ces résultats suggèrent que la diminution de l'activation des NAD(P)H oxydases via le récepteur AT_1 n'est pas le mécanisme antioxydant mis en jeu dans notre modèle animal. Le captopril et le zofénopril se différencient des autres IECA par leur groupement fonctionnel sulphydryl qui possède des propriétés antioxydantes (voir section 5). Il est alors possible de spéculer que les effets cardioprotecteurs additionnels du captopril et du zofénopril sont dus en partie à leur capacité à piéger les radicaux libres de l'oxygène. Ainsi, le zofénopril, par son groupement SH, agirait en tant que piègeur de radicaux libres de l'oxygène différents de ceux produits via les enzymes membranaires NAD(P)H oxydases.

5. Propriétés antioxydantes du zofénopril

Le puissant effet antioxydant du zofénopril a été démontré dans de nombreuses expériences *in vitro* (Chopra et al. 1992; Mak et al. 1990) et *in vivo* (Buikema et al. 2000; Napoli et al. 1999). Dans un modèle de cellules endothéliales en culture, cet agent protège ce type cellulaire contre les radicaux libres induit par la peroxydation des lipides (Mak et al. 1990). *In vivo*, les propriétés cardioprotectrices du zofénopril ont été mises en évidence chez le lapin WHHL (*Watanabe Heritable Hyperlipidemic rabbits*), où il a engendré un effet anti-athérosclérotique et antioxydant (Napoli et al. 1999). Dans un modèle d'ischémie-reperfusion dans des coeurs isolés de rats, il semble que l'inactivation des radicaux libres oxygénés par le zofénopril et le captopril, mais non par le fosinopril, soit le mécanisme responsable de l'effet cardioprotecteur de ces agents (Liu et al. 1992). De plus, une étude récente indique que les propriétés de piègeur de radicaux libres du zofénopril lui permettent de prévenir la cardiotoxicité induite par un traitement chronique à la doxorubicine chez le rat (Sacco et al. 2001).

Buikema et al. (Buikema et al. 2000) ont évalué le rôle du groupement SH dans l'amélioration de la dysfonction endothéliale par des IECA dans un modèle expérimental de défaillance cardiaque chez le rat. Ces investigateurs suggèrent que le zofénopril, en tant qu'IECA, peut être localisé de façon importante dans la circulation et peut se lier à l'ECA. Ainsi, en plus du compartiment intracellulaire, son groupement sulphydryl est disponible dans l'environnement extracellulaire de la paroi vasculaire. À cet endroit, ces auteurs stipulent que le zofénopril peut stabiliser le NO en formant des R-NOS (*Reactive Nitrogen Species*) et/ou prévenir sa

dégradation en piégeant les radicaux libres dans l'environnement extracellulaire. L'effet «capteur de radicaux libres» du zofénopril lui permet donc de protéger les membranes cellulaires, le tissu conjonctif, le tissu nerveux et l'ADN.

On a vu que de nombreux mécanismes peuvent mener à un remodelage du myocarde et ainsi, altérer la quantité et/ou la qualité de la matrice extracellulaire. Lors de la pathogenèse du remodelage myocardique, le stress oxydatif peut être un médiateur important des changements dans la structure et la fonction cellulaires, ceux-ci étant stimulés par des cytokines inflammatoires, des neurohormones et des contraintes mécaniques (Douglas and Wilson, 2000). À ce jour, peu d'études font mention d'un lien direct entre les radicaux libres et la matrice extracellulaire de collagène. Le groupe de Lonn et al. (Lonn et al. 1994) a évalué les effets des piègeurs des radicaux libres de l'oxygène sur la matrice extracellulaire de collagène cardiaque durant l'ischémie et la reperfusion. À l'aide d'un modèle d'ischémie-reperfusion régionale sur un cœur de rat perfusé selon Langerdorf, ces auteurs rapportent que les radicaux libres oxygénés causent une perte de collagène menant à des altérations dans sa structure et déclenchant la dégradation de la matrice de collagène ainsi qu'une dysfonction ventriculaire gauche. Leurs recherches indiquent de plus que les piègeurs de radicaux libres, tels la superoxyde dismutase et la catalase, peuvent efficacement limiter la perte collagénique et la dysfonction ventriculaire gauche.

Une autre équipe a montré que le probucol, un puissant antioxydant, prévient la resténose en améliorant le remodelage vasculaire après une angioplastie coronaire chez des patients (Cote et al. 1999). L'effet «capteur de radicaux libres» du probucol

peut prévenir la dysfonction endothéliale, l'oxydation des LDL (*Low Density Lipoproteins*) de même que l'activation des macrophages et des métalloprotéases. Mentionnons qu'il a été démontré dans des cellules musculaires lisses porcines en culture que les LDL oxydées stimulent la synthèse du collagène (Jimi et al. 1995). Par conséquent, le pouvoir antioxydant du probucol peut limiter l'activation, la migration et la prolifération des cellules musculaires lisses ainsi que la dégradation de la matrice extracellulaire et l'accumulation de nouvelles fibres de collagène.

Ainsi, l'action antioxydante du groupement fonctionnel sulphydryl du zofénopril pourrait empêcher l'oxydation des LDL, qui stimulent la synthèse de collagène. De plus, en inactivant des métalloprotéases, comme MMP-1, elle limite la dégradation de la matrice de collagène déjà présente, réduisant ainsi la possibilité de formation de nouvelles fibres de collagène. Par ailleurs, il a également été rapporté que les antioxydants limitent la perte de collagène induite par les radicaux libres. Des changements dans la structure du collagène pourraient en résulter par une nouvelle distribution dans l'expression des collagènes de type I et III. Il reste cependant à élucider de façon précise par quel(s) mécanisme(s) un piègeur des radicaux libres de l'oxygène, tel le zofénopril, joue un rôle dans la redistribution des phénotypes de collagène suite à une élévation de la pression artérielle comme nous l'avons observé dans notre étude.

6. Importance des IECA en clinique

Il est bien connu que l'HTA est l'un des facteurs de risque les plus importants pour le développement des maladies cardiaques, vasculaires cérébrales, rénales et

vasculaires. Le principal bénéfice du contrôle de la pression artérielle consiste à diminuer l'incidence de ces pathologies vasculaires. Bon nombre d'études expérimentales et cliniques ont démontré l'implication de l'Ang II dans les maladies cardiovasculaires, incluant l'hypertension et l'insuffisance cardiaque. Depuis plusieurs années, les IECA sont largement utilisés dans le traitement de l'HTA et ils constituent le traitement de choix de l'insuffisance cardiaque.

Différentes études cliniques ont montré la capacité des IECA à réduire la morbidité et la mortalité ainsi qu'à améliorer la qualité de vie des patients atteints de problèmes cardiovasculaires. Les études SOLVD (The SOLVD Investigators 1991), SAVE (Pfeffer et al. 1992), AIRE (The AIRE Study Investigators 1993) et TRACE (Kober et al. 1995) ont confirmé le rôle bénéfique de ces médicaments chez les patients présentant une dysfonction ventriculaire gauche après un infarctus du myocarde. De leur côté, les études ISIS-4 (ISIS-4 Collaborative Group 1995) et GISSI-3 (GISSI-3 1994) ont démontré les bénéfices des IECA dès les premières phases de l'infarctus myocardique. Finalement, les résultats de l'étude HOPE (Yusuf et al. 2000) suggèrent que ces agents sont indiqués dans le cadre du traitement à long terme chez tous les patients suite à un infarctus du myocarde, surtout ceux qui démontrent un risque cardiovasculaire élevé.

Le rôle traditionnel du système rénine-angiotensine dans le contexte de la régulation de la pression artérielle a été récemment modifié afin d'incorporer le concept selon lequel l'Ang II est un puissant agent pro-inflammatoire. Dans les cellules vasculaires, il apparaît que l'Ang II est un puissant stimulus pour la formation

d'espèces réactives de l'oxygène (Weiss et al. 2001). Ces données suggèrent que des interventions pharmacologiques inhibant le système rénine-angiotensine pourraient être d'une grande importance dans le traitement et la prévention de l'athérosclérose. À cet effet, il a été démontré qu'un traitement prolongé avec le zofénopril a diminué le développement des lésions d'athérosclérose chez le lapin Watanabe (WHHL) (Napoli et al. 1999). Dans cette optique, le zofénopril, de par ses effets antioxydants, anti-ischémiques et anti-athérosclérotiques, pourrait aussi s'avérer être un agent efficace dans la prévention et le traitement de l'athérosclérose, en plus de l'HTA et de l'insuffisance cardiaque.

