

Université de Montréal

**L'élévation de la tension artérielle chez la rate
ovariectomisée est renversée par un antagoniste
du récepteur ET_A et par un antagoniste du
récepteur AT₁**

par

My-Lan Pham-Dang

Institut de Cardiologie de Montréal

Département de Physiologie

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 physiologie**

Février 2002

© My-Lan Pham-Dang



W

4

U58

2002

N. 139

Page d'identification du jury

Université de Montréal
Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé:

**L'élévation de la tension artérielle chez la rate
ovariectomisée est renversée par un antagoniste du
récepteur ET_A et par un antagoniste du récepteur AT₁**

présentée par:

My-Lan Pham-Dang

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes:

Jacques Billette

Président-rapporteur

Pierre Moreau

Membre du jury

Angelino Calderone

Directeur de recherche

Mémoire accepté le: _____

Sommaire

L'hypertension est la maladie la plus commune chez la femme postménopausée. L'utilisation d'une hormonothérapie de remplacement à base d'oestrogènes (ERT) aide à diminuer l'incidence de cette maladie. Cependant, l'utilisation des oestrogènes est associée à une augmentation de risque du cancer de l'endomètre et du sein de même que de thromboembolie. Le tamoxifène (TAM), un composé à activité agoniste partielle qui se lie sur le récepteur aux oestrogènes, ainsi que certains composés inhibant la vasoconstriction comme l'Irbesartan (un antagoniste du récepteur AT_1 de l'angiotensine II) ou le BMS 182 874 (un antagoniste du récepteur ET_A de l'endothéline-1) pourraient se révéler de meilleurs candidats que les oestrogènes utilisés de façon classique dans l'ERT.

Le but de notre recherche est de trouver d'autres approches thérapeutiques qui pourraient diminuer l'incidence des maladies cardiovasculaires tout en minimisant les effets secondaires néfastes reliés à l'ERT. Les objectifs spécifiques visés par ce projet sont :1) d'évaluer les effets de l'ovariectomie à court terme au niveau des paramètres hémodynamiques et morphologiques au niveau du coeur et de l'utérus 2) de vérifier les effets du tamoxifène au niveau cardiovasculaire et 3) d'évaluer le rôle des agents vasoconstricteurs comme l'angiotensine II (AII) et l'endothéline-1 (ET-1) dans la progression de la tension artérielle. Toutes ces études ont été effectuées sur le modèle de la rate femelle ovariectomisée (OVX) de souche Sprague-Dawley. Les effets des différents composés sur la

morphologie utérine et sur la fonction ventriculaire ainsi que sur l'hypertrophie et la fibrose cardiaques ont été évalués.

Nos études ont démontré que : 1) L'ovariectomie est associée à une élévation significative de la pression systolique du ventricule gauche (PSVG), de la tension artérielle moyenne ainsi que la pression télédiastolique du ventricule gauche; 2) Une atrophie au niveau de l'utérus est observée chez les rates OVX; 3) Il n'y a pas d'hypertrophie ou de fibrose cardiaque chez la rate OVX; 4) L'utilisation du TAM chez la rate OVX permet de diminuer la PSVG et augmente de façon significative le poids de l'utérus; 5) L'emploi de l'Irbesartan ou du BMS 182 874 diminue de façon significative la tension artérielle moyenne et la PSVG tout en maintenant l'atrophie utérine particulière aux rates OVX. Les résultats sont considérés statistiquement significatifs à des valeurs de $p < 0.05$.

En résumé, ces résultats sont les premiers à démontrer que le TAM diminue la tension artérielle des rates OVX mais favorise la prolifération utérine. Cependant, l'emploi des antagonistes des récepteurs AT_1 et de l' ET_A diminue la tension artérielle sans qu'il n'y ait d'effets secondaires sur l'utérus. Ces deux thérapies ont un grand potentiel thérapeutique pour la réduction de la tension artérielle chez les femmes post-ménopausées.

Mots clés : hypertension, antagoniste du récepteur AT_1 , antagoniste du récepteur ET_A , Tamoxifène, hormonothérapie de remplacement à base d'oestrogènes.

Abstract

Postmenopausal women are particularly prone to hypertension. Uncontrolled hypertension could lead to heart disease. Estrogen replacement therapy (ERT) can diminish this incidence. But ERT is associated with an increased risk of breast and endometrial cancer, as well as thromboembolism. Tamoxifen (TAM), a drug with partial agonist activity that binds to the estrogen receptor, as well as certain drugs that inhibit vasoconstriction such as Irbesartan (an angiotensin II type 1 (AT₁) receptor antagonist) or BMS 182 874 (a selective endothelin-1 type A (ET_A) receptor antagonist) may represent better candidates than traditional estrogen preparations found in ERT.

The goal of this work is to find other therapeutic agents that could decrease the risk of cardiovascular disease while minimizing the deleterious secondary effects related to ERT. More specifically for this thesis we want : 1) to evaluate the short term effects of ovariectomy (OVX) in regards of hemodynamic as well as morphometric measurements in the heart and in the uterus; 2) to verify TAM's effect on the cardiovascular standpoint; 3) to evaluate the roles of vasoconstrictor agents such as angiotensin II and endothelin-1 in the progression of systemic hypertension. All the studies were done on ovariectomised female Sprague-Dawley rats. Uterine morphology as well as the effects of the different drugs on ventricular function as well as cardiac hypertrophy and fibrosis are also studied.

Our study has shown that: 1) OVX is associated with a significant increase in left ventricular systolic pressure (LVSP), mean arterial pressure (MAP) as well as left ventricular end-diastolic pressure; 2) OVX is associated with uterus atrophy; 3) OVX is associated with an absence of cardiac hypertrophy and fibrosis; 4) Use of TAM in the ovariectomized rat decreases LVSP but leads to a significant increase in uterine weight; 5) Use of either Irbesartan or BMS 182 874 can lead to a significant decrease in MAP and LVSP while maintaining uterine atrophy. A value of $p < 0.05$ is considered statistically significant.

These results are the first to show that while TAM can improve decrease blood pressure in ovariectomized rats, the drug exerts a proliferative effect on the uterus. Whereas the administration of either an AT_1 or an ET_A receptor antagonist can both inhibit elevated blood pressure while maintaining uterine atrophy. These two drugs carry an enormous potential as new treatments for high blood pressure in postmenopausal women without the nefarious secondary effects related to ERT.

Keywords : elevated blood pressure, AT_1 receptor antagonist, ET_A receptor antagonist, Tamoxifen, Estrogen replacement therapy.

Table des Matières

CHAPITRE 1-REVUE DE LA LITTÉRATURE	1
1.0 Introduction	2
1.1 Les oestrogènes	3
1.1.1 Les récepteurs aux oestrogènes	4
1.1.1.1 Structure du ER	4
1.1.1.2 Domaines de transactivation du ER	6
1.1.2 Les corégulateurs	6
1.2 Physiologie du système reproducteur chez la femme	8
1.2.1 L'Ovogenèse	9
1.2.2 Le cycle ovarien	9
1.2.3 Régulation hormonale du cycle ovarien	10
1.2.4 Le Cycle Menstruel	11
1.2.5 La Ménopause	12
1.3 Effets cardioprotecteurs des oestrogènes	15
1.3.1 Effet des oestrogènes sur le métabolisme des lipides	15
1.3.2 Propriétés antioxydantes des oestrogènes	16
1.3.3 Effet anti-thrombolytique des oestrogènes	17
1.3.4 Effet endothélium-dépendant des oestrogènes	18
1.3.5 Les oestrogènes et la prostacycline	20
1.4 L'Hormonothérapie de remplacement	21
1.5 "Selective Estrogen Receptor Modulators" (SERMs)	23
1.5.1 Les différents types de SERMs	24
1.5.1.1 Le Raloxifène	25
1.5.1.2 Le Tamoxifène	25
1.5.2 Mécanisme moléculaire expliquant le caractère distinct des SERMs	29
1.5.2.1 Dépendance au niveau de la structure	29
1.5.2.2 Dépendance des coactivateurs/corépresseurs	30
1.5.2.3 Dépendance de l'isoforme du ER	31
1.5.2.4 Dépendance de la concentration des oestrogènes	32

CHAPITRE 2- L'HYPERTENSION ET LES AGENTS VASOCONSTRICTEURS	33
2.1 L'Hypertension	34
2.1.1 Changements vasculaires reliés à l'hypertension	35
2.1.2 Le coeur et l'hypertension	36
2.2 Le système rénine-angiotensine	38
2.2.1 L'Angiotensine II	39
2.2.2 L'enzyme de conversion de l'All	40
2.2.2.1 Utilisation d'un inhibiteur de l'ECA (IECA)	41
2.2.2.2 Lien entre l'ECA et les oestrogènes	43
2.2.3 Les récepteurs de l'All	43
2.2.3.1 Le récepteur AT ₁	44
2.2.3.1.1 Les voies de signalisation du récepteur AT ₁	45
2.2.3.1.2 Régulation du récepteur AT ₁ par les oestrogènes	48
2.2.3.2 Le récepteur AT ₂	49
2.2.3.3 Les Antagonistes du récepteur AT ₁	51
2.3 Libération de substances vasodilatatrices et vasoconstrictrices au niveau de l'endothélium	52
2.3.1 L'Endothéline	55
2.3.1.1 Les récepteurs de l'endothéline	55
2.3.2 Les antagonistes du récepteur de l'endothéline	56
2.3.3 L'All module la libération de l'ET-1	57
2.3.4 La dysfonction endothéliale	58
2.3.5 Rôle des oestrogènes dans la régulation de l'ET-1	58
2.4 Objectifs du mémoire	60
CHAPITRE 3- MATÉRIEL ET MÉTHODES	62
3.1 Ovariectomie	63
3.2 Traitements	63
3.3 Mesures Hémodynamiques	65
3.4 Hybridation de Type Northern	66
3.5 Dosage du Collagène	67

3.6 Statistiques	67
CHAPITRE 4- RÉSULTATS	69
Première partie: Effets reliés à l'OVX	70
Deuxième partie : Effets de divers traitements pharmacologiques pour atténuer l'élévation de la tension artérielle	77
CHAPITRE 5- DISCUSSION ET CONCLUSION	87
Première Partie : Effets reliés à l'OVX	88
Caractéristiques pondérales de l'OVX	88
Implications de choisir un modèle de rate jeune	89
Caractéristiques hémodynamiques de l'OVX	89
Deuxième partie : Étude sur divers traitements pharmacologiques pour atténuer l'élévation de la tension artérielle	93
Limites du modèle	99
Conclusion	99
Références	101

Liste des figures

FIGURE 1- Domaines structurale et fonctionnelle du récepteur aux oestrogènes.	5
FIGURE 2- Rôle des corégulateurs dans l'activation de la transcription des gènes.	8
FIGURE 4- Rôle du monoxyde d'azote endothélial et des oestrogènes dans le maintien de la santé vasculaire.	20
FIGURE 5- La structure chimique du Raloxifène (gauche) et le Tamoxifène (droite).	24
FIGURE 6- Le mécanisme d'activation de la transcription des gènes par le récepteur aux oestrogènes.	31
FIGURE 7- L'Angiotensine II est l'hormone principale du système rénine-angiotensine	40
FIGURE 8- Le récepteur AT ₁ induit plusieurs voies de signalisation qui sont couplées ou non aux protéines G	47

FIGURE 9- L'activation du récepteur AT ₂ contribue à la réponse vasodilatatrice et antiproliférative	51
FIGURE 10- Le système de l'endothéline	54
FIGURE 11- Niveau d'expression de l'ARNm de pré-pro ANP chez la rate OVX de six semaines	75
FIGURE 12- Contenu de collagène de type-1 dans le ventricule gauche de la rate OVX de six semaines	76

Liste des tableaux

TABLEAU I- Résultats des études cliniques sur l'effet du tamoxifène sur les maladies cardiovasculaires.	28
TABLEAU II - Nombre d'animaux dans chaque groupe et le type de traitement administré	64
TABLEAU III - Données gravimétriques chez la rate témoin et OVX de 3 et 6 semaines	71
TABLEAU IV - Données hémodynamiques chez la rate témoin et OVX de 3 et 6 semaines	73
TABLEAU V - Contenu en collagène dans le ventricule gauche de la rate OVX de 6 semaines	76
TABLEAU VI - Données gravimétriques chez la rate OVX traitée avec l'antagoniste du récepteur ET _A , BMS 182 874	78
TABLEAU VII- Données hémodynamiques chez la rate OVX traitée avec l'antagoniste du récepteur ET _A BMS 182 874	79
TABLEAU VIII - Données gravimétriques chez la rate OVX traitée avec l'antagoniste du récepteur AT ₁ , Irbesartan	81
TABLEAU IX - Données hémodynamiques chez la rate OVX et l'effet de l'antagoniste du récepteur AT ₁ , Irbesartan	82
TABLEAU X - Données gravimétriques chez la rate OVX et l'effet du Tamoxifène	85
TABLEAU XI - Données hémodynamiques chez la rate OVX et l'effet du Tamoxifène	86

Liste des Sigles et Abréviations

(Lorsque l'abréviation réfère à un terme anglais, ce dernier est inscrit entre guillemets)

AI : angiotensine I

All : angiotensine II

ACV : accident cérébrovasculaire

AF-1 ou AF-2 : "activation function 1 ou activation function 2"

Ang (1,7) : angiotensine (1,7)

ARNm : acide ribonucléique messenger

AT₁ ou AT₂ : angiotensine II de type 1 ou angiotensine II de type 2

BK : bradykinine

CAD : "coronary artery disease" ou maladie artérielle coronarienne

CEE : "conjugated equine estrogens"