7. Projets futurs

L'étude actuelle consistait à évaluer la capacité du zofénopril à prévenir le développement de l'hypertrophie et de la fibrose cardiaques chez des rats SHR. Pour faire suite à ce projet, de nombreuses autres études pourraient être envisagées. Entre autres, il serait intéressant d'évaluer l'effet du zofénopril sur la régression de l'hypertrophie et l'accumulation de collagène dans le même modèle expérimental. En effet, plusieurs patients hypertendus ne présentent pas de complications cardiovasculaires pendant les premiers stades de développement de la maladie. Tel que décrit par Brilla et al. (Brilla et al. 1996), des rats SHR âgés de 78 semaines présentant une hypertension chronique ainsi qu'une fibrose cardiaque sévère pourraient être traités au zofénopril (10 mg/kg/jour) sur une période de 6 à 8 mois afin de déterminer la pression artérielle, l'hypertrophie cardiaque et l'accumulation du collagène. Afin de mieux comprendre les différents mécanismes qui sont

impliqués dans ce modèle expérimental, il serait pertinent de mesurer l'activité de l'ECA cardiaque (voir annexe) et d'évaluer les différents marqueurs de stress oxydatif.

Une des limites de notre étude consiste au fait que Keene et al. (Keene et al. 1987) aient postulé que les fibres de collagène de type III ne formeraient pas des fibres distinctes, mais seraient incorporées au travers des bandes résultantes des fibres de collagène, avec les fibres de collagène de type I. Cette possibilité conduirait à des difficultés pour quantifier ou distinguer correctement le collagène de type I de celui de type III avec la coloration au rouge Sirius. Toutefois, bien que selon Nicoletti et al. (Nicoletti et al. 1995) de nombreuses études aient fortement suggéré que les fibres fines de collagène cardiaque représentent le collagène de type III et les fibres épaisses, celui de type I, d'autres méthodes pourraient être utilisées afin de quantifier différemment les phénotypes de collagène. Pour ce faire, il serait très important de tenir compte de la solubilité du collagène cardiaque. Plusieurs études ont utilisé la digestion du collagène par la pepsine, mais celle-ci ne peut solubiliser que 12% du collagène cardiaque. Une méthode plus adaptée est la digestion du collagène par bromure de cyanogène, qui extrait la presque totalité du collagène cardiaque (82-88%) (Mukherjee et al. 1993), suivie d'une électrophorèse sur gel de SDS-polyacrylamide (Yonezawa et al. 1996). Il serait également très pertinent d'effectuer une analyse de l'ARNm de ces types de collagène afin de confirmer les résultats obtenus.

Le myocarde est composé de différents types cellulaires. Les myocytes cardiaques sont de larges cellules qui occupent plus de 75% de l'espace structural du myocarde. L'hypertrophie de ces cellules parenchymateuses due à une surcharge de pression chronique est responsable de l'augmentation de l'épaisseur de la paroi du ventricule gauche observée lors de l'HVG. Les myocytes cardiaques représentent par ailleurs en nombre seulement le tiers des cellules du cœur. Les cellules restantes comprennent les cellules endothéliales, les cellules musculaires lisses vasculaires, les macrophages et les fibroblastes cardiaques. Les fibroblastes sont la principale source de collagène constituant la matrice extracellulaire cardiaque. Il a été démontré que les fibroblastes cardiaques en culture de rat expriment l'ARNm des collagènes de type I et III, de l'Ang II et de la MMP-1, l'enzyme clé de la dégradation du collagène interstitiel. De plus, l'Ang II stimule de façon dose-dépendante la synthèse du collagène dans ce modèle *in vitro* (Brilla et al. 1997). Une technique de culture cellulaire pourrait donc être à envisager afin d'éliminer les influences présentes dans un système *in vivo*. En effet, des facteurs hémodynamiques ainsi que l'interaction entre le SRAA avec d'autres systèmes (kinines-prostaglandines, adrénergique, etc.) peuvent influencer le métabolisme du collagène cardiaque (Brilla et al. 1994b).

Il est connu que les IECA, malgré le blocage de l'activité de l'ECA et l'inhibition de la production d'Ang II, n'empêchent pas complètement la production d'aldostérone (*aldosterone escape*) (Ferrari 2000). Cette substance favorise entre autres l'hypertrophie ventriculaire et elle peut provoquer une fibrose myocardique, vasculaire et périvasculaire. Un modèle *in vitro* permettrait donc de séparer les effets de l'Ang II de ceux de l'aldostérone. À cet effet, l'étude RALES

(Randomized Aldactone Evaluation Study) a montré que l'ajout d'un inhibiteur de l'aldostérone (spironolactone) à un traitement avec IECA résulte en une diminution significative de la morbidité et de la mortalité chez des patients atteints de décompensation cardiaque sévère (Kulbertus 1999). Ces résultats pourraient s'expliquer par le fait que l'aldostérone contribue non seulement au développement de l'insuffisance cardiaque en augmentant la réabsorption rénale de sodium, mais qu'il exerce également un effet cardiaque direct via la présence de récepteurs minéralocorticoïdes cardiaques. L'effet de l'aldostérone dans le tissu cardiaque implique possiblement la régulation de l'échange ionique, ce qui pourrait affecter la contractilité et l'excitabilité des myocytes (Ferrari 2000). Il a aussi été suggéré que l'aldostérone stimule la formation du collagène (Weber 2000) et qu'il peut augmenter les effets de l'Ang II (Lombes et al. 1992).

Sachant que le stress oxydatif est impliqué dans la pathophysiologie de la défaillance cardiaque, l'équipe de Siwik et al. (Siwik et al. 2001) a évalué son implication dans la régulation de la matrice extracellulaire dans des fibroblastes cardiaques en culture de rat. Leur étude révèle que l'augmentation du stress oxydatif active les MMPs et diminue la synthèse de collagène fibrillaire. Pour notre part, il serait particulièrement intéressant d'étudier l'effet du groupement fonctionnel sulphydryl du zofénopril sur l'expression des collagènes de type I et III dans ce modèle expérimental. Pour ce faire, des fibroblastes cardiaques en culture de rat pourraient être exposés à un stress oxydatif, tel l'Ang II, et incubés en présence de zofénopril ou de lisinopril. Le contenu en collagène pourrait ensuite être évalué par dosage

d'hydroxyproline et une analyse de l'ARNm des collagènes de type I et III pourrait être effectuée.

8. Conclusion

Le SRAA joue un rôle majeur dans la régulation de la fonction cardiovasculaire et de l'équilibre électrolytique. Dans les dernières années, plusieurs évidences ont montré l'avantage clinique du blocage du système rénine-angiotensine. Notre étude a démontré que l'inhibition de l'ECA et l'antagonisme du récepteur AT₁ de l'Ang II préviennent de façon comparable le développement de l'hypertrophie cardiaque et l'accumulation du collagène chez des rats SHR. Cependant, seul le zofénopril semblait normaliser le ratio de collagène de type I et III suggérant un mécanisme indépendant de la pression artérielle, de la formation d'Ang II et de l'accumulation de bradykinine. Des études plus approfondies sont requises afin de confirmer le rôle du groupement fonctionnel sulphydryl et de ses propriétés antioxydantes dans cet effet unique et bénéfique qui pourrait avoir des implications cliniques importantes.

RÉFÉRENCES

Akishita M, Iwai M, Wu L et al. Inhibitory Effect of Angiotensin II Type 2 Receptor on Coronary Arterial Remodeling After Aortic Banding in Mice. *Circulation* 2000; 102(14):1684-9.

Amabile G. [Left ventricular hypertrophy and cardiovascular risk in hypertension]. *Ann Cardiol Angeiol (Paris)* 1998; 47(2):86-90.

Arnal JF, Warin L, Michel JB. Determinants of aortic cyclic guanosine monophosphate in hypertension induced by chronic inhibition of nitric oxide synthase. *J Clin Invest* 1992; 90(2):647-52.

Aruoma OI, Akanmu D, Cecchini R et al. Evaluation of the ability of the angiotensin-converting enzyme inhibitor captopril to scavenge reactive oxygen species. *Chem Biol Interact* 1991; 77(3):303-14.

Asano K, Dutcher DL, Port JD et al. Selective downregulation of the angiotensin II AT1-receptor subtype in failing human ventricular myocardium. *Circulation* 1997; 95(5):1193-200.

Asmar R, Madonna O, Brisac AM et al. [Comparison between the effects of angiotensin-converting enzyme inhibitors and angiotensin II antagonists]. *Therapie* 1998; 53(3):253-70.

Asmar RG, Pannier B, Santoni JP et al. Reversion of cardiac hypertrophy and reduced arterial compliance after converting enzyme inhibition in essential hypertension. *Circulation* 1988; 78(4):941-50.

Bagchi D, Prasad R, Das DK. Direct scavenging of free radicals by captopril, an angiotensin converting enzyme inhibitor. *Biochem Biophys Res Commun* 1989; 158(1):52-7.

Bartosz M, Kedziora J, Bartosz G. Antioxidant and prooxidant properties of captopril and enalapril. *Free Radic Biol Med* 1997; 23(5):729-35.

Bauer JH, Reams GP. The angiotensin II type 1 receptor antagonists. A new class of antihypertensive drugs. *Arch Intern Med* 1995; 155(13):1361-8.

Benowitz NL. Antihypertensive agents. In Katzung BG, ed. *Basic & Clinical Pharmacology*, 6th edition. Norwalk: Appleton & Lange, 1995: 147-170.