DAG : diacylglycérol

DBD : "DNA binding domain" ou domaine de liaison à l'ADN

ECA : enzyme de conversion à l'angiotensine II

ECE : enzyme de conversion de l'endothéline-1

EDCF : "endothelium-derived contractile factor" ou facteur contractile dérivé de l'endothélium

EDRF : "endothelium-derived relaxing factor" ou facteur relaxant dérivé de l'endothélium

ER : "estrogen receptor" ou récepteur aux oestrogènes

ERT : "estrogen replacement therapy" ou hormonothérapie à base d'oestrogènes

ET-1 : endothéline-1

ET_A-R ou ET_B-R : le récepteur de l'endothéline de sous type A ou B

FSH : "follicle-stimulating hormone"

GMPc : guanosine monophosphate cyclique
HBD : "hormone binding domain" ou domaine de liaison au ligand
HDL : "high density lipoprotein" ou lipoprotéine à haute densité
HRT : "hormonal replacement therapy" ou hormonothérapie de remplacement
HS : hypertension systémique
IECA : inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine II
IP3 : Inositol-1,4,5-triphosphate
IRB : irbesartan
LDL : "low density lipoprotein" ou lipoprotéine à faible densité
LH : "luteinizing hormone"
LH-RH : "luteinizing hormone-releasing hormone"
L-NAME : N ω -nitro-L-arginine methyl ester
Lp(a) : lipoprotéine (a)
MPA : medroxyprogestérone acétate
NO : "nitric oxide" ou monoxyde d'azote
NOS : NO synthases
OVX: ovariectomisée/ ovariectomie
PKC : protéine kinase C
PLC : phospholipase C
PSVG : pression systolique du ventricule gauche
RAS : "renin-angiotensin-system" ou système rénine angiotensine
SERM : "selective estrogen receptor modulator" ou modulateur sélectif du récepteur aux oestrogènes
TAM : tamoxifène

CHAPITRE 1

REVUE DE LA LITTÉRATURE

1.0 INTRODUCTION

L'hypertension est une élévation par rapport à la moyenne de la tension artérielle. La valeur moyenne pour un adulte en santé correspond à 120 (pression systolique)/ 80 (pression diastolique). Une personne est considérée hypertendue lorsque sa tension artérielle est de 140/90 ou plus. Si l'hypertension n'est pas contrôlée, ceci peut mener à l'apparition de maladies cardiovasculaires et peut résulter en une insuffisance cardiaque ou même une crise cardiaque¹. D'où vient alors l'importance de contrôler une tension artérielle élevée.

L'étude de Framingham sur les maladies cardiovasculaires et la ménopause a permis de démontrer qu'il y a une augmentation de maladies cardiovasculaires suivant la ménopause dite naturelle (absence de menstruation depuis un an) et la ménopause induite chirurgicalement par une ablation bilatérale des ovaires².

Les maladies cardiovasculaires sont la cause principale de décès chez les femmes et plus d'un demi million de femmes en meurent à chaque année. L'hypertension est un important contributeur dans l'apparition de maladies cardiovasculaires. L'hypertension touche initialement plus les hommes que chez les femmes. Mais à l'arrivée de la ménopause, le pourcentage de femmes hypertendues dépasse celui attribué aux hommes. La déficience en oestrogènes est reliée à une augmentation des incidences de maladies cardiovasculaires. Donc, les femmes ménopausées sont particulièrement prones à l'hypertension et ont un risque plus élevé d'avoir une maladie cardiovasculaire. L'apparition de l'hypertension est accompagnée du phénomène de

remodelage cardiaques tels que l'hypertrophie et la fibrose. Mais peu est connu des effets de la ménopause sur la fonction cardiaque et le processus de remodelage. Une meilleure compréhension de ces phénomènes permettront à l'industrie pharmaceutique de développer des thérapies alternatives à l'hormonothérapie de remplacement dans le but de traiter des maladies comme l'hypertension.

1.1 LES OESTROGÈNES

Les oestrogènes correspondent aux hormones sexuelles femelles. Ces hormones, qui sont sécrétées par les ovaires, provoquent non seulement la maturation des organes génitaux de la femme mais aussi ils stimulent l'apparition des caractères sexuels secondaires féminins (développement des seins, l'augmentation des dépôts de tissu adipeux aux hanches et aux seins, l'apparition de poils axillaires et pubiens, etc...)³. Les oestrogènes font partie de la classe des hormones stéroïdiennes et ils peuvent exercer des actions rapides (non-génomiques) comme la vasodilatation, en l'espace de quelques minutes. Mais les oestrogènes peuvent aussi exercer des effets qui peuvent s'étaler sur quelques heures à quelques jours voire même des mois (effets génomiques). Parmi ces effets, on retrouve une augmentation de l'expression des gènes responsables de la production de plusieurs substances vasodilatatrices, une amélioration du profil lipidique, de même qu'une protection contre l'apparition de l'athérosclérose⁴.

1.1.1 Les récepteurs aux oestrogènes

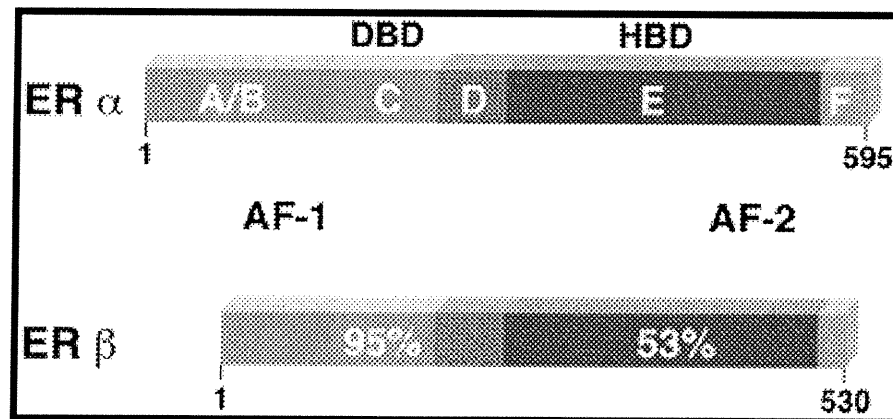
Presque tous les effets des oestrogènes sont médiés via la liaison de ces derniers à des protéines nucléaires, soient les récepteurs aux oestrogènes (ER). Ces derniers sont des facteurs de transcription responsables de l'expression de gènes qui répondent à l'oestrogène⁵. L'oestrogène de même que d'autres ligands exercent une influence au niveau de l'expression des gènes et des changements phénotypiques cellulaires en diffusant à l'intérieur de la cellule et en liant par la suite aux ER dans le noyau. Cette liaison favorise la dimérisation des récepteurs et facilite l'interaction du dimère avec les séquences promotrices au niveau de l'ADN de gènes cibles et permet l'activation ou la répression de la transcription.

1.1.1.1 Structure du ER

Les ER font partie de la grande famille des récepteurs nucléaires. Ces derniers agissent comme des facteurs de transcription lorsqu'ils sont liés à leur ligand respectif. Les récepteurs nucléaires possèdent des caractéristiques communes au point de vue structurale et fonctionnelle. Ces récepteurs sont divisés en cinq domaines fonctionnels, désignés par les lettres A à F, (voir la figure 1, page 5). Il existe deux isoformes du ER, soient le récepteur aux oestrogènes de type alpha (ER- α) ou le récepteur aux oestrogènes de type bêta (ER- β). ER- α contient 595 acides aminés avec un domaine de liaison à l'ADN (DBD) central de même qu'un domaine de liaison à l'hormone (HBD) à l'extrémité carboxy-terminale. Quant à l'isoforme ER- β ^{6,7}, celui-ci est plus court que ER- α et contient 530 acides aminés⁸. La

région où il existe une plus grande homologie entre les deux isoformes, c'est au niveau du DBD (95%). Il y a le moins de conservation entre les domaines A/B, D et E/F.

Figure 1- Domaines structurale et fonctionnelle du récepteur aux oestrogènes.



ER = Récepteur aux oestrogènes; DBD= Domaine de liaison à l'ADN; HBD= Domaine de liaison à l'hormone; AF-1 et AF-2 = Domaine d'activation 1 et 2. Figure tirée de Selective estrogen receptor modulators : structure, function and clinical use, J Clin Oncol vol 18 No7 septembre 2000; p. 3175

Les deux isoformes semblent posséder des rôles physiologiques distincts, ce qui peut être reflété au niveau de leur structure, surtout au niveau du HBD où il y a beaucoup moins d'homologie (53%) entre les deux. Par exemple, certains ligands, comme le phyto-oestrogène genistein sont des agonistes sélectifs pour ER-β^{9,10}. En plus, ce dernier manque une grande portion de la partie carboxy-terminale du domaine F du ER⁷. Ce domaine est important pour les effets agonistes de certains composés, dont le tamoxifène¹¹.

1.1.1.2 Domaines de transactivation du ER

La transcription des gènes, médiée par le ER, est activée par au moins deux domaines de transactivation distincts. Le premier se retrouve dans la région amino-terminale du ER, c'est-à-dire le domaine A/B ou activation function-1 (AF-1). On retrouve un autre domaine de transactivation dans la région carboxy-terminale du récepteur, c'est-à-dire le domaine E ou activation function-2 ou AF-2¹²⁻¹⁴. Le domaine AF-1 ne dépend pas de la liaison de l'hormone sur le récepteur, alors que le domaine AF-2 dépend de la liaison de l'hormone¹⁵. Mais la présence des domaines AF-1 et AF-2 sont nécessaires pour une activité transcriptionnelle optimale¹⁶.

1.1.2 Les corégulateurs

Suite à la liaison du ligand sur le récepteur aux oestrogènes, ce dernier subit des changements conformationnels^{17;18}. La conformation du domaine HBD dépend de la nature du ligand lié. Dépendant du ligand qui est sur le ER, ceci permet l'exposition de certains acides aminés essentiels pour la liaison de certaines protéines nommés corégulateurs.

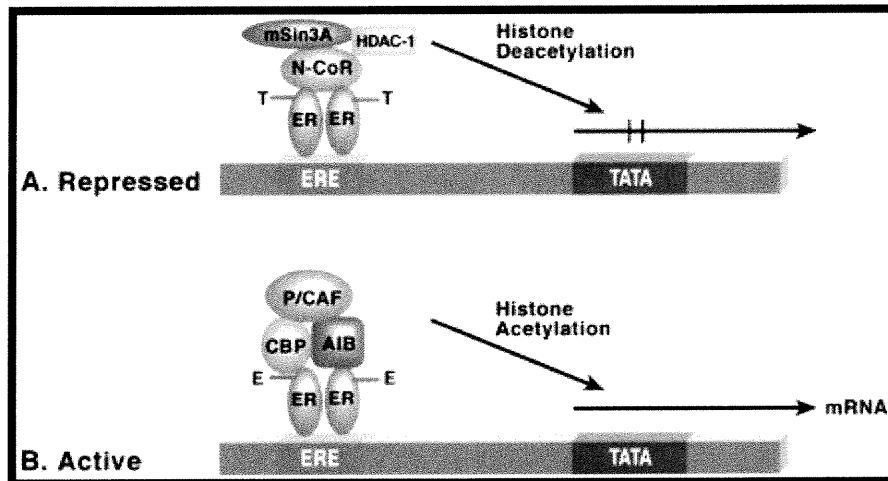
Le ER n'est pas le seul élément responsable pour l'expression génique. La plupart des effets tissus-spécifiques du ER dépendent de d'autres facteurs pouvant influencer la transcription. Ces derniers sont appelés corégulateurs. Ces protéines sont des intermédiaires dans la signalisation entre le récepteur et la machinerie de transcription

générale. Les corégulateurs qui peuvent améliorer l'activité transcriptionnelle du ER sont nommés coactivateurs alors que les corégulateurs qui diminuent l'activité transcriptionnelle sont appelés corépresseurs ¹⁹.

Les corégulateurs possèdent soit une activité histone acétylase ou histone déacétylase. Plusieurs modèles sont proposés pour le mécanisme d'action des coactivateurs ou corépresseurs. Parmi les modèles proposés, on croit que le récepteur est maintenu dans un état inactif par le recrutement de corépresseurs. En général, les corépresseurs possèdent une activité histone déacétylase et cette activité empêche la transcription des gènes en permettant l'ADN de s'enrouler solidement autour de protéines nommées histones.

La liaison du ligand permet la libération des corépresseurs du complexe transcriptionnel formé de l'ADN et du dimère de récepteur nucléaire, permettant alors au récepteur de recruter des coactivateurs possédant une activité histone acétylase. Ces coactivateurs permettent d'ajouter des groupements acétyl sur les histones, favorisant alors le relâchement de l'ADN. Ceci permet d'exposer les acides aminés importants pour la machinerie de transcription de base dans le but d'amorcer la transcription des gènes^{20 21} (voir la figure2, page 8).

Figure 2- Rôle des corégulateurs dans l'activation de la transcription des gènes.



ERE = Élément de réponse du récepteur aux oestrogènes;
 mRNA = ARNmessenger; T = Tamoxifène; E = oestrogène;
 mSin3A, HDAC-1 et N-CoR = Corépresseurs;
 P/CAF, CBP, AIB = Coactivateurs.

Figure tirée de Selective estrogen receptor modulators : structure, function and clinical use, J Clin Oncol vol 18 No7, septembre 2000, p. 3175

1.2 PHYSIOLOGIE DU SYSTÈME REPRODUCTEUR CHEZ LA FEMME

Les ovaires sont des organes pairs situés de part et d'autre de l'utérus. Celles-ci correspondent aux gonades femelles et ont pour fonction de produire des gamètes et de sécréter les oestrogènes.