Bernier S, Guillemette G. L'angiotensine IV: une nouvelle hormone du système rénine-angiotensine. *Médecine/Sciences* 1996; 12(5):609-13.

beta-Blocker Heart Attack Study Group. The beta-blocker heart attack trial. *Jama* 1981; 246(18):2073-4.

Bienkowski RS. Collagen degradation in human lung fibroblasts: extent of degradation, role of lysosomal proteases, and evaluation of an alternate hypothesis. *J Cell Physiol* 1984; 121(1):152-8.

Bishop JE, Greenbaum R, Gibson DG et al. Enhanced deposition of predominantly type I collagen in myocardial disease. *J Mol Cell Cardiol* 1990; 22(10):1157-65.

Bishop JE, Laurent GJ. Collagen turnover and its regulation in the normal and hypertrophying heart. *Eur Heart J* 1995; 16 Suppl C(38-44).

Black MJ, Bertram JF, Johnston CI. Effect of angiotensin-converting enzyme inhibition on myocardial vascularization in the adolescent and adult spontaneously hypertensive rat. *J Hypertens* 2001; 19(4):785-94.

Bolli R, Jeroudi MO, Patel BS et al. Marked reduction of free radical generation and contractile dysfunction by antioxidant therapy begun at the time of reperfusion. Evidence that myocardial "stunning" is a manifestation of reperfusion injury. *Circ Res* 1989; 65(3):607-22.

Booz GW, Baker KM. Role of type 1 and type 2 angiotensin receptors in angiotensin II-induced cardiomyocyte hypertrophy. *Hypertension* 1996; 28(4):635-40.

Borel J, Monboisse J, Bellon G. Inflammation, collagène et radicaux libres oxygénés. *Médecine/Sciences* 1988; 4(5):304-10.

Borghi C, Ambrosioni E, Magnani B. Effects of the early administration of zofenopril on onset and progression of congestive heart failure in patients with anterior wall acute myocardial infarction. The SMILE Study Investigators. Survival of Myocardial Infarction Long-term Evaluation. *Am J Cardiol* 1996; 78(3):317-22.

Boutouyrie P. Inhibiteurs des récepteurs AT1 à l'angiotensine II. *Sang Thrombose Vaisseaux* 1999; 11(6):479-84.

Brilla CG. Regression of myocardial fibrosis in hypertensive heart disease: diverse effects of various antihypertensive drugs. *Cardiovasc Res* 2000a; 46(2):324-31.

Brilla CG. Renin-angiotensin-aldosterone system and myocardial fibrosis. *Cardiovasc Res* 2000b; 47(1):1-3.

Brilla CG, Funck RC, Rupp H. Lisinopril-mediated regression of myocardial fibrosis in patients with hypertensive heart disease. *Circulation* 2000; 102(12):1388-93.

Brilla CG, Janicki JS, Weber KT. Cardioreparative effects of lisinopril in rats with genetic hypertension and left ventricular hypertrophy. *Circulation* 1991a; 83(5):1771-9.

Brilla CG, Janicki JS, Weber KT. Impaired diastolic function and coronary reserve in genetic hypertension. Role of interstitial fibrosis and medial thickening of intramyocardial coronary arteries. *Circ Res* 1991b; 69(1):107-15.

Brilla CG, Maisch B. Regulation of the structural remodelling of the myocardium: from hypertrophy to heart failure. *Eur Heart J* 1994a; 15 Suppl D(45-52).

Brilla CG, Matsubara L, Weber KT. Advanced hypertensive heart disease in spontaneously hypertensive rats. Lisinopril-mediated regression of myocardial fibrosis. *Hypertension* 1996; 28(2):269-75.

Brilla CG, Pick R, Tan LB et al. Remodeling of the rat right and left ventricles in experimental hypertension. *Circ Res* 1990; 67(6):1355-64.

Brilla CG, Reams GP, Maisch B et al. Renin-angiotensin system and myocardial fibrosis in hypertension: regulation of the myocardial collagen matrix. *Eur Heart J* 1993; 14 Suppl J(57-61).

Brilla CG, Scheer C, Rupp H. Renin-angiotensin system and myocardial collagen matrix: modulation of cardiac fibroblast function by angiotensin II type 1 receptor antagonism. *J Hypertens Suppl* 1997; 15(6):S13-9.

Brilla CG, Zhou G, Matsubara L et al. Collagen metabolism in cultured adult rat cardiac fibroblasts: response to angiotensin II and aldosterone. *J Mol Cell Cardiol* 1994b; 26(7):809-20.

Brooks WW, Bing OH, Robinson KG et al. Effect of angiotensin-converting enzyme inhibition on myocardial fibrosis and function in hypertrophied and failing myocardium from the spontaneously hypertensive rat. *Circulation* 1997; 96(11):4002-10.

Buikema H, Monnick SH, Tio RA et al. Comparison of zofenopril and lisinopril to study the role of the sulfhydryl-group in improvement of endothelial dysfunction with ACE-inhibitors in experimental heart failure. *Br J Pharmacol* 2000; 130(8):1999-2007.

Cambien F, Soubrier F. Le polymorphisme d'insertion/délétion du gène de l'enzyme de conversion de l'angiotensine I semble être un facteur de risque d'infarctus du myocarde. *Médecine/Sciences* 1992; 8(9):989-93.

Cartier P et al. Guide thérapeutique de la Société québécoise d'hypertension artérielle. Imprimerie du Canada Inc., 1999.

Casale PN, Devereux RB, Milner M et al. Value of echocardiographic measurement of left ventricular mass in predicting cardiovascular morbid events in hypertensive men. *Ann Intern Med* 1986; 105(2):173-8.

Chapman D, Weber KT, Eghbali M. Regulation of fibrillar collagen types I and III and basement membrane type IV collagen gene expression in pressure overloaded rat myocardium. *Circ Res* 1990; 67(4):787-94.

Chassagne C, Servant M, Meloche S. Récepteurs de l'angiotensine II: rôles dans le contrôle de la croissance cellulaire et mécanismes de transmission du signal. *Médecine/Sciences* 1996; 12(12):1351-60.

Chevalier B, Heudes D, Heymes C et al. Trandolapril decreases prevalence of ventricular ectopic activity in middle-aged SHR. *Circulation* 1995; 92(7):1947-53.

Childs TJ, Adams MA, Mak AS. Regression of cardiac hypertrophy in spontaneously hypertensive rats by enalapril and the expression of contractile proteins. *Hypertension* 1990; 16(6):662-8.

Chopra M, Beswick H, Clapperton M et al. Antioxidant effects of angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitors: free radical and oxidant scavenging are sulfhydryl dependent, but lipid peroxidation is inhibited by both sulfhydryl- and nonsulfhydryl-containing ACE inhibitors. *J Cardiovasc Pharmacol* 1992; 19(3):330-40.

Chopra M, Scott N, McMurray J et al. Captopril: a free radical scavenger. *Br J Clin Pharmacol* 1989; 27(3):396-9.

Chrysant SG. Vascular remodeling: the role of angiotensin-converting enzyme inhibitors. *Am Heart J* 1998; 135(2 Pt 2):S21-30.

Cipriano C, Gosse P, Bemurat L et al. Prognostic value of left ventricular mass and its evolution during treatment in the Bordeaux cohort of hypertensive patients. *Am J Hypertens* 2001; 14(6 Pt 1):524-9.

Conlon J. The kallikrein-kinin system: evolution of form and function. *Ann N Y Acad Sci* 1998; 15(839):1-8.

Cote G, Tardif JC, Lesperance J et al. Effects of probucol on vascular remodeling after coronary angioplasty. Multivitamins and Protocol Study Group. *Circulation* 1999; 99(1):30-5.

Crawford DC, Chobanian AV, Brecher P. Angiotensin II induces fibronectin expression associated with cardiac fibrosis in the rat. *Circ Res* 1994; 74(4):727-39.

Curnow KM, Pascoe L, White PC. Genetic analysis of the human type-1 angiotensin II receptor. *Mol Endocrinol* 1992; 6(7):1113-8.

Cushman DW, Wang FL, Fung WC et al. Comparisons in vitro, ex vivo, and in vivo of the actions of seven structurally diverse inhibitors of angiotensin converting enzyme (ACE). *Br J Clin Pharmacol* 1989; 28 (Suppl 2):115S-30S.

Dahl LK, Heine M, Tassinari L. Role of genetic factors in susceptibility to experimental hypertension due to chronic excess salt ingestion. *Nature* 1962; 194: 480-3.

Damron DS, Bond M. Modulation of Ca²⁺ cycling in cardiac myocytes by arachidonic acid. *Circ Res* 1993; 72(2):376-86.

Davidson JM, Zoia O, Liu JM. Modulation of transforming growth factor-beta 1 stimulated elastin and collagen production and proliferation in porcine vascular smooth muscle cells and skin fibroblasts by basic fibroblast growth factor, transforming growth factor-alpha, and insulin-like growth factor-I. *J Cell Physiol* 1993; 155(1):149-56.

Diez J, Laviades C, Mayor G et al. Increased serum concentrations of procollagen peptides in essential hypertension. Relation to cardiac alterations. *Circulation* 1995; 91(5):1450-6.

Doering CW, Jalil JE, Janicki JS et al. Collagen network remodelling and diastolic stiffness of the rat left ventricle with pressure overload hypertrophy. *Cardiovasc Res* 1988; 22(10):686-95.

Doggrell SA, Brown L. Rat models of hypertension, cardiac hypertrophy and failure. *Cardiovasc Res* 1998; 39(1):89-105.

Dostal D. The cardiac renin-angiotensin system: novel signaling mechanisms related to cardiac growth and function. *Regul Pept* 2000; 28(91(1-3)):1-11.

Douglas BS and Wilson SC. Role of Oxidative Stress, Cytokines, and Apoptosis in Myocardial Dysfunction. In Tardif JC and Bourassa MG, eds. Antioxidants and Cardiovascular Disease. Norwell: Klumer Academic Publishers, 2000: 195-210.

Egan TM, Minta JO, Scrimgeour KG et al. Captopril--a potential free radical scavenger: inhibition of PMN NADPH oxidase. Clin Invest Med 1988; 11(5):351-6.

Eghbali M, Blumenfeld OO, Seifter S et al. Localization of types I, III and IV collagen mRNAs in rat heart cells by in situ hybridization. J Mol Cell Cardiol 1989; 21(1):103-13.

Eichstadt HW, Felix R, Langer M et al. Use of nuclear magnetic resonance imaging to show regression of hypertrophy with ramipril treatment. Am J Cardiol 1987; 59(10):98D-103D.

Ertl G, Kloner RA, Alexander RW et al. Limitation of experimental infarct size by an angiotensin-converting enzyme inhibitor. Circulation 1982; 65(1):40-8.

Feldman RD, Campbell N, Larochelle P et al. 1999 Canadian recommendations for the management of hypertension. Task Force for the Development of the 1999 Canadian Recommendations for the Management of Hypertension. CMAJ 1999; 161(Suppl 12):S1-17.

Ferrari R. The harmful effects of aldosterone in heart failure. Eur Heart J 2000; 2(Suppl A):A6-A12.

Folkow B. Early structural changes in hypertension: pathophysiology and clinical consequences. *J Cardiovasc Pharmacol* 1993; 22(Suppl 1):S1-6.

Force T, Pombo CM, Avruch JA et al. Stress-activated protein kinases in cardiovascular disease. *Circ Res* 1996; 78(6):947-53.

Fornes P, Richer C, Vacher E et al. Losartan's protective effects in stroke-prone spontaneously hypertensive rats persist durably after treatment withdrawal. *J Cardiovasc Pharmacol* 1993; 22(2):305-13.

Fortuno MA, Ravassa S, Etayo JC et al. Overexpression of Bax protein and enhanced apoptosis in the left ventricle of spontaneously hypertensive rats: effects of AT1 blockade with losartan. *Hypertension* 1998; 32(2):280-6.

Freeman BA, Crapo JD. Biology of disease: free radicals and tissue injury. *Lab Invest* 1982; 47(5):412-26.

Garg R, Yusuf S. Overview of randomized trials of angiotensin-converting enzyme inhibitors on mortality and morbidity in patients with heart failure. Collaborative Group on ACE Inhibitor Trials. *Jama* 1995; 273(18):1450-6.

Giasson E, Meloche S. Role of p70 S6 protein kinase in angiotensin II-induced protein synthesis in vascular smooth muscle cells. *J Biol Chem* 1995; 270(10):5225-31.

GISSI-3: Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'infarto Miocardico. Effects of lisinopril and transdermal glyceryl trinitrate singly and together on 6-week mortality and ventricular function after acute myocardial infarction. *Lancet* 1994; 343(8906):1115-22.

Givertz MM, Colucci WS. New targets for heart-failure therapy: endothelin, inflammatory cytokines, and oxidative stress. *Lancet* 1998; 352(Suppl 1):SI34-8.

Gohlke P, Linz W, Scholkens BA et al. Cardiac and vascular effects of long-term losartan treatment in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 1996; 28(3):397-402.

Goldblatt M, Lynch J, Hanzal RF et al. Studies on experimental hypertension : I. The production of persistent elevation of systolic blood pressure by means of renal ischemia. *J Exp Med* 1934; 59(347-79).

Goldhaber JI, Ji S, Lamp ST et al. Effects of exogenous free radicals on electromechanical function and metabolism in isolated rabbit and guinea pig ventricle. Implications for ischemia and reperfusion injury. *J Clin Invest* 1989; 83(6):1800-9.

Gong L, Zhang W, Zhu Y et al. Shanghai trial of nifedipine in the elderly (STONE). *J Hypertens* 1996; 14(10):1237-45.

Gosse P, Herpin D. [Can regression of left ventricular hypertrophy be proposed as a substitute criterion in trials of morbidity/mortality in hypertension?]. *Arch Mal Coeur Vaiss* 2000; 93(11 Suppl):1435-40.

Grandi AM, Venco A, Barzizza F et al. Effect of enalapril on left ventricular mass and performance in essential hypertension. *Am J Cardiol* 1989; 63(15):1093-7.

Griendling K, Minieri C, Ollerenshaw J et al. Angiotensin II stimulates NADH and NADPH oxidase activity in cultured vascular smooth muscle cells. *Circ Res* 1994; 74(6):1141-8.

Griendling KK, Sorescu D, Lassegue B et al. Modulation of Protein Kinase Activity and Gene Expression by Reactive Oxygen Species and Their Role in Vascular Physiology and Pathophysiology. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000a; 20(10):2175-83.

Griendling KK, Sorescu D, Ushio-Fukai M. NAD(P)H Oxidase : Role in Cardiovascular Biology and Disease. *Circ Res* 2000b; 86(5):494-501.

Griendling KK, Ushio-Fukai M. Reactive oxygen species as mediators of angiotensin II signaling. *Regul Pept* 2000c; 91(1-3):21-7.

Hamet P, deBlois D. Endothelial and myocyte apoptosis--role of angiotensin II. *Can J Cardiol* 2001; 17(Suppl A):26A-8A.

Hansson L, Lindholm LH, Ekbom T et al. Randomised trial of old and new antihypertensive drugs in elderly patients: cardiovascular mortality and morbidity the Swedish Trial in Old Patients with Hypertension-2 study. *Lancet* 1999a; 354(9192):1751-6.

Hansson L, Lindholm LH, Niskanen L et al. Effect of angiotensin-converting-enzyme inhibition compared with conventional therapy on cardiovascular morbidity and mortality in hypertension: the Captopril Prevention Project (CAPPP) randomised trial. *Lancet* 1999b; 353(9153):611-6.

Hansson L, Zanchetti A, Carruthers SG et al. Effects of intensive blood-pressure lowering and low-dose aspirin in patients with hypertension: principal results of the Hypertension Optimal Treatment (HOT) randomised trial. HOT Study Group. *Lancet* 1998; 351(9118):1755-62.

Hartman JC, Hullinger TG, Wall TM et al. Reduction of myocardial infarct size by ramiprilat is independent of angiotensin II synthesis inhibition. *Eur J Pharmacol* 1993; 234(2-3):229-36.

Hayashida W, Horiuchi M, Dzau VJ. Intracellular third loop domain of angiotensin II type-2 receptor. Role in mediating signal transduction and cellular function. *J Biol Chem* 1996; 271(36):21985-92.

Heymes C, Levy BI. [Functions of AT₂ receptors of angiotensin II]. *Therapie* 1998; 53(3):213-6.

Hill MF, Singal PK. Antioxidant and oxidative stress changes during heart failure subsequent to myocardial infarction in rats. *Am J Pathol* 1996; 148(1):291-300.

Hollenberg NK, Fisher ND, Price DA. Pathways for angiotensin II generation in intact human tissue: evidence from comparative pharmacological interruption of the renin system. *Hypertension* 1998; 32(3):387-92.

Huang JM, Xian H, Bacaner M. Long-chain fatty acids activate calcium channels in ventricular myocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992; 89(14):6452-6.

Huysman JA, Vliegen HW, Van der Laarse A et al. Changes in nonmyocyte tissue composition associated with pressure overload of hypertrophic human hearts. *Pathol Res Pract* 1989; 184(6):577-81.

Intengan HD, Schiffrin EL. Vascular Remodeling in Hypertension: Roles of Apoptosis, Inflammation, and Fibrosis. *Hypertension* 2001; 38(3):581-7.

ISIS-4 (Fourth International Study of Infarct Survival) Collaborative Group. ISIS-4: a randomised factorial trial assessing early oral captopril, oral mononitrate, and intravenous magnesium sulphate in 58,050 patients with suspected acute myocardial infarction. *Lancet* 1995; 345(8951):669-85.

Izumo S, Lompre AM, Matsuoka R et al. Myosin heavy chain messenger RNA and protein isoform transitions during cardiac hypertrophy. Interaction between hemodynamic and thyroid hormone-induced signals. *J Clin Invest* 1987; 79(3):970-7.