1.2.1 L'Ovogénèse

La méiose ou la division cellulaire chez la femme a lieu dans les ovaires. La méiose produit les cellules sexuelles femelles dans un processus nommé ovogénèse. Ceci est caractérisé par la production d'ovules qui commence lors du développement foetal. Les ovogonies ou les cellules germinales des gamètes de la femme vont se transformer en ovocytes de premier ordre avant même la naissance. Les ovaires du bébé contiennent approximativement 700 000 follicules primordiaux³. Ces derniers renferment chacun un ovocyte de premier ordre arrêté en prophase de la méiose I et ils vont demeurer dans un état d'hibernation pendant l'enfance. La méiose reprend seulement à partir de la puberté³. À chaque mois, un ovocyte de premier ordre complète la méiose I et produit un ovocyte de deuxième ordre et un globule polaire. La méiose II de l'ovocyte de deuxième ordre produit un ovule fonctionnel et un deuxième globule polaire. Cette étape a lieu uniquement si l'ovocyte de deuxième ordre est mis en contact avec un spermatozoïde³.

1.2.2 Le cycle ovarien

Que se passe-t-il dans l'ovaire à chaque mois ? Le cycle ovarien dure environ 28 jours et se divise en trois étapes³. La première correspond à la phase folliculaire (jours 1 à 10). Plusieurs follicules primaires commencent à murir. Ces cellules vont proliférer et sécrètent des oestrogènes. Généralement, un seul follicule par mois achève le processus de maturation et se retrouve à la surface de l'ovaire. La deuxième étape correspond à la phase ovulatoire (jours 11

à 14) où l'ovocyte du follicule mature termine la méiose I. L'ovulation (jour 14) a lieu lorsque l'ovocyte est libéré dans la cavité péritonéale. Les autres follicules vont dégénérer. La troisième et dernière étape correspond à la phase lutéale (jours 15 à 28). Dans cette étape le follicule expulsé se transforme en corps jaune. Ce dernier produira les hormones oestrogène et progestérone pour le restant du cycle. S'il n'y a pas eu de fécondation, le corps jaune dégénère en 10 jours et cesse de produire des hormones³.

1.2.3 Régulation hormonale du cycle ovarien

Vers la fin de la vingtaine, la majorité des femmes atteignent le sommet de leurs capacités reproductrices. L'hypothalamus sécrète de la gonadolibérine (LH-RH, "luteinizing hormone releasing-releasing hormone") qui module la sécrétion par l'adénohypophyse des gonadotrophines, soient l'hormone folliculostimulante (FSH, "follicle-stimulating hormone") et l'hormone luténisante (LH, "luteinizing hormone")³. Ces deux hormones sont ainsi nommées d'après leurs effets sur les gonades femelles, c'est-à-dire les ovaires. Elles possèdent deux fonctions : produire des gamètes et sécréter les hormones sexuelles féminines, c'est-à-dire les oestrogènes et la progestérone. On dit les oestrogènes et non oestrogène car les ovaires en produisent plusieurs types. Les plus importants sont l'oestradiol, l'oestrone et l'oestriol³. L'oestradiol est l'hormone la plus abondante et c'est elle qui produit la majorité des effets oestrogéniques, comme les caractères physiques féminins et à la formation à tous les mois d'une couche superficielle sur la paroi de l'utérus. Celle-ci est composée de trois couches de tissus : le

périmétrium (couche externe), le myomètre (muscle de l'utérus), et l'endomètre (couche interne)³. L'endomètre se compose d'une couche fonctionnelle et d'une couche basale, qui élabore la couche fonctionnelle après la fin de chaque menstruation. La couche fonctionnelle subit des modifications cycliques en réponse aux concentrations sanguines d'hormones ovariennes. C'est cette couche qui se desquame si aucun embryon ne s'y implante.

1.2.4 Le Cycle Menstruel

Le cycle menstruel correspond à la série de modifications cycliques subies par l'endomètre en réponse aux variations des concentrations sanguines des hormones ovariennes à chaque mois³. Les modifications de l'endomètre sont régulées et coordonnées par les niveaux d'oestrogènes et de progestérone libérés au cours du cycle ovarien. Le cycle menstruel se divise en trois étapes : soient la phase menstruelle, la phase proliférative et finalement la phase sécrétoire. La phase menstruelle correspond à la desquamation de l'endomètre et la phase proliférative correspond à sa régénération. Ces deux étapes ont lieu avant l'ovulation. La phase sécrétoire commence après l'ovulation et enrichit l'apport sanguin de l'endomètre et fournit les nutriments nécessaires pour accueillir le futur embryon³. Avec le temps, la fonction ovarienne diminue graduellement parce que les ovaires répondent de moins en moins aux signaux gonadotrophiques libérées par l'adénohypophyse.

1.2.5 La Ménopause

Entre les âges de 40 à 50 ans, le cycle menstruel de la femme devient irrégulier et la fonction ovarienne diminue car les niveaux d'hormones sexuelles féminines baissent à des niveaux minimes. Par la suite, l'ovulation et la menstruation cessent. Ces événements sont caractéristiques de la ménopause. Elle est due à l'épuisement des ovaires. Tout au long de la vie reproductive d'une femme, environ 400 à 500 des 700 000 ovocytes vont passer à l'ovulation alors que les autres ovocytes sont dégradés²². Vers l'âge de 45 ans, il ne reste que quelques ovocytes encore capables d'être stimulés par la FSH et la LH. De plus, lorsque la production d'oestrogènes par les ovaires s'approche de zéro, le nombre de follicules primordiaux (précurseurs des ovocytes) diminue aussi. Lorsque les niveaux d'oestrogènes se retrouvent sous un seuil critique, ceux-ci ne peuvent plus inhiber la production de la FSH et de la LH, et donc ne peuvent plus générer le pic de LH et de FSH nécessaires pour l'ovulation²².

La ménopause apparaît en moyenne vers l'âge de 51 ans. L'espérance de vie d'une femme de nos jours est d'environ 80 ans. Donc, la majorité des femmes vont vivre le tiers de leur vie en ménopause²³. Arrivée à la ménopause, l'absence d'hormones ovariennes fait en sorte que la femme doit s'adapter aux changements physiques et psychologiques reliés à cette période. L'absence d'oestrogènes cause habituellement des changements physiologiques au niveau du corps. Ceux-ci peuvent comprendre l'atrophie des organes génitaux et des seins ainsi que l'apparition des bouffées de

chaleurs ou "hot flushes". Elles sont caractérisées par un rougissement extrême de la peau due à une vasodilatation importante des vaisseaux sanguins et elles sont accompagnées par des sueurs abondantes ²².

De plus, la ménopause est associée à un gain de poids. Selon la Healthy Women's Study ²⁴, après les trois premières années de l'étude, les femmes ménopausées gagnent en moyenne 2.25 kg. Il paraît que la femme gagne en moyenne 0.5 kg par année durant la ménopause, mais ce changement de poids est associé au vieillissement plutôt qu'à la ménopause en tant que telle. Il est important de souligner l'effet du gain de poids car celui-ci est associé, peu importe le statut ménopausal de la femme, à une augmentation des niveaux lipidiques, à une élévation de la tension artérielle et à la résistance à l'insuline ²⁵.

L'étude de Framingham commencée en 1948 et poursuivie jusqu'à présent a permis d'accumuler beaucoup de résultats concernant le risque de maladies cardiovasculaires et d'éclairer le lien entre la ménopause et les incidences de maladies cardiovasculaires. Selon les résultats de l'étude de 1976², les chercheurs ont remarqué que les femmes ménopausées naturellement ont une plus grande incidence de maladies cardiovasculaires que les femmes préménopausées. De plus, les femmes qui ont eu une ménopause chirurgicale par ablation bilatérale des ovaires ont aussi un risque plus élevé. Les auteurs de l'étude ont remarqué une élévation significative du taux de cholestérol sérique chez les femmes ménopausées naturellement ou chirurgicalement. Quand à la pression systolique, les

chercheurs ont remarqué qu'il n'y a aucune élévation de ce paramètre chez les femmes postménopausées naturellement (132.41 mmHg pour les postménopausées vs 131.3 mmHg pour les femmes non-ménopausées) ou chez les femmes postménopausées chirurgicalement par ablation bilatérale des ovaires (131.15 mmHg pour les postménopausées chirurgicalement vs 129.48 mmHg pour les femmes non-ménopausées)²⁶. Pour ce qui est de la pression diastolique, les chercheurs ont démontré qu'il n'y a aucun changement pour ce paramètre chez les deux groupes. Dans une édition plus récente de l'étude de Framingham, il a été noté que l'hypertension est un facteur de risque majeur pour les maladies cardiovasculaires²⁷.

Il a été démontré par Staessen et al. que la prévalence de l'hypertension chez les femmes postménopausées est quatre fois plus élevée que chez les femmes préménopausées²⁸. Les oestrogènes semblent être partiellement responsables de la faible valeur de tension artérielle chez la femme non-ménopausée. L'hypertension chez les femmes est un sujet qui ne devrait pas être pris à la légère car si elle n'est pas contrôlée, elle peut mener à des complications sévères dont les maladies artérielles coronariennes (CAD), les accidents cérébro-vasculaires (ACV) et même la mort.

1.3 EFFETS CARDIOPROTECTEURS DES OESTROGÈNES

Des études animales ont permis de soutenir que le système cardiovasculaire est une cible des oestrogènes et que ces derniers jouent un rôle significatif dans la régulation des cellules de ce système²⁹. On a pu retrouver la présence d'ERs dans le système cardiovasculaire du babouin (au niveau des oreillettes et des ventricules)¹⁹, du rat (au niveau de l'aorte et du myocarde auriculaire)^{17;29} et de l'humain (au niveau du muscle lisse vasculaire)^{18;30}.

Comment est-ce que les oestrogènes génèrent leur effet cardioprotecteur? Plusieurs mécanismes montrant la possibilité d'un effet cardiovasculaire bénéfique impliquant les oestrogènes ont été proposés. Les oestrogènes exercent leurs effets sur le métabolisme des lipides (cela compte pour 30 à 35 % des effets) et des glucides, mais ils exercent aussi des propriétés antioxydantes. De plus, les oestrogènes auraient un rôle dans la régulation de la tension artérielle, et exercent aussi des effets sur la thrombose et sur l'endothélium³¹. Donc, il semblerait que le mécanisme de protection contre les maladies cardiovasculaires par les oestrogènes après la ménopause est multifactoriel.

1.3.1 Effet des oestrogènes sur le métabolisme des lipides

L'emploi des oestrogènes est associé avec une élévation de la lipoprotéine à haute densité (HDL), riche en protéines, en

phospholipides et en cholestérol. Le rôle du HDL consiste à transporter le cholestérol provenant des tissus périphériques vers le foie où il est transformé en un composant de la bile³. En général, des taux élevés de HDL sont considérés comme bons car le cholestérol ainsi transporté est destiné à l'élimination³²⁻³⁹

Les oestrogènes favorisent la réduction de la lipoprotéine à faible densité (LDL) qui est riche en cholestérol. Le rôle des LDL consiste à transporter le cholestérol vers les tissus périphériques ce qui permet aux cellules de s'en servir pour synthétiser des membranes ou des hormones ou de les mettre en réserve pour un usage ultérieur³. Le LDL règle aussi la synthèse du cholestérol dans les cellules. Des taux élevés de LDL sont considérés dangereux car un excès mène à l'accumulation de dépôts de cholestérol sur les parois des artères contribuant au processus de l'athérosclérose³.

Les oestrogènes permettent aussi l'augmentation des niveaux de triglycérides sériques de 16 à 42%⁴⁰⁻⁴². Les triglycérides correspondent à la principale source d'ATP des cellules adipeuses et des cellules du muscle squelettique ainsi que les cellules du foie³.

1.3.2 Propriétés antioxydantes des oestrogènes

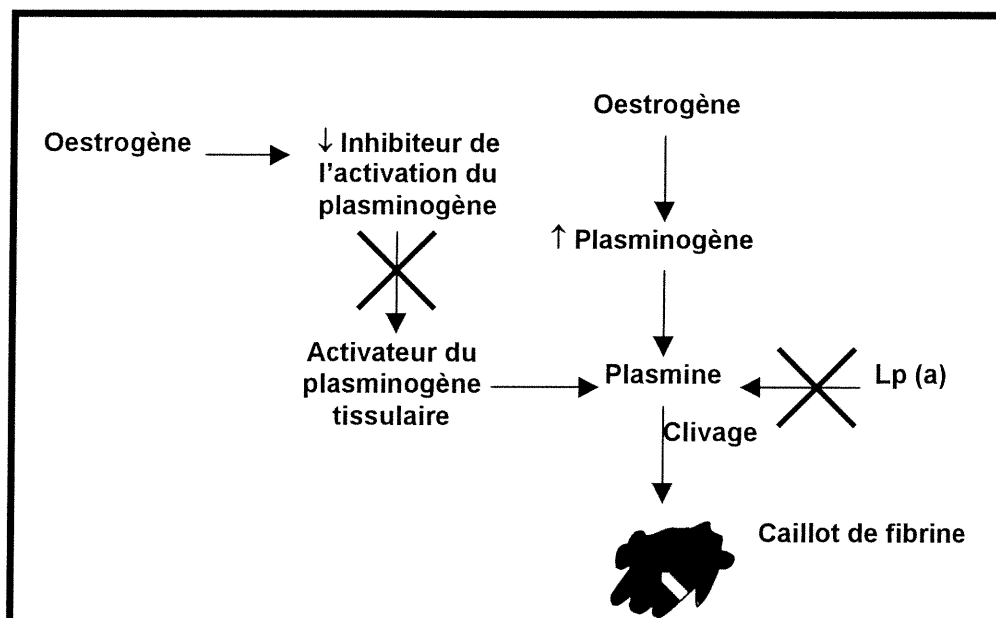
Les oestrogènes démontrent aussi des propriétés antioxydantes. À de hautes concentrations locales, le 17- β -oestradiol empêche l'oxydation de la LDL et diminue la formation d'esters de cholestérol dans des préparations *in vitro*⁴³⁻⁴⁶. L'oxydation de la LDL

est reliée à l'hypercholestérolémie. Un excès de LDL oxydé peut aggraver cette condition médicale.

1.3.3 Effet anti-thrombolytique des oestrogènes

Le système fibrinolytique est un mécanisme de défense endogène qui sert à protéger l'organisme contre la formation de caillots dans les vaisseaux sanguins et il empêche aussi la progression des lésions vasculaires. Les oestrogènes jouent un rôle anticoagulant et favorisent l'augmentation de la plasminogène, un précurseur enzymatique de la plasmine. Cette dernière est responsable du clivage des caillots de fibrine⁴⁷. De plus, il a été démontré que les oestrogènes diminuent la lipoprotéine(a) (Lp(a)) qui est un marqueur de l'athérosclérose de même que l'inhibiteur de l'activation du plasminogène. Ces deux substances empêchent la conversion du plasminogène en plasmine (voir la figure 3, page 17). Les oestrogènes sont associés à la réduction du fibrinogène. Ce dernier est relié à l'étape finale de la formation des caillots de fibrine et correspond à un facteur de risque important dans l'apparition de maladies cardiovasculaires⁴⁸.

Figure 3- Effet anti-thrombolytique des oestrogènes.



Lp(a) = lipoprotéine (a). Figure modifiée de Role of estrogens, selective estrogen receptor modulators and phytoestrogens in cardiovascular protection, Can J Cardiol vol 16 suppl E, août 2000 p.6E

1.3.4 Effet endothélium-dépendant des oestrogènes

Les oestrogènes exercent des effets importants sur la vasodilatation dépendante de l'endothélium. Ils exercent des effets bénéfiques sur le métabolisme du monoxyde d'azote ou NO en activant la NO synthase (NOS). En effet, lorsque ER β est lié avec son ligand soit le 17- β -estradiol, ceci augmente l'expression de la NOS de type endothéliale et inductible au niveau des myocytes cardiaques de rats nouveaux nés ⁴⁹. Stefano et al. ont démontré que des doses physiologiques d'oestrogènes permettent une augmentation de calcium intracellulaire et favorise la libération immédiate de NO au niveau des cellules endothéliales via l'activation d'un récepteur aux oestrogènes à la surface cellulaire ⁵⁰.

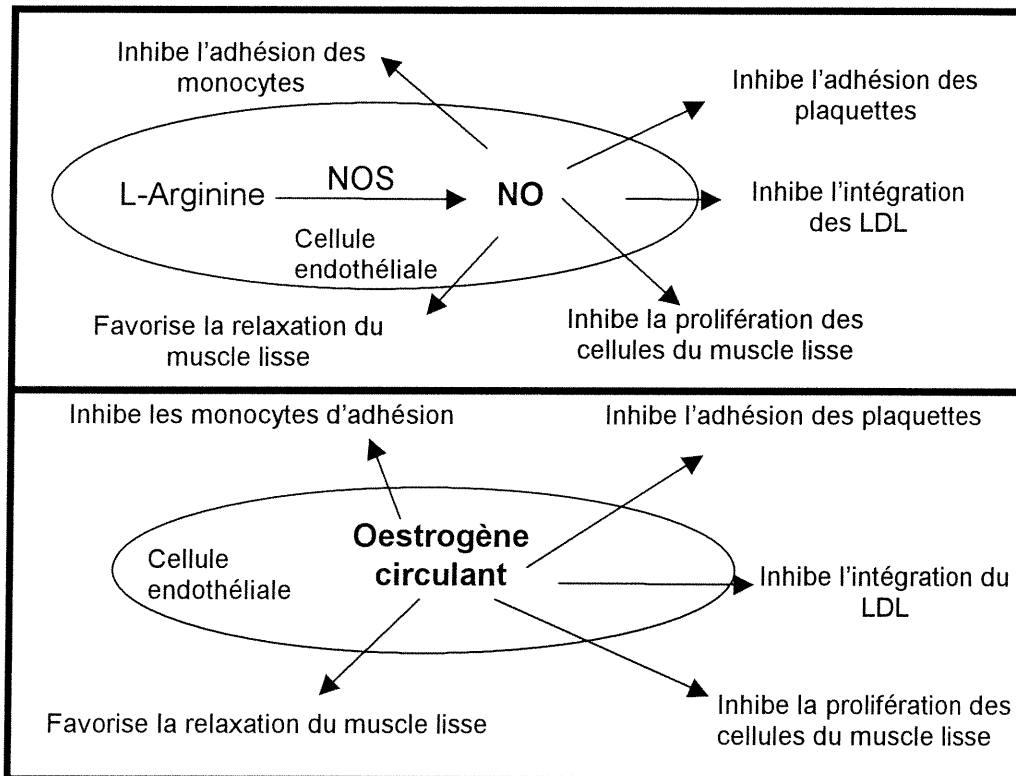
Les oestrogènes joueraient un rôle dans le maintien général de la fonction des vaisseaux sanguins via d'autres effets reliés au NO endothélial. Cette hypothèse est basée sur le fait que les oestrogènes exerceraient des effets semblables au NO dans les vaisseaux sanguins. Parmi ces effets, on retrouve la relaxation des muscles lisses, de même que des effets reliés à la pathogénèse de l'athérosclérose dont l'inhibition de l'adhésion des monocytes, l'inhibition de l'adhésion et de l'aggrégation des plaquettes, l'inhibition

de l'intégration des LDL et finalement l'inhibition de la prolifération des cellules de muscles lisses⁵¹⁻⁶¹.

L'effet vasodilatateur du NO provient de sa diffusion dans les cellules du muscle lisse vasculaire où il se lie à la guanylate cyclase. Ceci augmente le GMPc et active les protéines kinases dépendantes du GMPc. Par la suite, il y a phosphorylation de canaux potassiques suivie d'une hyperpolarisation et d'une extrusion d'ions calciques. Ceci entraîne un relâchement des cellules du muscle lisse. À part la voie du GMPc, le NO exerce aussi un effet direct sur les canaux potassiques dépendant du calcium au niveau des cellules du muscle lisse vasculaire favorisant alors sa relaxation⁶².

En 1998, Chen et al. ont démontré une implication des oestrogènes dans la modulation du NO dans les cellules endothéliales. Le mécanisme proposé suggère que la liaison des oestrogènes au ER α à la surface de la cellule endothéliale active une voie de signalisation impliquant les protéines G et mène à une activation rapide et non-génomique de NOS, qui est l'enzyme responsable de la production de NO. Ce processus peut être inhibé par un antagoniste spécifique du ER⁶³ (voir la figure 4, page 20).

Figure 4- Rôle du monoxyde d'azote endothélial et des oestrogènes dans le maintien de la santé vasculaire.



LDL= Lipoprotéine à faible densité NOS = Oxyde nitrique synthase.
 Figure modifiée de Role of estrogens, selective estrogen receptor modulators and phytoestrogens in cardiovascular protection, Can J Cardiol vol 16 suppl E, août 2000, p. 7E

1.3.5 Les oestrogènes et la prostacycline

La modulation de la vasodilatation par libération de la prostacycline représente un autre mécanisme de cardioprotection relié aux oestrogènes. Cette dernière est un agent vasodilatateur important

et un inhibiteur de l'aggrégation plaquettaire⁶⁴. Ceci a été démontré dans des cellules en culture du muscle lisse de l'aorte provenant du rat où l'administration de l'estradiol à des concentrations physiologiques pour une période de cinq jours mène à une augmentation de la biosynthèse de la prostacycline⁶⁵.

1.4 L'HORMONOTHÉRAPIE DE REMPLACEMENT

La ménopause, qu'elle soit induite de façon chirurgicale ou de façon "naturelle", accroît le risque de maladies cardiovasculaires⁶⁶⁻⁷⁰. Une diminution des niveaux d'oestrogènes possède des effets néfastes sur les vaisseaux sanguins, le profil lipidique de même que sur les systèmes fibrinolytiques et de coagulation. Les conséquences à long terme d'une diminution des niveaux d'oestrogènes peuvent mener à une athérosclérose accélérée de même qu'une augmentation de maladies cardiovasculaires, cérébrovasculaires et périphériques vasculaires. Des études épidémiologiques effectués après l'étude de Framingham, ont démontré une réduction de 40 à 50% des incidences de maladies cardiovasculaires chez les femmes qui reçoivent une hormonothérapie⁷¹.

L'hormonothérapie soulage les symptômes aigus de la ménopause, prévient l'ostéoporose et les maladies cardiovasculaires, deux importantes causes de décès et d'invalidité.

Il existe deux classes d'hormonothérapie. Premièrement, il y a l'hormonothérapie de remplacement (HRT) qui comprend une combinaison d'oestrogène d'origine équine (CEE) et de progestérone

synthétique (médroxyprogestérone acétate (MPA); ou de la progestérone cyclique micronisée). Deuxièmement, il y a l'hormonothérapie à base d'oestrogènes (ERT) qui contient uniquement de l'oestrogène.

L'emploi des oestrogènes seuls augmente le risque de cancer du sein, de l'utérus et de l'endomètre. L'addition de la progestérone permet de protéger l'utérus et l'endomètre contre cette action proliférative ⁷². Une autre différence entre les deux types d'hormonothérapie, c'est au niveau de leur efficacité sur les facteurs de risque de CAD. Selon l'étude HERS qui étudiait les effets de la HRT sur les CAD chez les femmes déjà atteintes de la maladie, il semblerait que la présence de progestérone baisse l'efficacité cardioprotectrice de l'oestrogène ⁷³. Par contre, les deux types de traitement diminuent les taux de lipides sériques et ralentissent le développement de l'athérosclérose. De plus, il semblerait que la ERT de même que la HRT possèdent des effets relativement bénéfiques sur l'hypertension.

L'initiation de la ERT durant la période de la ménopause pour soulager les symptômes est une pratique bien établie chez les médecins. Par contre, pour que la ERT soit efficace, ceci requiert que la femme ménopausée suive le traitement pour le restant de ses jours. Toutefois, il a été démontré que moins de 10 à 30 % des femmes qui commencent la ERT la poursuivent pendant plus de cinq ans. Seulement 5% des femmes la poursuivent pour le restant de leur vie⁷⁴. Il existe plusieurs raisons pouvant expliquer le manque de compliance des femmes face à la ERT. Parmi celles-ci, on dénote le risque de

cancer du sein, le coût relié du traitement les risques accrus de thromboembolie ⁷⁵.

1.5 "SELECTIVE ESTROGEN RECEPTOR MODULATORS" (SERMS)

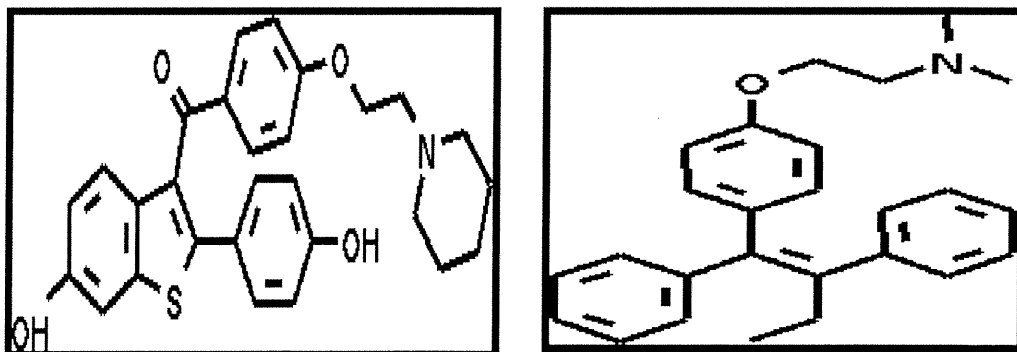
Sachant que les oestrogènes modulent plusieurs processus physiologiques importants, une stimulation prolongée au niveau des cellules mammaires (due à la ERT par exemple), peut contribuer au développement ainsi qu'à la progression du cancer du sein. Il existe maintenant des traitements qui peuvent empêcher ces effets dits oestrogéniques. Le tamoxifène de même que d'autres composés similaires sont efficaces dans le traitement et la prévention du cancer du sein en inhibant les effets prolifératifs des oestrogènes par l'entremise du ER.

Ces médicaments ont la particularité d'exercer des effets agonistes oestrogéniques dans certains tissus ou des effets antagonistes anti-oestrogéniques dans d'autres tissus. La spécificité tissulaire de ces composés (Selective Estrogen Receptor Modulators ou SERM en Anglais)⁷⁶ est due à la formation de complexes avec le ER (ER- α et/ou ER- β) et les SERMs. Ces derniers induisent un changement de conformation au niveau du récepteur et par la suite, facilitent la liaison des corégulateurs favorisant alors l'activation ou la répression de la transcription des gènes cibles^{77;78} Il ne faut pas confondre les SERMs avec les anti-oestrogènes purs qui démontrent uniquement un caractère antagoniste lorsque ces derniers se lient sur le ER⁷⁹.

1.5.1 Les différents types de SERMs

Plusieurs médicaments disponibles possèdent une activité de type SERM. Ceux-ci sont employés en clinique ou sont présentement en développement. À cause de leur activité unique, les SERMs offrent un potentiel thérapeutique varié allant du traitement de l'infertilité jusqu'au maintien de la santé postménopausale. Jusqu'à présent, il n'existe pas de SERM spécifique pour les vaisseaux sanguins ou le coeur. Les composés SERMs qui sont actuellement approuvés pour usage clinique sont classifiés sous deux catégories: soient les triphényléthylènes ou les benzothiophènes. Les triphényléthylènes sont caractérisés par une structure rigide et planaire. La plus connue est le tamoxifène (TAM). L'autre type de SERM employé en clinique est le raloxifène. Ce dernier se retrouve dans la catégorie des benzothiophènes. Contrairement aux triphényléthylènes, les benzothiophènes contiennent une région "charnière" flexible qui résulte en une orientation orthogonale de la chaîne basique du raloxifène. Cette différence au niveau de la structure est en partie responsable de l'action tissu-sélectif du tamoxifène et du raloxifène⁸⁰ (voir la figure 5, page 24).