Izumo S, Nadal-Ginard B, Mahdavi V. Protooncogene induction and reprogramming of cardiac gene expression produced by pressure overload. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1988; 85(2):339-43.

Jalil JE, Doering CW, Janicki JS et al. Fibrillar collagen and myocardial stiffness in the intact hypertrophied rat left ventricle. *Circ Res* 1989; 64(6):1041-50.

Jalil JE, Janicki JS, Pick R et al. Coronary vascular remodeling and myocardial fibrosis in the rat with renovascular hypertension. Response to captopril. *Am J Hypertens* 1991; 4(1 Pt 1):51-5.

Janiak P, Pillon A, Prost JF et al. Role of angiotensin subtype 2 receptor in neointima formation after vascular injury. *Hypertension* 1992; 20(6):737-45.

Jimi S, Saku K, Uesugi N et al. Oxidized low density lipoprotein stimulates collagen production in cultured arterial smooth muscle cells. *Atherosclerosis* 1995; 116(1):15-26.

Joffres MR, Ghadirian P, Fodor JG et al. Awareness, treatment, and control of hypertension in Canada. *Am J Hypertens* 1997; 10(10 Pt 1):1097-102.

Johnston CI. Angiotensin receptor antagonists: focus on losartan. *Lancet* 1995; 346(8987):1403-7.

Johnston CI. Tissue angiotensin converting enzyme in cardiac and vascular hypertrophy, repair, and remodeling. *Hypertension* 1994; 23(2):258-68.

Junqueira LC, Bignolas G, Brentani RR. Picrosirius staining plus polarization microscopy, a specific method for collagen detection in tissue sections. *Histochem J* 1979; 11(4):447-55.

Katz SD. Mechanisms and implications of endothelial dysfunction in congestive heart failure. *Curr Opin Cardiol* 1997; 12(3):259-64.

Keene DR, Sakai LY, Bachinger HP et al. Type III collagen can be present on banded collagen fibrils regardless of fibril diameter. *J Cell Biol* 1987; 105(5):2393-402.

Keiser JA et Panek RL. Pharmacology of AT₂ receptors. In Saavedra JM, Timmermans PBMWM, eds. *Angiotensin receptors*. New-York: Plenum Press, 1994: 135-150.

Khan MG. Hypertension. In *Cardiac Drug Therapy*, 5th edition. Toronto: W.B. Saunders Company Ltd, 2000a: 107-150.

Khan MG. Angiotensin-converting Enzyme Inhibitors and Angiotensin II Receptor Blockers. In *Cardiac Drug Therapy*, 5th edition. Toronto: W.B. Saunders Company Ltd, 2000b: 43-66.

Khan MG. Calcium Antagonists (Calcium Channel Blockers). In *Cardiac Drug Therapy*, 5th edition. Toronto: W.B.Saunders Company Ltd, 2000c: 67-86.

Kim D, Clapham DE. Potassium channels in cardiac cells activated by arachidonic acid and phospholipids. *Science* 1989; 244(4909):1174-6.

Kim S, Iwao H. Molecular and cellular mechanisms of angiotensin II-mediated cardiovascular and renal diseases. *Pharmacol Rev* 2000; 52(1):11-34.

Kim S, Ohta K, Hamaguchi A et al. Angiotensin II induces cardiac phenotypic modulation and remodeling in vivo in rats. *Hypertension* 1995; 25(6):1252-9.

Kober L, Torp-Pedersen C, Carlsen JE et al. A clinical trial of the angiotensin-converting-enzyme inhibitor trandolapril in patients with left ventricular dysfunction after myocardial infarction. Trandolapril Cardiac Evaluation (TRACE) Study Group. *N Engl J Med* 1995; 333(25):1670-6.

Kojima M, Shiojima I, Yamazaki T et al. Angiotensin II receptor antagonist TCV-116 induces regression of hypertensive left ventricular hypertrophy in vivo and inhibits the intracellular signaling pathway of stretch-mediated cardiomyocyte hypertrophy in vitro. *Circulation* 1994; 89(5):2204-11.

Komajda M, Wimart MC. Angiotensin converting enzyme inhibition: from viper to patient. *Heart* 2000; 84(Suppl 1):i11-4:discussion i50.

Kost CK, Jr., Rominski BR, Herzer WA et al. Persistent improvement of cardiovascular risk factors in spontaneously hypertensive rats following early short-term captopril treatment. *Clin Exp Hypertens* 2000; 22(2):127-43.

Krieger EM, Salgado HC, Assan CJ, Greene LL, Ferreira SH: Potential screening test for detection of overactivity of renin-angiotensin system. *Lancet* 1971; 1(7693):269-71.

Kukreja RC, Kontos HA, Hess ML. Captopril and enalaprilat do not scavenge the superoxide anion. *Am J Cardiol* 1990; 65(19):24I-7I.

Kulbertus H. [Study of the month. The RALES study (randomized aldactone evaluation study).] *Rev Med Liege* 1999; 54(9):770-2.

Kuulasmaa K, Tunstall-Pedoe H, Dobson A et al. Estimation of contribution of changes in classic risk factors to trends in coronary-event rates across the WHO MONICA Project populations. *Lancet* 2000; 355(9205):675-87.

Lassegue B, Alexander RW, Clark M et al. Phosphatidylcholine is a major source of phosphatidic acid and diacylglycerol in angiotensin II-stimulated vascular smooth-muscle cells. *Biochem J* 1993; 292(Pt 2):509-17.

Laurent S, Girerd X, Benetos A et al. Physiopathologie du remodelage artériel dans l'hypertension artérielle. *Médecine/Sciences* 1997; 13(6-7):809-19.

Laviades C, Varo N, Fernandez J et al. Abnormalities of the Extracellular Degradation of Collagen Type I in Essential Hypertension. *Circulation* 1998; 98(6):535-40.

Leonetti G, Cuspidi C. Choosing the right ACE inhibitor. A guide to selection. *Drugs* 1995; 49(4):516-35.

Levy D, Garrison RJ, Savage DD et al. Prognostic implications of echocardiographically determined left ventricular mass in the Framingham Heart Study. *N Engl J Med* 1990; 322(22):1561-6.

Liao Y, Husain A. The chymase-angiotensin system in humans: biochemistry, molecular biology and potential role in cardiovascular diseases. *Can J Cardiol* 1995; 11(Suppl F):13F-9F.

Linz W, Scholkens BA, Ganten D. Converting enzyme inhibition specifically prevents the development and induces regression of cardiac hypertrophy in rats. *Clin Exp Hypertens A* 1989; 11(7):1325-50.

Linz W, Wiemer G, Schaper J et al. Angiotensin converting enzyme inhibitors, left ventricular hypertrophy and fibrosis. *Mol Cell Biochem* 1995; 147(1-2):89-97.

Liu X, Engelman RM, Rousou JA et al. Attenuation of myocardial reperfusion injury by sulfhydryl-containing angiotensin converting enzyme inhibitors. *Cardiovasc Drugs Ther* 1992; 6(4):437-43.

Lokuta AJ, Cooper C, Gaa ST et al. Angiotensin II stimulates the release of phospholipid-derived second messengers through multiple receptor subtypes in heart cells. *J Biol Chem* 1994; 269(7):4832-8.

Lombes M, Oblin M, Gasc J et al. Immunohistochemical and biochemical evidence for a cardiovascular mineralocorticoid receptor. *Circ Res* 1992; 71(3):503-10.

Lonn E, Factor SM, Van Hoeven KH et al. Effects of oxygen free radicals and scavengers on the cardiac extracellular collagen matrix during ischemia-reperfusion. *Can J Cardiol* 1994; 10(2):203-13.

Lopez JJ, Lorell BH, Ingelfinger JR et al. Distribution and function of cardiac angiotensin AT1- and AT2-receptor subtypes in hypertrophied rat hearts. *Am J Physiol* 1994; 267(2 Pt 2):H844-52.

Lorell BH. Transition from hypertrophy to failure. *Circulation* 1997; 96(11):3824-7.

Mak IT, Freedman AM, Dickens BF et al. Protective effects of sulfhydryl-containing angiotensin converting enzyme inhibitors against free radical injury in endothelial cells. *Biochem Pharmacol* 1990; 40(9):2169-75.

Marieb EN. Système cardiovasculaire : les vaisseaux sanguins. Dans *Anatomie et Physiologie humaines*, 2e édition. St-Laurent: ERPI Inc., 1999: 692-745.

Maridonneau I, Braquet P, Garay RP. Na⁺ and K⁺ transport damage induced by oxygen free radicals in human red cell membranes. *J Biol Chem* 1983; 258(5):3107-13.

Marrero MB, Schieffer B, Paxton WG et al. Direct stimulation of Jak/STAT pathway by the angiotensin II AT1 receptor. *Nature* 1995; 375(6528):247-50.

Martorana PA, Kettenbach B, Breipohl G et al. Reduction of infarct size by local angiotensin-converting enzyme inhibition is abolished by a bradykinin antagonist. *Eur J Pharmacol* 1990; 182(2):395-6.

Mays PK, McAnulty RJ, Campa JS et al. Age-related changes in collagen synthesis and degradation in rat tissues. Importance of degradation of newly synthesized collagen in regulating collagen production. *Biochem J* 1991; 276(Pt 2):307-13.

Mazzolai L, Nussberger J, Aubert J-F et al. Blood Pressure-Independent Cardiac Hypertrophy Induced by Locally Activated Renin-Angiotensin System. *Hypertension* 1998; 31(6):1324-30.

McAlister FA, Levine M, Zarnke KB et al. The 2000 Canadian recommendations for the management of hypertension: Part one--therapy. *Can J Cardiol* 2001; 17(5):543-59.

McAnulty RJ, Laurent GJ. Collagen synthesis and degradation in vivo. Evidence for rapid rates of collagen turnover with extensive degradation of newly synthesized collagen in tissues of the adult rat. *Coll Relat Res* 1987; 7(2):93-104.

Medugorac I, Jacob R. Characterisation of left ventricular collagen in the rat. *Cardiovasc Res* 1983; 17(1):15-21.

Menard J, Campbell DJ, Azizi M et al. Synergistic effects of ACE inhibition and Ang II antagonism on blood pressure, cardiac weight, and renin in spontaneously hypertensive rats. *Circulation* 1997; 96(9):3072-8.

Michel JB. Relationship between decrease in afterload and beneficial effects of ACE inhibitors in experimental cardiac hypertrophy and congestive heart failure. *Eur Heart J* 1990; 11(Suppl D):17-26.

Michel JB, Arnal JF. Monoxyde d'azote et hypertension artérielle. *Médecine/Sciences* 1993; 9(10):1061-67.

Michel JB, Salzmann JL, Cerol ML et al. Myocardial effect of converting enzyme inhibition in hypertensive and normotensive rats. *Am J Med* 1988; 84(3A):12-21.

Mira ML, Silva MM, Queiroz MJ et al. Angiotensin converting enzyme inhibitors as oxygen free radical scavengers. *Free Radic Res Commun* 1993; 19(3):173-81.

Miserey S, Clauser E. [Angiotensin II receptors: classification, structure, and signal transduction]. *Therapie* 1998; 53(3):205-11.

Mori T, Nishimura H, Ueyama M et al. Comparable effects of angiotensin II and converting enzyme blockade on hemodynamics and cardiac hypertrophy in spontaneously hypertensive rats. *Jpn Circ J* 1995; 59(9):624-30.

Muiesan ML, Agabiti-Rosei E, Romanelli G et al. Beneficial effects of one year's treatment with captopril on left ventricular anatomy and function in hypertensive patients with left ventricular hypertrophy. *Am J Med* 1988; 84(3A):129-32.

Muiesan ML, Salvetti M, Rizzoni D et al. Persistence of left ventricular hypertrophy is a stronger indicator of cardiovascular events than baseline left ventricular mass or systolic performance: 10 years of follow-up. *J Hypertens Suppl* 1996; 14(5):S43-9.

Mukherjee D, Sen S. Alteration of cardiac collagen phenotypes in hypertensive hypertrophy: role of blood pressure. *J Mol Cell Cardiol* 1993; 25(2):185-96.

Mukherjee D, Sen S. Collagen phenotypes during development and regression of myocardial hypertrophy in spontaneously hypertensive rats. *Circ Res* 1990; 67(6):1474-80.

Mullins JJ, Peters J, Ganten D. Fulminant hypertension in transgenic rats harbouring the mouse Ren-2 gene. *Nature* 1990; 344(6266):541-4.

Murphy TJ, Alexander RW, Griendling KK et al. Isolation of a cDNA encoding the vascular type-1 angiotensin II receptor. *Nature* 1991; 351(6323):233-6.

Napoli C, Cicala C, D'Armiento FP et al. Beneficial effects of ACE-inhibition with zofenopril on plaque formation and low-density lipoprotein oxidation in watanabe heritable hyperlipidemic rabbits. *Gen Pharmacol* 1999; 33(6):467-77.

Nicoletti A. La fibrose myocardique chez le rat hypertendu : rôle du système rénine-angiotensine-aldostérone et de l'inflammation. Paris: Université de Paris, 1995 (Thèse).

Nicoletti A, Heudes D, Hinglais N et al. Left ventricular fibrosis in renovascular hypertensive rats. Effect of losartan and spironolactone. *Hypertension* 1995; 26(1):101-11.

Nishimura H, Kubota J, Okabe M et al. Effects of lisinopril upon cardiac hypertrophy, central and peripheral hemodynamics and neurohumoral factors in spontaneously hypertensive rats. *J Hypertens* 1992; 10(5):431-6.

Norber N. Hypertension [2001] Disponible : URL :
<http://www.medecinetv.com/medecine2/infomed/hypertension/index.htm>.

Norton GR, Tsotetsi J, Trifunovic B et al. Myocardial stiffness is attributed to alterations in cross-linked collagen rather than total collagen or phenotypes in spontaneously hypertensive rats. *Circulation* 1997; 96(6):1991-8.

Oddie CJ, Dilley RJ, Bobik A. Long-term angiotensin II antagonism in spontaneously hypertensive rats: effects on blood pressure and cardiovascular amplifiers. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1992; 19(5):392-5.

Ohkubo H, Kawakami H, Kakehi Y et al. Generation of transgenic mice with elevated blood pressure by introduction of the rat renin and angiotensinogen genes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1990; 87(13):5153-7.

Ohkubo N, Matsubara H, Nozawa Y et al. Angiotensin type 2 receptors are reexpressed by cardiac fibroblasts from failing myopathic hamster hearts and inhibit cell growth and fibrillar collagen metabolism. *Circulation* 1997; 96(11):3954-62.

Ohta K, Kim S, Iwao H. Role of angiotensin-converting enzyme, adrenergic receptors, and blood pressure in cardiac gene expression of spontaneously hypertensive rats during development. *Hypertension* 1996; 28(4):627-34.

Okamoto K, Aoki K. Development of a strain of spontaneously hypertensive rats. *Jpn Circ J* 1963; 27(282-93).

Opie LH. ACE Inhibitors for Hypertension. In *Angiotensin Converting Enzyme Inhibitors*, 2nd edition. New-York: Wiley-Liss, 1994: 23-70.

Opie LH, Sack MN. Enhanced Angiotensin II Activity in Heart Failure : Reevaluation of the Counterregulatory Hypothesis of Receptor Subtypes. *Circ Res* 2001; 88(7):654-8.

Oudot A, Vergely C, Rochette L. [Role of AT1 receptors in functional adaptation to ischemia-reperfusion in solated rat hearts in relationship to oxidative stress.]. Arch Mal Coeur Vaiss 2001; 94(8):799-804.

Pahor M, Bernabei R, Sgadari A et al. Enalapril prevents cardiac fibrosis and arrhythmias in hypertensive rats. Hypertension 1991; 18(2):148-57.

Pardo Mindan FJ, Panizo A. Alterations in the extracellular matrix of the myocardium in essential hypertension. Eur Heart J 1993; 14(Suppl J):12-4.

Pelouch V, Dixon IM, Golfman L et al. Role of extracellular matrix proteins in heart function. Mol Cell Biochem 1993; 129(2):101-20.

Pfeffer JM, Pfeffer MA, Braunwald E. Influence of chronic captopril therapy on the infarcted left ventricle of the rat. Circ Res 1985; 57(1):84-95.

Pfeffer JM, Pfeffer MA, Mirsky I et al. Regression of left ventricular hypertrophy and prevention of left ventricular dysfunction by captopril in the spontaneously hypertensive rat. Proc Natl Acad Sci U S A 1982; 79(10):3310-4.

Pfeffer MA, Braunwald E, Moye LA et al. Effect of captopril on mortality and morbidity in patients with left ventricular dysfunction after myocardial infarction. Results of the survival and ventricular enlargement trial. The SAVE Investigators. N Engl J Med 1992; 327(10):669-77.

Pi XJ, Chen X. Captopril and ramiprilat protect against free radical injury in isolated working rat hearts. *J Mol Cell Cardiol* 1989; 21(12):1261-71.

Pick R, Janicki JS, Weber KT. Myocardial fibrosis in nonhuman primate with pressure overload hypertrophy. *Am J Pathol* 1989; 135(5):771-81.

Pitt B, Konstam MA. Overview of angiotensin II-receptor antagonists. *Am J Cardiol* 1998; 82(10A):47S-9S.

Pitt B, Segal R, Martinez FA et al. Randomised trial of losartan versus captopril in patients over 65 with heart failure (Evaluation of Losartan in the Elderly Study, ELITE). *Lancet* 1997; 349(9054):747-52.

Prasad K, Kalra J, Chan WP et al. Effect of oxygen free radicals on cardiovascular function at organ and cellular levels. *Am Heart J* 1989; 117(6):1196-202.

Rajagopalan S, Kurz S, Munzel T et al. Angiotensin II-mediated hypertension in the rat increases vascular superoxide production via membrane NADH/NADPH oxidase activation. Contribution to alterations of vasomotor tone. *J Clin Invest* 1996; 97(8):1916-23.