Figure 5- La structure chimique du Raloxifène (gauche) et le Tamoxifène (droite).



1.5.1.1 Le Raloxifène

Le profil du raloxifène a été étudié dans de nombreux modèles animaux. Ce dernier exerce des effets agonistes oestrogéniques au niveau des os et du système cardiovasculaire puis des effets antagonistes ou anti-oestrogéniques au niveau de l'utérus et de la glande mammaire^{81;82}. Dans un modèle d'ostéoporose postménopausal chez la rate OVX, le raloxifène prévenait la perte osseuse^{83;84} et augmentait la résistance osseuse⁸⁵. En plus, le raloxifène a permis de réduire le cholestérol sérique de 70% chez la rate OVX⁸³. Le raloxifène induit une relaxation au niveau des artères coronaires de lapins par un mécanisme dépendant de l'endothélium impliquant le NO⁸⁶. Dans une étude effectuée chez les rats et les lapins, le raloxifène démontre peu ou pas d'effets sur le poids de l'utérus, l'histologie utérine, de même que l'activité de la peroxydase de l'éosénophile, un marqueur sensible à la stimulation estrogénique de l'utérus^{83;87;88}. Le raloxifène possède aussi une activité anti-oestrogénique dans des modèles de tumeurs mammaires *in vivo* et *in vitro*. Le raloxifène inhibe *in vitro* la prolifération dépendante de l'oestrogène de cellules tumorales mammaires de la lignée MCF-7 chez l'humain⁸⁹.

1.5.1.2 Le Tamoxifène

L'action anti-oestrogénique du TAM dans le tissu mammaire a été étudié de manière élaborée dans des modèles de culture cellulaire

de même que dans des modèles animaux. Il a été démontré que le TAM inhibe la croissance stimulée par les oestrogènes dans les cellules tumorales de la lignée MCF-7 humaine *in vitro*⁸⁹. Le même résultat peut être observé lorsque ces mêmes cellules sont implantées dans des rats athymiques⁹⁰. Ces rats ont la particularité de ne pas produire de lymphocytes T. Donc, il y a absence de la réponse immunitaire. De plus, chez la rate OVX, le traitement au TAM permet la protection contre la perte osseuse par l'entremise de tests étudiant les marqueurs biochimiques osseux comme la phosphatase alcaline sérique et l'ostéocalcine sérique⁹¹, de même que des tests de densité minérale osseuse⁸⁷. L'administration du TAM réduit les concentrations de cholestérol de 50 à 60% chez les rates OVX^{87,91}. Le traitement du TAM augmente les concentrations plasmatiques des triglycérides et réduisent le poids moléculaire moyen du LDL, mais n'a aucun effet sur les concentrations de LDL plasmatique totale, ni du HDL⁹². L'athérosclérose des artères coronaires a été réduite suite au traitement avec le TAM, même si l'effet n'est pas statistiquement significatif⁹². Au niveau de l'utérus de rates immatures ou OVX, le TAM exerce un effet agoniste oestrogénique sur le poids de l'utérus, de même qu'au niveau de l'histologie utérin. Cela veut dire que le TAM stimule la prolifération des cellules au niveau de l'utérus^{87;93;94}.

Le TAM au niveau clinique est employé en tant que thérapie adjuvante contre la cancer du sein indépendant des oestrogènes peu importe le statut ménopausal, de même que dans le traitement du cancer du sein dépendant des oestrogènes chez les femmes post-ménopausées. Récemment, le TAM a été autorisé pour être utilisé en tant que traitement pour réduire l'incidence de cancer du sein chez les

femmes à haut risque. L'effet anti-tumoral du TAM au niveau du sein implique sa capacité de bloquer l'effet prolifératif des oestrogènes par inhibition compétitive au niveau du récepteur aux oestrogènes. Par contre, le TAM possède des effets agonistes oestrogéniques au niveau des os, de l'utérus de même qu'un certain nombre de marqueurs de risques de maladies cardiovasculaires ⁷⁹.

Parmi les effets reliés à l'emploi du TAM, beaucoup d'attention a été portée sur son rôle au niveau des maladies cardiovasculaires. Un certain nombre de marqueurs de risques de maladies cardiovasculaires sont diminués par le tamoxifène alors que d'autres n'en sont pas affectés. Chez les femmes post-ménopausées en santé ^{95,96} et chez les femmes post-ménopausées atteintes du cancer du sein ⁹⁷, le TAM diminue le cholestérol sérique total, de même que le LDL, mais n'a aucun effet sur le HDL, et les triglycérides. Le TAM réduit aussi les concentrations sériques de l'homocystéine (un acide aminé athérogénique) ^{98,99}. Il existe peu d'études sur les effets directs du TAM au niveau des vaisseaux sanguins. Par contre, il existe plusieurs études qui ont examiné les effets du TAM au niveau des événements cardiovasculaires cliniques, dont les infarctus du myocarde et les décès reliés aux maladies artérielle coronariennes. Malgré les effets bénéfiques significatifs du TAM sur les facteurs de risque cardiovasculaires, ceux-ci ne sont pas soutenus par les évidences cliniques présentement disponibles¹⁰⁰.

Tableau I- Résultats des études cliniques sur l'effet du tamoxifène sur les maladies cardiovasculaires. ⁷⁹.

Nom de l'essai Clinique	Nombre de Patientes	Résultats des Études
Scottish Trial ^{101;102}	1312	Le tamoxifène est associé à une diminution du taux d'infarctus du myocarde fatal
Scandinavian Trial ¹⁰³	2365	Le tamoxifène diminue le nombre d'admissions à l'hôpital dues à des maladies cardiaques
National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project B-14 (NSABP B-14) ¹⁰⁴	2553	Le tamoxifène est associé avec une diminution du taux annuel de maladies coronariennes
NSABP P-1 ¹⁰⁵	13 388	Le tamoxifène n'a aucun effet sur le taux annuel de maladies cardiaques ischémiques
Early Breast Cancer Trialists Collaborative Group ¹⁰⁶	36 689	Le tamoxifène n'a aucun effet sur le décès dus à des événements cardiaques ou vasculaires

Une des plus grosses controverses reliées avec le TAM sont les effets néfastes au niveau de l'endomètre. L'administration du TAM est associé à quelques observations bénignes d'épaississement de l'endomètre, de polypes (tumeurs muqueuses bénignes) au niveau de l'endomètre¹⁰⁷. Par contre, la condition utérine la plus sérieuse

associée à l'utilisation du TAM est le cancer de l'endomètre. Le risque est augmenté de deux à quatre fois comparé au placebo selon de grosses études cliniques randomisées ^{106;108}.

De plus, il a été démontré dans l'étude NSABP-1 que les incidences de thrombophlébites veineuses profondes ont été augmentées chez les femmes traitées au TAM¹⁰⁵.

1.5.2 Mécanisme moléculaire expliquant le caractère distinct des SERMs

Les SERMs sont des agonistes partiels, c'est-à-dire qu'ils vont agir comme agonistes dans certains tissus et dans d'autres, ils vont agir comme antagonistes. Cette propriété dépend de la structure du composé, qui permet alors de déterminer l'affinité du ligand pour son récepteur. De plus, la propriété agoniste partielle des SERMs dépend aussi d'un ensemble de molécules qui interagissent avec le récepteur aux oestrogènes après liaison du ligand ¹⁰⁹. Ces molécules correspondent aux corégulateurs. Aussi, le caractère agoniste partiel du TAM dépend aussi de la distribution des isoformes du ER. Et finalement, le caractère agoniste partiel du TAM dépend aussi de la concentration d'oestrogènes.

1.5.2.1 Dépendance au niveau de la structure

Les divers composés SERM induisent des changements de conformation différentes au niveau du récepteur aux oestrogènes. On

a démontré par cristallographie celle-ci que la dimérisation de différents complexes ligands-récepteurs induit des conformations différentes au niveau du domaine de liaison du ligand dans les deux isoformes du ER. De plus, les complexes TAM-ER et le complexe raloxifène-ER induisent des structures qui sont différentes de celles que l'on retrouve en absence de ligand¹¹⁰⁻¹¹⁴ Il est aussi important de noter que les isoformes du ER, c'est-à-dire ER α et ER β possèdent une structure similaire, mais non-identique.

1.5.2.2 Dépendance des coactivateurs/corépresseurs

Comme cela a été mentionné précédemment, l'oestradiol améliore l'activité transcriptionnelle du ER en favorisant son interaction avec des coactivateurs. Lorsque le TAM est lié au ER, ces coactivateurs (par exemple, SRC, p300/CBP, p68 RNA hélicase et L7/SPA), augmentent l'activité agoniste du ER et favorisent la transcription¹¹⁵⁻¹¹⁹. De plus, dans des lignées cellulaires où le TAM stimule l'activité du ER, les coactivateurs de type SRC sont nécessaires pour qu'il y ait une réponse agoniste¹¹⁷. Aussi, lorsque le coactivateur L7/SPA est recruté, son interaction avec le ER est favorisé en présence du TAM, mais pas avec l'oestradiol¹¹⁵. Donc, les SERMs auraient un rôle important dans la régulation de l'interaction entre le récepteur et le corégulateur¹²⁰.

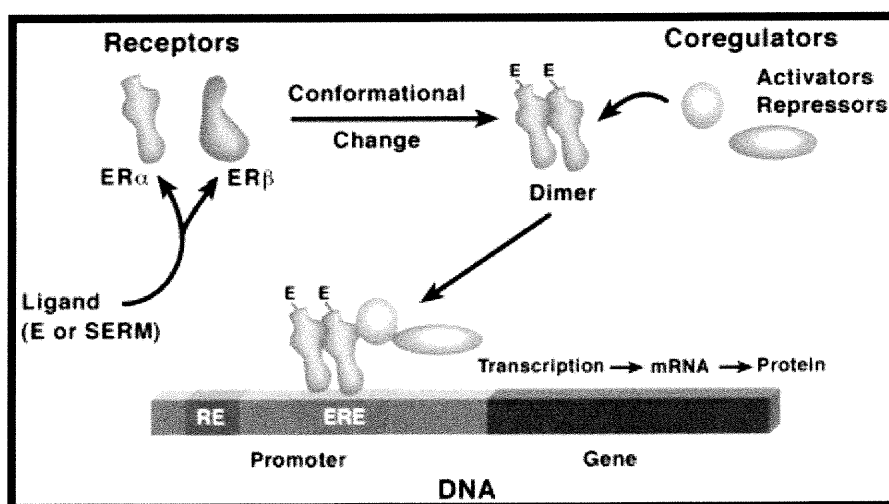
Dans le cas des corépresseurs comme SMRT et N-CoR, ces derniers réduisent l'activité agoniste du TAM, mais pas celui de l'oestradiol¹¹⁵⁻¹¹⁷. Si on bloque la fonction de ces corépresseurs, ceci promouvoit l'activité agoniste du TAM dans les cellules où ce dernier

agirait normalement comme un antagoniste ¹¹⁷. Donc, les corépresseurs augmentent l'activité antagoniste du TAM en empêchant la transcription des gènes.

1.5.2.3 Dépendance de l'isoforme du ER

Dans des cellules transfectées avec un gène rapporteur sous le contrôle de l'élément de réponse aux oestrogènes, le TAM agit comme un agoniste lorsqu'il est lié à ER α et comme un antagoniste pur lorsqu'il est lié à ER β ¹²¹. Lorsque les deux isoformes de ER sont présents dans la même cellule, leur réponse combinée suite à la liaison du ligand de type SERM peut être différente de la réponse générée par chaque isoforme individuellement, et dépend plutôt de la proportion de ER α et de ER β présent ^{78;122}. Le fait que la distribution de ER α et de ER β varie selon le tissu ⁷⁸ et peut générer une réponse différente selon le composé SERM lié, ceci peut partiellement expliquer la raison pourquoi les SERM agissent de façon tissu-sélective ¹²⁰ (voir la figure 6, page 31).

Figure 6- Le mécanisme d'activation de la transcription des gènes par le récepteur aux oestrogènes.



E= Oestrogène; SERM= Modulateur sélectif du récepteur aux oestrogènes; RE= Élément de réponse; ERE= Élément de réponse du récepteur aux oestrogènes; ER = Récepteur aux oestrogènes de type α et β . Figure tirée de Selective estrogen receptor modulators : structure, function and clinical use, J Clin Oncol vol 18 No7, septembre 2000, p.3176

1.5.2.4 Dépendance de la concentration des oestrogènes

Les effets du TAM sont variés et reflètent la complexité de son mécanisme d'action. En effet la concentration en oestrogènes influence le caractère agoniste partiel du TAM. Dans une étude effectuée par Kalu et al., ces derniers ont étudié les effets séparés et combinés du TAM et des oestrogènes au niveau de la densité osseuse de la rate OVX¹²³. L'OVX favorise la perte osseuse. Les oestrogènes préviennent la perte osseuse chez la rate OVX en augmentant le volume des os. Le même résultat peut être remarqué avec le TAM, mais l'effet est moindre. Parcontre, en combinaison avec les oestrogènes, le TAM réduit l'effet de la conservation osseuse. Donc, la présence d'oestrogènes a une influence sur l'effet du tamoxifène¹²³

CHAPITRE 2
L'HYPERTENSION ET LES AGENTS
VASOCONSTRICTEURS

2.1 L'HYPERTENSION

L'hypertension est définie comme étant une tension artérielle systolique d'au moins 140 mmHg ou une tension artérielle diastolique dépassant la valeur de 90 mmHg ¹²⁴. Plus la tension artérielle est élevée, plus les risques de problèmes cardiovasculaires et cérébraux sont grands. Selon une étude effectuée en 1999 par la Fondation des Maladies du Coeur, près de cinq millions de Canadiens et de Canadiennes, soit une personne sur cinq, souffrent d'hypertension artérielle¹²⁵. Ce qui est encore plus alarmant c'est que plus de 42% des hypertendus Canadiens ignorent qu'ils le sont¹²⁵.

Bien que l'hypertension soit souvent asymptomatique, elle fatigue le coeur et endommage les artères. L'hypertension se développe en raison d'interactions complexes entre des gènes et des facteurs environnementaux qui influencent les mécanismes de régulation de la tension artérielle ¹²⁶. Les changements vasculaires reliés à l'hypertension sont associés à des facteurs humoraux et mécaniques qui modulent la signalisation résultant en la croissance de composants cellulaires dans la paroi du vaisseau. Ces changements peuvent être compensatoires, comme dans le cas du remodelage de la paroi vasculaire. Ce processus permet de normaliser la tension au niveau de la paroi de l'artère¹²⁶. Par contre, ces mêmes changements sont aussi maladaptifs, en contribuant à l'augmentation de la résistance périphérique et à l'élévation de la tension artérielle. L'hypertension prolongée est la principale cause de l'insuffisance cardiaque et rénale, des maladies vasculaires, de même que les ACV.

2.1.1 Changements vasculaires reliés à l'hypertension

La paroi des artères est composée de plusieurs types de cellules (cellule endothéliale, cellule du muscle lisse vasculaire et des fibroblastes), de même que des composés non-cellulaires comme ceux de la matrice extracellulaire¹²⁶. En temps normal, les cellules du muscle lisse vasculaire et la matrice extracellulaire sont responsables du maintien de l'intégrité de la paroi des artères¹²⁶.

L'hypertension est associée à une augmentation de la résistance périphérique, elle-même associée à des changements structuraux, mécaniques et fonctionnels des artérioles. Parmi les changements structuraux, on remarque une diminution du diamètre de la lumière de même qu'un épaississement de la média¹²⁶. Ceci correspond au processus de remodelage. Par contre, ces changements structuraux peuvent ne pas être associés à une croissance nette tels que démontrés dans des modèles de rats spontanément hypertendus¹²⁷ et chez des patients atteints d'hypertension essentielle¹²⁸. Le fait que des changements structuraux dans les vaisseaux de résistance peuvent être décrits par un réarrangement du contenu et non uniquement par la croissance est particulièrement importante puisque le terme remodelage sert à décrire n'importe quel changement structural tant au niveau vasculaire qu'au niveau du myocarde¹²⁹. Par contre, lorsqu'on parle d'un changement du rapport paroi sur lumière vasculaire sans qu'il n'y ait changement du contenu ni des caractéristiques de ce dernier, on utilise plutôt le terme remodelage de type eutrophique. De plus, lorsqu'on observe une diminution du diamètre de la lumière du

vaisseau , on emploie le terme de remodelage vers l'intérieur ou "inward remodeling" . Donc, dans le cas de l'hypertension essentielle on utilise le terme de remodelage eutrophique vers l'intérieur car on observe une augmentation du rapport paroi sur lumière vasculaire avec une diminution du diamètre sans qu'il n'y ait changement du contenu ¹²⁹. Ce type de remodelage permet de distinguer les changements structuraux observés au niveau d'un vaisseau sanguin d'un patient hypertendu par rapport à un vaisseau sanguin "normal". Parcontre, le rôle du remodelage dans la pathogénèse de l'hypertension essentielle demeure inconnu ¹²⁹.

2.1.2 Le coeur et l'hypertension

Il a été suggéré qu'il y a une augmentation des niveaux de collagène chez les patients atteints d'hypertension essentielle ¹³⁰. L'accumulation de collagène, une protéine de la matrice extracellulaire, a été observée au niveau du myocarde de patients hypertendus de même que ceux atteints d'hypertrophie ventriculaire gauche¹³⁰. Ce type d'hypertrophie est un bon indicateur de changements structuraux dans les grosses et petites artères ¹³¹. La fibrose cardiaque fait partie du processus de remodelage cardiaque chez les patients hypertendus. La fibrose correspond à une augmentation des concentrations de collagène résultant en une augmentation de la rigidité cardiaque ¹³¹. Le collagène de type I ,synthétisé et sécrété par des fibroblastes est de loin la forme prédominante contribuant à la fibrose¹³¹.

L'hypertrophie est aussi associée à des changements au niveau de l'expression des gènes cardiaques. On observe en particulier une augmentation de l'expression de l'ARNm du facteur natriurétique auriculaire ou ANF dans les ventricules. L'ANF découverte par Hatt et al. en 1976¹³² est une hormone peptidique produite par les oreillettes. Elle est libérée normalement sous l'influence de la distension des oreillettes suite à l'augmentation de la pression artérielle et ceci a pour conséquence de produire une vasodilatation généralisée³. Mais dans certains modèles expérimentaux de surcharge cardiaque, il a été démontré que l'ANF est exprimé dans les ventricules surchargés¹³³⁻¹³⁵. L'expression ventriculaire de l'ANF ainsi que d'autres peptides natriurétiques (de type-C ou celui retrouvé dans le cerveau) est considérée comme le meilleur marqueur biologique de surcharge ventriculaire. L'expression ventriculaire de l'ANF est associée à une augmentation de la biosynthèse de l'ANF au niveau des oreillettes, une diminution de son entreposage dans les oreillettes et une augmentation de sa sécrétion. L'appareil de Golgi, un organelle cytoplasmique localisé proche du noyau, paraît plus dense et contient un grand nombre de granules de sécrétion^{136;137}.

Les changements structuraux liés à l'hypertension sont accompagnés par de changements fonctionnels au niveau des artérioles. Ces changements contribuent à une augmentation de la réponse vasoconstrictrice de même qu'une élévation du tonus vasculaire. Les changements comprennent une meilleure réactivité aux agents vasoconstricteurs ou une diminution de la vasodilatation

L'interaction entre les facteurs humoraux et mécaniques mène à des voies de signalisation qui influencent les changements artériolaires reliés à l'hypertension. Au niveau des changements d'ordre mécanique sur les vaisseaux sanguins résultant de l'hypertension, il y a les forces de cisaillement, l'étirement sur le vaisseau et la pression ¹²⁶. Parmi les facteurs humoraux qui ont un rôle dans la pathologie de l'hypertension, on retrouve des agents vasoconstricteurs (l'angiotensine II, l'endothéline-1, les catécholamines et la vasopressine); des agents vasodilatateurs (le monoxyde d'azote et les peptides natriurétiques); et finalement des facteurs de croissance ¹²⁶.

Dans la majorité des cas, l'hypertension est dite essentielle, c'est-à-dire qu'il n'y a pas de cause identifiée. Mais certains facteurs comme l'obésité, l'alimentation, l'hérédité et l'origine ethnique peuvent avoir une influence sur l'apparition de l'hypertension ³. L'augmentation de certains facteurs humoraux comme l'angiotensine II et les catécholamines contribuent aussi dans la pathogénèse et la persistance de l'hypertension.

2.2 LE SYSTÈME RÉNINE-ANGIOTENSINE

La faible incidence de maladies cardiovasculaires chez les femmes préménopausées et une augmentation de ce risque après la ménopause, suggèrent le rôle bénéfique des oestrogènes ¹³⁸⁻¹⁴⁰. Il a été démontré que les oestrogènes ont une influence directe sur les cellules vasculaires de même que sur les myocytes cardiaques. Les

cellules du muscle lisse vasculaire, les myocytes et les fibroblastes cardiaques contiennent toutes des récepteurs aux oestrogènes fonctionnels^{30;141;142}. Aussi, de plus en plus de résultats démontrent l'implication des oestrogènes au niveau du système rénine-angiotensine (RAS), se référer aux sections 2.2.2.2 et 2.2.3.1.2.

2.2.1 L'Angiotensine II

L'Angiotensine II (AII), est une hormone que l'on retrouve dans la circulation sanguine. Elle est produite dans la circulation via une cascade enzymatique impliquant la rénine et l'angiotensine. La rénine est une enzyme sécrétée par les cellules juxtaglomérulaires en réponse à des diminutions de la pression de perfusion rénale ou par une augmentation du tonus sympathique. La rénine permet la conversion de l'angiotensinogène en un décapeptide angiotensine I (AI)¹⁴³. Par la suite ce dernier est converti en un octapeptide actif, AII, par l'enzyme de conversion de l'AII (ECA); voir la figure 7, p.40.

Figure 7- L'Angiotensine II est l'hormone principale du système rénine-angiotensine

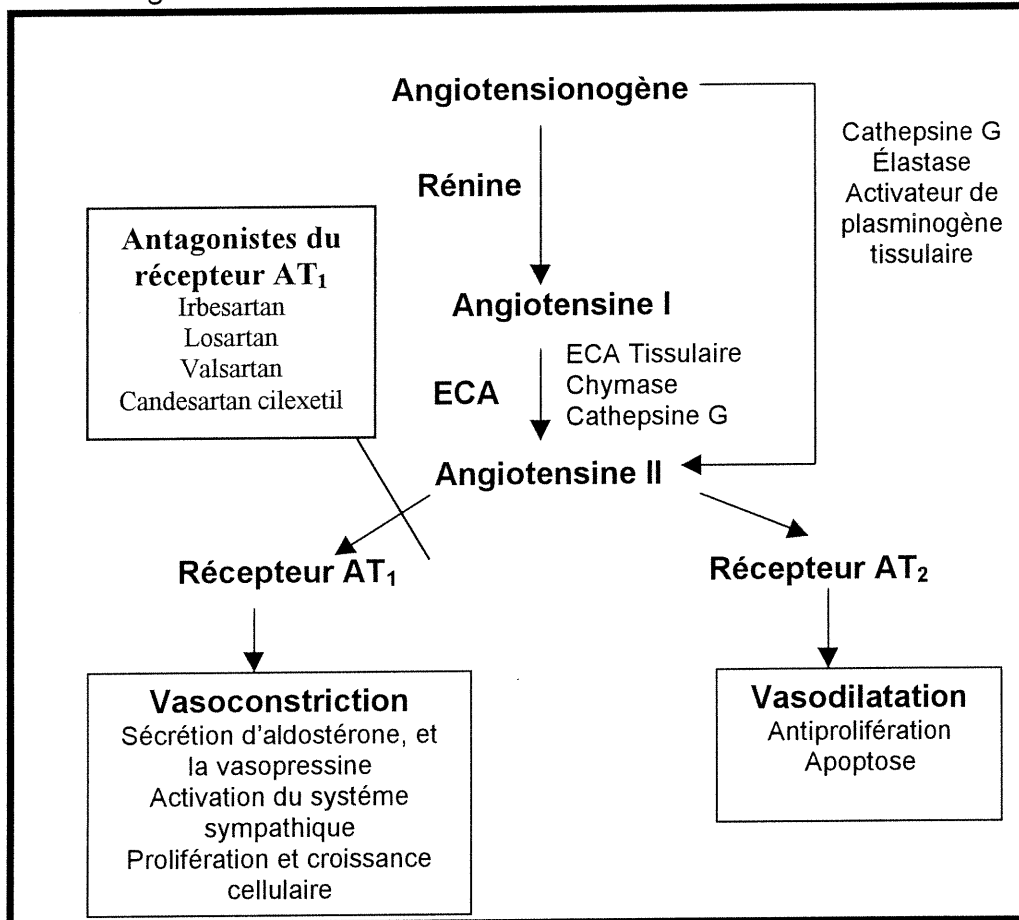


Figure modifiée de Angiotensin II receptor blockers : review of the binding characteristics, Am J Cardiol vol 84, No 10A, novembre 1999, p.4S

2.2.2 L'enzyme de conversion de l'All

L'ECA est une carboxypeptidase qui se retrouve à la surface de la cellule endothéliale au niveau des poumons et joue un rôle clé au niveau du RAS en permettant la conversion de l'AI en All¹⁴⁴. En même temps, la bradykinine (BK) est dégradée par l'ECA. La BK est un agent

vasodilatateur au niveau des artères périphériques ¹⁴⁴⁻¹⁴⁶. De plus, l'angiotensine (1,7) [Ang -(1,7)] qui est un métabolite actif de l'AI, permet la dilatation des artères coronaires par libération du NO ou en potentialisant l'efficacité de la BK. L'[Ang -(1,7)] peut être dégradé et inactivé par l'ECA ¹⁴⁷. Donc, la réduction de l'activité de l'ECA mène non seulement à une atténuation de la production de l'All mais aussi à une diminution de la dégradation de la BK de même qu'une augmentation du vasodilatateur [Ang -(1,7)].

2.2.2.1 Utilisation d'un inhibiteur de l'ECA (IECA)

Les IECA sont couramment employés dans le traitement de l'hypertension en empêchant la conversion de l'AI en All, et en diminuant de façon efficace la tension artérielle. Les IECA permettent de bloquer la dégradation de la BK et potentialisent la capacité de la BK à diminuer la tension artérielle et à stimuler la libération de l'activateur de plasminogène tissulaire à partir des vaisseaux ¹⁴⁸. Ce dernier favorise la dégradation des caillots de fibrine; voir la figure 3, Effet antithrombolytique des oestrogènes, page 29. Mais l'utilisation d'un IECA comporte des désavantages dont la production d'une toux sèche, de l'angio-oédème et la dysfonction rénale ¹⁴⁹. L'accumulation de la BK semble être la cause de l'apparition de ces effets secondaires ¹⁵⁰. De plus, les IECA ne peuvent pas empêcher la formation de l'All générée par des voies indépendantes de l'ECA ¹⁵¹.