Rao GN, Lassegue B, Alexander RW et al. Angiotensin II stimulates phosphorylation of high-molecular-mass cytosolic phospholipase A2 in vascular smooth-muscle cells. *Biochem J* 1994; 299(Pt 1):197-201.

Rayburn WF. Sixth report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Pressure. A summary. *J Reprod Med* 1998; 43(5):444-50.

Reid IA. Actions of angiotensin II on the brain: mechanisms and physiologic role. *Am J Physiol* 1984; 246(5 Pt 2):F533-43.

Reid IA. Vasoactive Peptides. In Katzung BG, ed. *Basic & Clinical Pharmacology*, 6th edition. Norwalk: Appleton & Lange, 1995: 276-289.

Ribeiro MO, Antunes E, de Nucci G et al. Chronic inhibition of nitric oxide synthesis. A new model of arterial hypertension. *Hypertension* 1992; 20(3):298-303.

Robert V, Besse S, Van Thiem N et al. [Restructuring of the collagen network in hypertension: role of the angiotensin-aldosterone system]. *Arch Mal Coeur Vaiss* 1993; 86(8):1113-7.

Rodgers RL, Breault PH, Sessa WC, Jr. et al. Depressor effect of diabetes in spontaneously hypertensive rat: role of vascular reactivity and prolyl hydroxylase and lysyl oxidase activities. *Life Sci* 1985; 37(24):2237-47.

Rossi P, Karsenty G, Roberts AB et al. A nuclear factor 1 binding site mediates the transcriptional activation of a type I collagen promoter by transforming growth factor-beta. *Cell* 1988; 52(3):405-14.

Rouis M, Dejager S, Chapma J. La matrice extracellulaire et les métalloprotéases : caractéristiques et rôle dans la rupture de la plaque d'athérome. *Sang Thrombose Vaisseaux* 1996; 8(10):621-8.

Ruskoaho HJ, Savolainen ER. Effects of long-term verapamil treatment on blood pressure, cardiac hypertrophy and collagen metabolism in spontaneously hypertensive rats. *Cardiovasc Res* 1985; 19(6):355-62.

Ruzicka M, Leenen FH. Relevance of blockade of cardiac and circulatory angiotensin-converting enzyme for the prevention of volume overload-induced cardiac hypertrophy. *Circulation* 1995; 91(1):16-9.

Sacco G, Bigioni M, Evangelista S et al. Cardioprotective effects of zofenopril, a new angiotensin-converting enzyme inhibitor, on doxorubicin-induced cardiotoxicity in the rat. *Eur J Pharmacol* 2001; 414(1):71-8.

Sadoshima J, Izumo S. The cellular and molecular response of cardiac myocytes to mechanical stress. *Annu Rev Physiol* 1997; 59(551-71).

Sadoshima J, Izumo S. Rapamycin selectively inhibits angiotensin II-induced increase in protein synthesis in cardiac myocytes in vitro. Potential role of 70-kD S6 kinase in angiotensin II-induced cardiac hypertrophy. *Circ Res* 1995; 77(6):1040-52.

Sadoshima J, Izumo S. Signal transduction pathways of angiotensin II--induced c-fos gene expression in cardiac myocytes in vitro. Roles of phospholipid-derived second messengers. *Circ Res* 1993; 73(3):424-38.

Sargent CA, Sleph PG, Dzwonczyk S et al. Cardioprotection in ischemic rat hearts with the SH-containing angiotensin-converting enzyme inhibitor zofenopril: possible involvement of the ATP-sensitive potassium channel. *J Pharmacol Exp Ther* 1993; 265(2):609-18.

Sasaki K, Yamano Y, Bardhan S et al. Cloning and expression of a complementary DNA encoding a bovine adrenal angiotensin II type-1 receptor. *Nature* 1991; 351(6323):230-3.

Schieffer B, Wirger A, Meybrunn M et al. Comparative effects of chronic angiotensin-converting enzyme inhibition and angiotensin II type 1 receptor blockade on cardiac remodeling after myocardial infarction in the rat. *Circulation* 1994; 89(5):2273-82.

Schillaci G, Verdecchia P, Porcellati C et al. Continuous relation between left ventricular mass and cardiovascular risk in essential hypertension. *Hypertension* 2000; 35(2):580-6.

Schmieder RE, Messerli FH. Hypertension and the heart. *J Hum Hypertens* 2000; 14(10-11):597-604.

Schorr K. Role of prostaglandins in the cardiovascular effects of bradykinin and angiotensin-converting enzyme inhibitors. *J Cardiovasc Pharmacol* 1992; 20(Suppl 9):S68-73.

Schunkert H, Sadoshima J, Cornelius T et al. Angiotensin II-induced growth responses in isolated adult rat hearts. Evidence for load-independent induction of cardiac protein synthesis by angiotensin II. *Circ Res* 1995; 76(3):489-97.

Schwartz K, de la Bastie D, Bouveret P et al. Alpha-skeletal muscle actin mRNA's accumulate in hypertrophied adult rat hearts. *Circ Res* 1986; 59(5):551-5.

Selye H, Stone H. Pathogenesis of the cardiovascular and renal changes which usually accompanies malignant hypertension. *J Urol* 1976; 56(399-403).

Senbonmatsu T, Ichihara S, Price EJ et al. Evidence for angiotensin II type 2 receptor-mediated cardiac myocyte enlargement during in vivo pressure overload. *J Clin Invest* 2000; 106(3):R25-9.

Sen S, Bumpus FM. Collagen synthesis in development and reversal of cardiac hypertrophy in spontaneously hypertensive rats. *Am J Cardiol* 1979; 44(5):954-8.

Sen S, Tarazi RC, Bumpus FM. Biochemical changes associated with development and reversal of cardiac hypertrophy in spontaneously hypertensive rats. *Cardiovasc Res* 1976; 10(2):254-61.

Sen S, Tarazi RC, Bumpus FM. Cardiac hypertrophy and antihypertensive therapy. *Cardiovasc Res* 1977; 11(5):427-33.

Sen S, Tarazi RC, Khairallah PA et al. Cardiac hypertrophy in spontaneously hypertensive rats. *Circ Res* 1974; 35(5):775-81.

Siwik DA, Pagano PJ, Colucci WS. Oxidative stress regulates collagen synthesis and matrix metalloproteinase activity in cardiac fibroblasts. *Am J Physiol Cell Physiol* 2001; 280(1):C53-60.

Soubrier F, Alhenc-Gelas F, Hubert C et al. Two putative active centers in human angiotensin I-converting enzyme revealed by molecular cloning. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1988; 85(24):9386-90.

Southorn PA, Powis G. Free radicals in medicine. I. Chemical nature and biologic reactions. *Mayo Clin Proc* 1988; 63(4):381-9.

Spinale F, Coker M, Bond B et al. Myocardial matrix degradation and metalloproteinase activation in the failing heart: a potential therapeutic target. *Cardiovasc Res* 2000; 46(2):225-38.

Spinale FG, Coker ML, Thomas CV et al. Time-Dependent Changes in Matrix Metalloproteinase Activity and Expression During the Progression of Congestive Heart Failure : Relation to Ventricular and Myocyte Function. *Circ Res* 1998; 82(4):482-95.

Stauss HM, Zhu YC, Redlich T et al. Angiotensin-converting enzyme inhibition in infarct-induced heart failure in rats: bradykinin versus angiotensin II. *J Cardiovasc Risk* 1994; 1(3):255-62.

Stoll M, Steckelings UM, Paul M et al. The angiotensin AT₂-receptor mediates inhibition of cell proliferation in coronary endothelial cells. *J Clin Invest* 1995; 95(2):651-7.

Subissi A, Evangelista S, Giachetti A. Preclinical profile of zofenopril: an angiotensin converting enzyme inhibitor with peculiar cardioprotective properties. *Cardiovasc Drug Rev* 1999; 17(2):115-33.

Sugden PH, Clerk A. "Stress-responsive" mitogen-activated protein kinases (c-Jun N-terminal kinases and p38 mitogen-activated protein kinases) in the myocardium. *Circ Res* 1998; 83(4):345-52.

Sun Y, Mendelsohn FA. Angiotensin converting enzyme inhibition in heart, kidney, and serum studied ex vivo after administration of zofenopril, captopril, and lisinopril. *J Cardiovasc Pharmacol* 1991; 18(4):478-86.

Susic D, Varagic J, Frohlich ED. Pharmacologic agents on cardiovascular mass, coronary dynamics and collagen in aged spontaneously hypertensive rats. *J Hypertens* 1999; 17(8):1209-15.

Swislocki AL, LaPier TL, Khuu DT et al. Metabolic, hemodynamic, and cardiac effects of captopril in young, spontaneously hypertensive rats. *Am J Hypertens* 1999; 12(6):581-9.

Takano H, Komuro I, Zou Y et al. Activation of p70 S6 protein kinase is necessary for angiotensin II-induced hypertrophy in neonatal rat cardiac myocytes. *FEBS Lett* 1996; 379(3):255-9.