Le RAS a été détecté dans divers tissus comme le rein, les vaisseaux sanguins et le coeur. Mais, il a été reconnu récemment, que

le RAS module aussi les fonctions paracrines de l'Angiotensin II (AII) et celui-ci peut jouer un rôle plus important dans le système cardiovasculaire^{152,153}. En effet, ce rôle paracrine pourrait contribuer à la pathologie de l'insuffisance cardiaque. Le RAS facilite la libération de catécholamines provenant des terminaisons nerveuses sympathiques, stimule l'hypertrophie cardiaque et contribue à la prolifération des cellules du muscle lisse dans le vaisseau sanguin endommagé^{152,153}. Il existe plusieurs façons de bloquer le RAS : soient en employant des inhibiteurs de la rénine, des IECA ou des antagonistes du récepteur de l'Angiotensin II. L'utilisation des deux premiers inhibiteurs sont moins conseillés car premièrement, il existe des enzymes autre que la rénine comme le complexe tonine-alpha 1-macroglobuline qui peuvent convertir l'angiotensinogène à l'Angiotensin I (AI)¹⁵⁴ et deuxièmement, l'Angiotensin II peut aussi être produite par des voies indépendantes de l'ECA. L'Angiotensin II peut en effet provenir de l'angiotensinogène via la cascade rénine-ECA. Elle peut aussi être formée à partir de l'AI par l'entremise d'autres enzymes comme la chymase, que l'on retrouve en quantités abondantes dans le coeur et les vaisseaux sanguins^{155,156}. L'Angiotensin II peut aussi être formée directement de l'angiotensinogène à l'aide de la cathepsine G ou de l'élastase. Cette dernière est libérée par les neutrophiles aux sites d'inflammation à l'intérieur ou autour des vaisseaux sanguins. Finalement, l'Angiotensin II peut être formée directement à partir de l'angiotensinogène par l'activateur de plasminogène tissulaire¹⁴³ (voir la figure 7, p.40).

2.2.2.2 Lien entre l'ECA et les oestrogènes

Il a déjà été montré précédemment que l'activité de l'ECA est réduite dans deux modèles d'administration d'hormonothérapie en postménopause. Dans une étude effectuée par Brosnihan et al. sur l'effet des oestrogènes chez des singes ménopausées chirurgicalement, les auteurs ont observé une diminution de l'activité de l'ECA et une diminution des niveaux d'All¹⁵⁷. De plus, la ERT permet de diminuer l'activité de l'ECA sérique chez des rates ovariectomisées normotendues et des rates ovariectomisées transgéniques (mRen2)27 hypertendues¹⁵⁸. Ces rates contiennent un gène supplémentaire de la rénine provenant de la souris. L'injection d'oestrogènes est associée à une diminution de l'hypertension chez les rates transgéniques et une diminution de la pression artérielle chez les rates normotendues. Ces résultats démontrent que les oestrogènes pourraient médier en partie leur effet cardioprotecteur en modulant l'activité de l'ECA¹⁵⁸. Dans une autre étude par Gallagher et al., ceux-ci ont démontré que le traitement aux oestrogènes module l'activité de l'ECA tissulaire en diminuant les concentrations de l'ARNm de l'ECA. Ces auteurs suggèrent que les effets bénéfiques reliés à l'utilisation des oestrogènes est probablement dû à une régulation négative de l'ECA accompagné d'une réduction des niveaux circulants d'All¹⁵⁹.

2.2.3 Les récepteurs de l'All

Lorsque l'All est formée, elle se lie aux récepteurs spécifiques à l'angiotensine, les active et produit de nombreux effets. Chez l'humain, on distingue deux types de récepteurs à l'angiotensine, soit les

récepteurs All de type 1 (AT₁) et All de type 2 (AT₂). Ces derniers partagent 34% d'homologie de séquence. Ces récepteurs font partie de la famille des récepteurs à sept domaines transmembranaires, caractéristiques de la superfamille des récepteurs couplés aux protéines G. Ces deux récepteurs possèdent la même affinité pour l'All¹¹³. Chez les adultes, la majorité des récepteurs de l'All sont sous la forme AT₁ alors que le sous-type AT₂ est plus impliqué lors du développement foetal¹¹³ (voir la figure 7, page 40).

2.2.3.1 Le récepteur AT₁

La liaison de l'All au récepteur AT₁ module les effets liés à la vasoconstriction. L'All peut mener à long-terme à la croissance de vaisseaux sanguins et à la prolifération résultant en un épaississement et au durcissement de la paroi du vaisseau³.

Au niveau endocrinien, la stimulation du récepteur AT₁ permet la libération de plusieurs hormones dont le premier est l'aldostérone. Ce dernier régit la réabsorption du sodium par les reins et les concentrations d'électrolytes et d'eau associées au transport du sodium³. Deuxièmement, il y a libération des catécholamines provenant de la glande surrénale comme l'épinéphrine (sécritée majoritairement) et la norépinéphrine (sécritée minoritairement). En situation de stress ou d'urgence, ceci amorce la réaction de lutte ou de fuite au niveau de l'organisme et active le système nerveux sympathique. Ce dernier va influencer plusieurs fonctions physiologiques dont l'élévation de la glycémie, la vasoconstriction et une élévation de la pression artérielle³. Dans le coeur, la stimulation

du récepteur AT₁ mène à un effet inotrope, favorisant la libération des catécholamines des terminaisons nerveuses présynaptiques²⁰.

Finalement, la stimulation du récepteur AT₁ permet la sécrétion de l'hormone antidiurétique ou vasopressine au niveau de l'hypophyse postérieure³. Cette hormone stimule la réabsorption de l'eau par les tubules du rein et permet une augmentation du volume sanguin et une élévation de la pression artérielle.

Deux caractéristiques de l'hypertension sont l'hypertrophie et la fibrose cardiaque. L'All stimule l'hypertrophie au niveau des myocytes cardiaques. L'hypertrophie du ventricule gauche et l'apparition de la fibrose sont reliés à l'activation du RAS. L'All agit comme un facteur de croissance au niveau des cellules du muscle lisse et sur les myocytes cardiaques. L'All est un bon indicateur de l'accumulation anormale de protéines de la matrice extracellulaire lors de la détection de maladies cardiovasculaires. Des études cliniques ont pu démontrer que le traitement avec des antagonistes du récepteur AT₁ peut renverser l'hypertrophie du ventricule gauche chez les patients hypertendus¹⁶⁰.

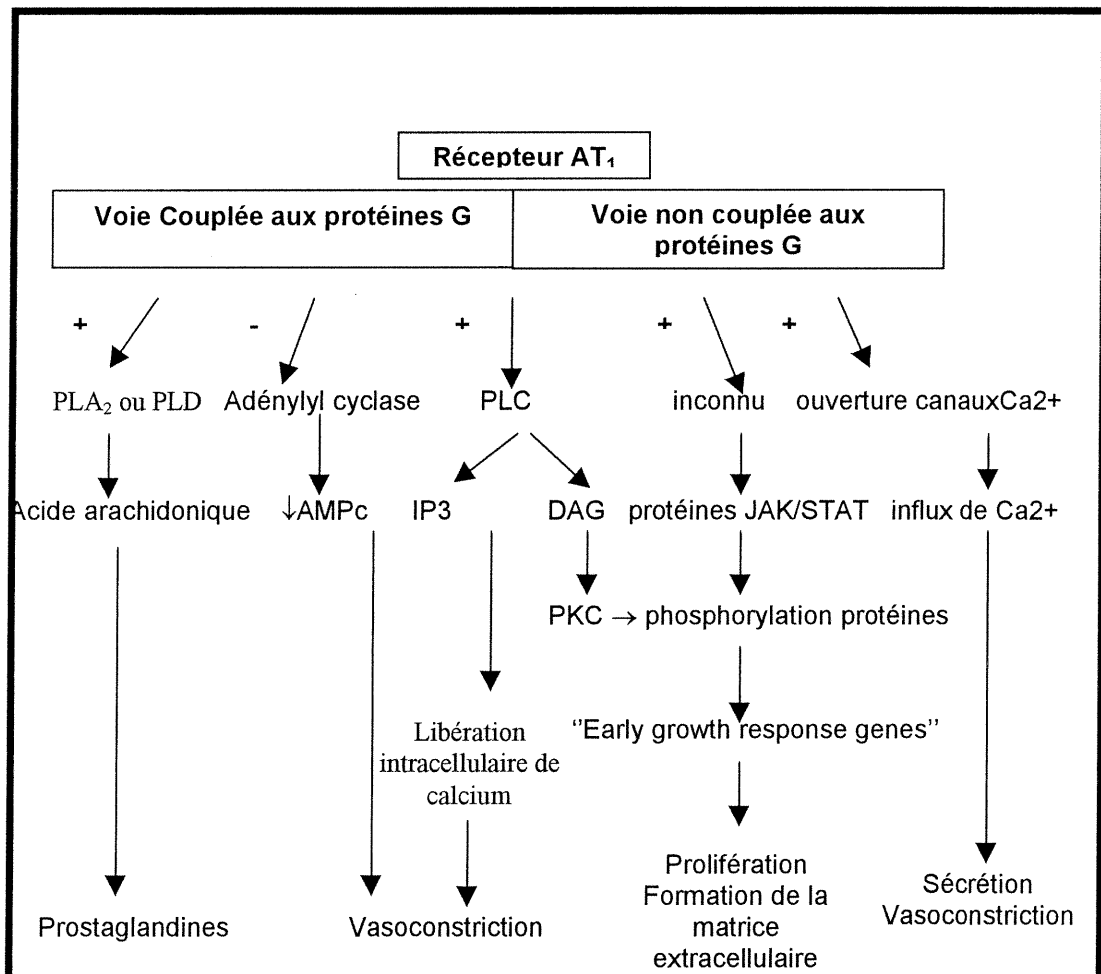
2.2.3.1.1 Les voies de signalisation du récepteur AT₁

La liaison de l'All sur le récepteur AT₁ mène à l'activation de plusieurs systèmes de second messagers¹⁶¹ (voir la figure 8, page 47). L'All participe à la vasoconstriction via différents mécanismes. Premièrement, la stimulation du récepteur AT₁ active la phospholipase C (PLC), qui permet l'hydrolyse du phosphatidyl 4,5-biphosphate pour

former de l'inositol 1,4,5-triphosphate (IP3) et du diacylglycérol (DAG)¹⁶². L'IP3 favorise la libération du calcium intracellulaire et permet la contraction du muscle lisse alors que le DAG augmente l'activité de la protéine kinase C (PKC)¹⁶¹. De plus, il a été démontré récemment que la famille de kinases de type PKC jouent un rôle dans la régulation de canaux calciques de type L cardiaques en inhibant le courant calcique par phosphorylation¹⁶³. Deuxièmement, la stimulation du récepteur AT₁ inhibe l'adénylyl cyclase et mène à une diminution de l'AMPc. Ce dernier est un vasodilatateur. La diminution d'AMPc suite à l'activation du récepteur AT₁ aurait un rôle dans la vasoconstriction induite par l'Ang II. Troisièmement, l'activation du récepteur AT₁ permet l'ouverture de canaux calciques favorisant l'entrée de calcium dans la cellule. Ce mécanisme contribue probablement à la stimulation de la production de l'aldostérone médiée par l'Ang II¹⁶¹. Quatrièmement, la stimulation du récepteur AT₁ mène à l'activation des phospholipases A2 et D qui sont toutes les deux responsables de la génération des prostaglandines. L'influence de l'Ang II sur la synthèse des prostaglandines est illustrée dans une étude où des rats, privés de sodium pendant une période de cinq jours et les chercheurs ont quantifié la production de prostaglandine E2 rénale interstitielle par microdialyse^{164;165}. Comparé aux rats ayant eu un apport de sodium normal, l'absence de sodium mène à une augmentation de l'activité du RAS. Ceci est associé à une augmentation de la production de la prostaglandine E2. Ces résultats indiquent que la stimulation du récepteur AT₁ est responsable de la génération de la prostaglandine E2 qui possède des propriétés proinflammatoires. Chez les patients souffrant d'athérosclérose ou chez les patients ayant survécu à un infarctus du myocarde, on peut observer de la nécrose de même que

de l'inflammation suite à la production de prostaglandines. Il semble que le blocage du récepteur AT₁ peut améliorer l'inflammation médiée par les prostaglandines. Aussi, l'activation du récepteur AT₁ stimule la phosphorylation des résidus tyrosine au niveau des protéines, et active les MAP kinases, les Janus kinases et les protéines de type "Signal transducers and activators of transcription proteins" (STAT)^{162;166}. Ces voies de phosphorylation de protéines résultent en l'activation de gènes "early growth response", qui contrôlent la prolifération cellulaire et l'hypertrophie¹⁵¹.