Tea B-S, Der Sarkissian S, Touyz RM et al. Proapoptotic and Growth-Inhibitory Role of Angiotensin II Type 2 Receptor in Vascular Smooth Muscle Cells of Spontaneously Hypertensive Rats In Vivo. *Hypertension* 2000; 35(5):1069-73.

The Acute Infarction Ramipril Efficacy (AIRE) Study Investigators. Effect of ramipril on mortality and morbidity of survivors of acute myocardial infarction with clinical evidence of heart failure. *Lancet* 1993; 342(8875):821-8.

The CONSENSUS Trial Study Group. Effects of enalapril on mortality in severe congestive heart failure. Results of the Cooperative North Scandinavian Enalapril Survival Study (CONSENSUS). *N Engl J Med* 1987; 316(23):1429-35.

The SOLVD Investigators. Effect of enalapril on survival in patients with reduced left ventricular ejection fractions and congestive heart failure. *N Engl J Med* 1991; 325(5):293-302.

Timmermans PB, Wong PC, Chiu AT et al. Angiotensin II receptors and angiotensin II receptor antagonists. *Pharmacol Rev* 1993; 45(2):205-51.

Tsuda T, Kawahara Y, Ishida Y et al. Angiotensin II stimulates two myelin basic protein/microtubule-associated protein 2 kinases in cultured vascular smooth muscle cells. *Circ Res* 1992; 71(3):620-30.

Tsutsumi Y, Matsubara H, Masaki H et al. Angiotensin II type 2 receptor overexpression activates the vascular kinin system and causes vasodilation. *J Clin Invest* 1999; 104(7):925-35.

Urata H, Healy B, Stewart RW et al. Angiotensin II-forming pathways in normal and failing human hearts. *Circ Res* 1990; 66(4):883-90.

van Wijngaarden J, Pinto YM, van Gilst WH et al. Converting enzyme inhibition after experimental myocardial infarction in rats: comparative study between spirapril and zofenopril. *Cardiovasc Res* 1991; 25(11):936-42.

Varo N, Etayo JC, Zalba G et al. Losartan inhibits the post-transcriptional synthesis of collagen type I and reverses left ventricular fibrosis in spontaneously hypertensive rats. *J Hypertens* 1999; 17(1):107-14.

Varo N, Iraburu MJ, Varela M et al. Chronic AT(1) blockade stimulates extracellular collagen type I degradation and reverses myocardial fibrosis in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 2000; 35(6):1197-202.

Verdecchia P, Schillaci G, Borgioni C et al. Prognostic significance of serial changes in left ventricular mass in essential hypertension. *Circulation* 1998; 97(1):48-54.

Villarreal FJ, Kim NN, Ungab GD et al. Identification of functional angiotensin II receptors on rat cardiac fibroblasts. *Circulation* 1993; 88(6):2849-61.

Viswanathan M, Saavedra JM. Expression of angiotensin II AT2 receptors in the rat skin during experimental wound healing. *Peptides* 1992; 13(4):783-6.

Vogt M, Jacob R, Noma K et al. Chronic cardiac reactions. III. Factors involved in the development of structural dilatation. *Basic Res Cardiol* 1987; 82(Suppl 2):161-72.

Waeber B, Brunner HR. Cardiovascular hypertrophy: role of angiotensin II and bradykinin. *J Cardiovasc Pharmacol* 1996; 27(Suppl 2):S36-40.

Wagner J, Drab M, Bohlender J et al. Effects of AT1 receptor blockade on blood pressure and the renin-angiotensin system in spontaneously hypertensive rats of the stroke prone strain. *Clin Exp Hypertens* 1998; 20(2):205-21.

Wang Y, Su B, Sah VP et al. Cardiac hypertrophy induced by mitogen-activated protein kinase kinase 7, a specific activator for c-Jun NH2-terminal kinase in ventricular muscle cells. *J Biol Chem* 1998; 273(10):5423-6.

Warnholtz A, Nickenig G, Schulz E et al. Increased NADH-Oxidase-Mediated Superoxide Production in the Early Stages of Atherosclerosis : Evidence for Involvement of the Renin-Angiotensin System. *Circulation* 1999; 99(15):2027-33.

Weber KT. Cardiac interstitium in health and disease: the fibrillar collagen network. *J Am Coll Cardiol* 1989; 13(7):1637-52.

Weber KT. Extracellular matrix remodeling in heart failure: a role for de novo angiotensin II generation. *Circulation* 1997; 96(11):4065-82.

Weber KT. Targeting pathological remodeling: concepts of cardioprotection and reparation. *Circulation* 2000; 102(12):1342-5.

Weber KT, Anversa P, Armstrong PW et al. Remodeling and reparation of the cardiovascular system. *J Am Coll Cardiol* 1992; 20(1):3-16.

Weber KT, Brilla CG. Pathological hypertrophy and cardiac interstitium. Fibrosis and renin-angiotensin-aldosterone system. *Circulation* 1991; 83(6):1849-65.

Weiss D, Sorescu D, Taylor WR. Angiotensin II and atherosclerosis. *Am J Cardiol* 2001; 87(8A):25C-32C.

Westlin W, Mullane K. Does captopril attenuate reperfusion-induced myocardial dysfunction by scavenging free radicals? *Circulation* 1988; 77(6 Pt 2):I30-9.

White CM. Pharmacologic, pharmacokinetic, and therapeutic differences among ACE inhibitors. *Pharmacotherapy* 1998; 18(3):588-99.

Williams GH. Hypertension artérielle. Dans Harrison, *Médecine Interne*, tome 1, 14e édition. Maidenhead: McGraw-Hill International, 2000: 1598-1612.

Wiseman LR, McTavish D. Trandolapril. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic use in essential hypertension. *Drugs* 1994; 48(1):71-90.

Yamada T, Horiuchi M, Dzau VJ. Angiotensin II type 2 receptor mediates programmed cell death. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996; 93(1):156-60.

Yang CM, Kandaswamy V, Young D et al. Changes in collagen phenotypes during progression and regression of cardiac hypertrophy. *Cardiovasc Res* 1997; 36(2):236-45.

Yang X-P, Liu Y-H, Mehta D et al. Diminished Cardioprotective Response to Inhibition of Angiotensin-Converting Enzyme and Angiotensin II Type 1 Receptor in B2 Kinin Receptor Gene Knockout Mice. *Circ Res* 2001; 88(10):1072-9.

Yonezawa T, Umemoto S, Fujii A et al. Comparative effects of type 1 angiotensin II-receptor blockade with angiotensin-converting-enzyme inhibitor on left ventricular distensibility and collagen metabolism in spontaneously hypertensive rats. *J Cardiovasc Pharmacol* 1996; 27(1):119-24.

Yusuf S, Sleight P, Pogue J et al. Effects of an angiotensin-converting-enzyme inhibitor, ramipril, on cardiovascular events in high-risk patients. The Heart Outcomes Prevention Evaluation Study Investigators. *N Engl J Med* 2000; 342(3):145-53.

Zhang J, Pratt RE. The AT2 receptor selectively associates with G α 2 and G α 3 in the rat fetus. *J Biol Chem* 1996; 271(25):15026-33.

Zhang H, Schmeisser A, Garlichs C et al. Angiotensin II-induced superoxide anion generation in human vascular endothelial cells: role of membrane-bound NADH-/NADPH-oxidases. *Cardiovasc Res* 1999; 44(1):215-22.

Zhu YC, Zhu YZ, Gohlke P et al. Effects of angiotensin-converting enzyme inhibition and angiotensin II AT1 receptor antagonism on cardiac parameters in left ventricular hypertrophy. *Am J Cardiol* 1997; 80(3A):110A-7A.

ANNEXE

Ces résultats ont été obtenus juste avant le dépôt officiel du mémoire. Nous avons toutefois décidé de les inclure en annexe parce qu'ils sont très pertinents dans l'interprétation de notre étude. En effet, il appert qu'une dose de 10 mg/kg/jour de zofénopril ou de lisinopril (dose utilisée lors de notre étude) produit une inhibition similaire de l'activité de l'ECA sérique et cardiaque.

Des rats normotendus ont été traités pendant une semaine au zofénopril ou au lisinopril (0,1, 1 ou 10 mg/kg/jour). Les traitements ont été administrés dans la diète et les résultats suivants ont été obtenus:

1) Pourcentage d'inhibition de l'ECA sérique

Dose (mg/kg/j)	ZOFÉNOPRIL	LISINOPRIL
0,1	50,6 ± 4,0 *	65,5 ± 2,5
1	75,0 ± 2,1	78,7 ± 0,8
10	79,9 ± 3,4	83,3 ± 0,7

2) Pourcentage d'inhibition de l'ECA cardiaque

Dose (mg/kg/j)	ZOFÉNOPRIL	LISINOPRIL
0,1	68,5 ± 1,0 *	71,1 ± 0,6
1	77,1 ± 1,2	80,9 ± 0,8
10	90,1 ± 0,3	87,1 ± 0,3

* Moyenne ± SEM.