Figure 8- Le récepteur AT₁ induit plusieurs voies de signalisation qui sont couplées ou non aux protéines G



PLA2/D= Phospholipase A2 ou D; AMPc= Adénosine monophosphate cyclique; PLC= Phospholipase C; IP3= Inositol triphosphate; DAG= Diacylglycérol; PKC= Protéine kinase C; JAK= Janus kinases; STAT= Transducteurs de signal et activateurs de la transcription. Figure modifiée de Angiotensin II receptor blockers : review of the binding characteristics, Am J Cardiol vol 84, No 10A, novembre 1999, p.5S

2.2.3.1.2 Régulation du récepteur AT₁ par les oestrogènes

L'expression du récepteur AT₁ est sujette à la régulation des oestrogènes. La régulation positive ou négative des récepteurs AT₁ contrôle l'activité du RAS. Une étude effectuée par Nickenig et al. en 1998 démontre qu'un traitement à l'oestradiol pendant une période de cinq semaines permet une régulation négative du récepteur AT₁ au niveau des cellules en culture du muscle lisse vasculaire de la rate ovariectomisée (OVX). Lorsque ce dernier n'a pas eu de traitement aux oestrogènes, la densité des récepteurs AT₁ au niveau des cellules en culture du muscle lisse vasculaire a augmenté de 160% suite à des essais de radioligand ("binding assay"). Les niveaux d'ARNm du récepteur AT₁ ont été augmentés jusqu'à 187% dans les rates OVX comparé aux rates témoins. Un traitement aux oestrogènes chez la rate OVX a renversé la surexpression du récepteur AT₁. Pour comprendre le mécanisme sous-jacent, les auteurs ont étudié l'influence directe de l'oestradiol sur l'expression du récepteur AT₁ au niveau des cellules du muscle lisse vasculaire. Le traitement avec de l'oestradiol à une dose de 1µM mène à une diminution dépendante du temps de l'expression de l'ARNm des récepteurs AT₁, atteignant un pourcentage maximal de 33.3% après douze heures de temps. Une

diminution de la densité des récepteurs est corrélée à la diminution de l'expression de l'ARNm du récepteur AT₁. Cette observation démontre qu'il existe un lien entre l'absence d'oestrogènes et la présence d'hypertension ou d'athérosclérose car l'activation du récepteur AT₁ joue un rôle important dans la régulation de la tension artérielle et dans la croissance des cellules vasculaires¹⁶⁷.

2.2.3.2 Le récepteur AT₂

Au début de années 90, presque tous les rôles biologiques de l'Ang II ont été attribués au récepteur AT₁ lorsque le rôle du récepteur AT₂ était inconnu. Ceci est dû à son faible niveau d'expression comparé au récepteur AT₁¹⁶⁸. Mais depuis les cinq dernières années, plusieurs études démontrent que les récepteurs de type AT₂ possèdent des fonctions opposées au récepteur de type AT₁. Alors que ce dernier médie des effets vasoconstricteurs et proliférateurs, le récepteur AT₂ médie les effets vasodilatateurs et antiprolifératifs.

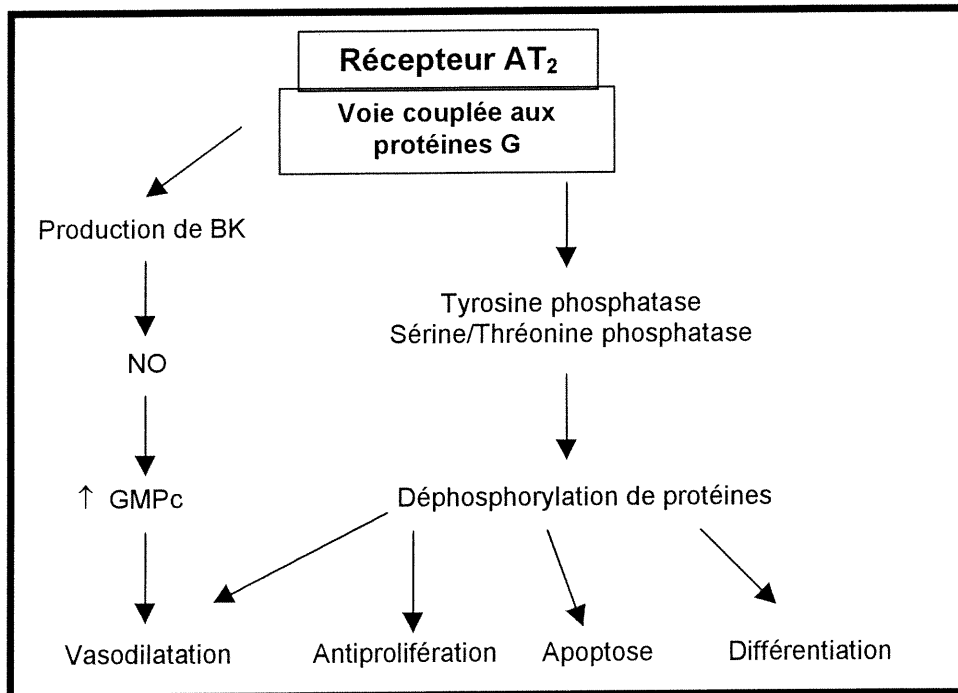
La stimulation du récepteur AT₂ mène à la déphosphorylation de protéines régulatrices cellulaires¹⁶⁹. En effet, il a été démontré que la stimulation du récepteur AT₂ permet l'activation d'une phosphatase qui permet d'inactiver les MAP kinases p42 et p44. Ces dernières sont mieux connues sous le nom de ERK (extracellular signal regulated kinases)¹⁷⁰. Ce mécanisme semble expliquer les effets attribués à l'activation des récepteurs AT₂ dont des effets antiprolifératifs, l'apoptose, et la vasodilatation^{171;172}. Les effets antiprolifératifs de l'Ang II sur le récepteur AT₂ ont été observés au niveau de plusieurs types de cellules dont les cellules endothéliales, les cardiomyocytes néonataux

et les fibroblastes cardiaques de même que les cellules du muscle lisse vasculaire¹⁷³.

De nombreuses données ont démontré l'implication du récepteur AT₂ dans le processus de l'apoptose. En 1996, l'équipe de Yamada et al a suggéré que la stimulation du récepteur AT₂ par l'Ang II au niveau des cellules PC12W permet l'activation d'une phosphatase, la MAP kinase phosphatase 1 et stimule ainsi l'apoptose¹⁷¹. Les cellules PC12W sont des cellules qui expriment de hauts niveaux de récepteurs AT₂ et elles se différencient en des cellules semblables aux cellules neuronales en présence d'un facteur de croissance nerveux. Ce modèle permet de vérifier la mort cellulaire programmée dans les cellules neuronales¹⁷⁴.

Siragy et al. ont démontré que la stimulation du récepteur AT₂ par Ang II mène à la production de la bradykinine suivie d'une libération de NO. Ce dernier entre dans la cellule du muscle lisse vasculaire, stimule la guanylate cyclase et mène à une élévation de la guanosine monophosphate cyclique (GMPc). Ceci stimule des protéines kinases et permettent la phosphorylation de canaux potassiques. Ces derniers vont favoriser la relaxation des cellules du muscle lisse vasculaire et génèrent une vasodilatation¹⁷⁵. Donc, le récepteur AT₂ semble jouer un rôle protecteur dans la régulation de la tension artérielle (voir la figure 9, page 51).

Figure 9- L'activation du récepteur AT₂ contribue à la réponse vasodilatatrice et antiproliférative



cGMP=Guanosine monophosphate cyclique. Figure modifiée de Angiotensin II receptor blockers : review of the binding characteristics, Am J Cardiol vol 84, No 10A, novembre 1999, p.7S

2.2.3.3 Les Antagonistes du récepteur AT₁

Le récepteur AT₁ est responsable des effets presseurs et trophiques de l'All et contribue dans l'apparition de plusieurs pathologies cardiovasculaires comme l'hypertension, l'hypertrophie du ventricule gauche, l'athérosclérose, etc. Lorsque l'All se lie sur le récepteur AT₁, ceci mène à l'activation de plusieurs voies de signalisation. Les effets manifestés suite à l'activation du récepteur AT₁

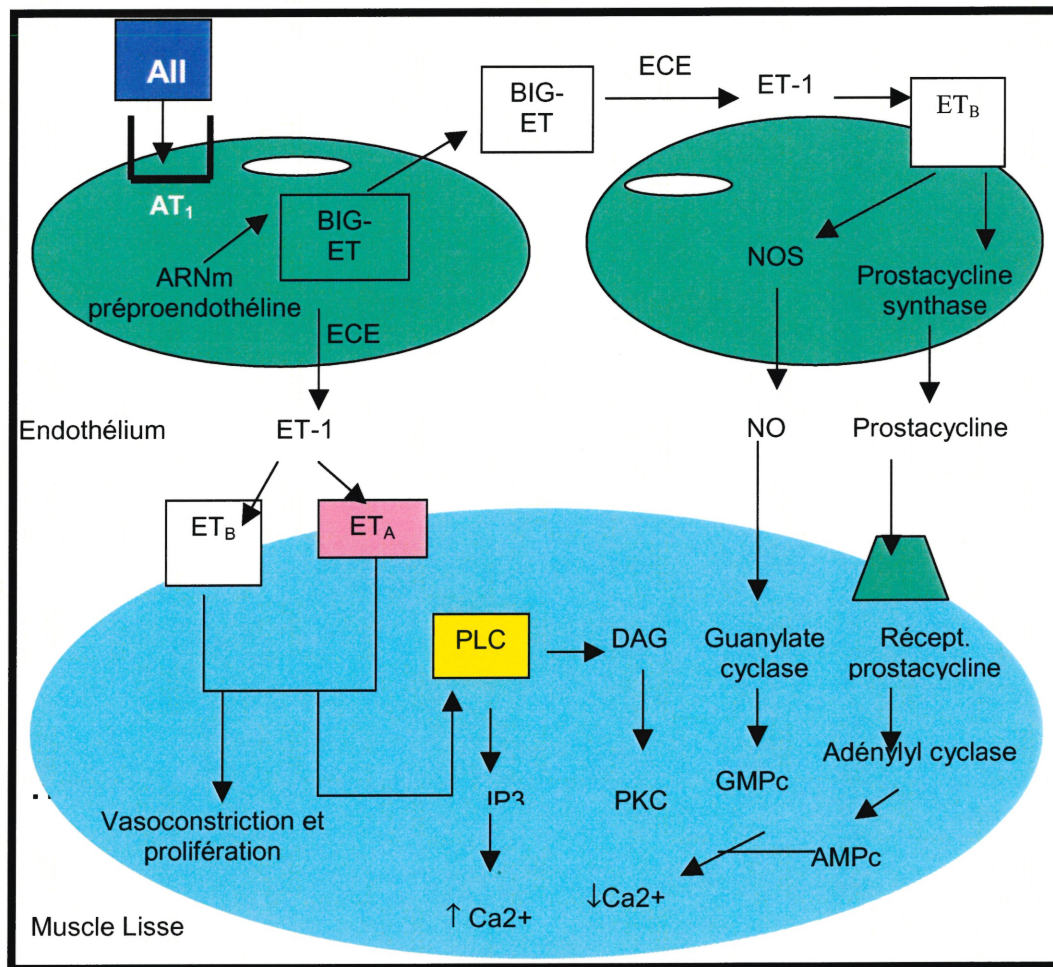
dépendent de la localisation anatomique du récepteur. Parmi les effets, on dénombre la vasoconstriction, la sécrétion de l'aldostérone et de la vasopressine, l'activation du système sympathique et l'hypertrophie au niveau vasculaire et cardiaque. Il existe présentement sur le marché des antagonistes du récepteur AT_1 qui bloquent de façon sélective le récepteur AT_1 sans affecter le récepteur AT_2 . Ces bloqueurs du récepteur AT_1 renversent les effets négatifs reliés à l'Ang II au niveau du coeur, des vaisseaux sanguins de même que d'autres organes. Parcontre, ces bloqueurs n'empêchent pas l'Ang II de se lier au niveau du récepteur AT_2 ¹⁵¹. Donc, le blocage du récepteur AT_1 n'affecte pas les effets potentiellement bénéfiques de l'Ang II au niveau du récepteur AT_2 . Parmi les antagonistes du récepteur AT_1 on retrouve l'irbesatan, le valsartan, le losartan, le candesartan et plusieurs autres.

2.3 LIBÉRATION DE SUBSTANCES VASODILATATRICES ET VASOCONSTRICTRICES AU NIVEAU DE L'ENDOTHÉLIUM

Dans les vingt dernières années, de nombreuses découvertes ont mis en évidence l'importance de l'endothélium vasculaire. Ce dernier joue un rôle important dans l'homéostasie du système cardiovasculaire. Les cellules endothéliales ont un rôle important au niveau du métabolisme et au niveau de la libération de substances vasodilatatrices et vasoconstrictrices; voir la figure 10, page 54. La première substance vasoactive endothéliale qui a été découverte, c'est la prostacycline. Celle-ci est une substance vasodilatatrice et elle inhibe l'aggrégation plaquettaire¹⁷⁶. Furchgott et Zawadski ont

démontré que la présence de l'endothélium est essentiel à la réponse vasodilatatrice de l'acétylcholine dans des préparations d'aorte de lapin isolé⁵³. Ces derniers ont postulé que l'effet vasodilatateur est produit via les récepteur muscariniques dans les cellules endothéliales et permet alors la libération d'une substance qui agit sur le muscle lisse et permet l'activation de mécanismes relaxants. Cette substance était nommée facteur relaxant dérivé de l'endothélium (EDRF, "endothelium-derived relaxing factor"). Suite à plusieurs tests, Furchgott¹⁷⁷ de même que Ignarro et al.¹⁷⁸ ont proposé que l'EDRF pouvait être le NO. Suite à la découverte du EDRF, il a été observé que dans certains lits vasculaires comme les veines périphériques, la présence de l'endothélium cause une vasoconstriction. Des tests ont révélé plus tard que l'endothélium peut libérer des facteur contractiles analogues au EDRF qui sont nommés facteurs contractiles dérivés de l'endothélium (EDCF; " endothelium derived contracturant factor"). L'existence d'un tel facteur s'est clarifiée en 1985 lorsqu'on a démontré que les cellules endothéliales en culture produisaient un facteur contractile dépendant de la présence du calcium extracellulaire^{179;180}. Ce facteur a été caractérisé en 1988 par Yaganisawa et al.¹⁸¹. La substance a été isolée au niveau des cellules endothéliales de l'aorte du porc, on l'a nommée endothéline ou endothéline-1 (ET-1). Elle a été isolée initialement au niveau de l'endothélium, mais elle est aussi exprimée au niveau du cerveau, du rein et du poumon¹⁸².

Figure 10- Le système de l'endothéline



Big ET= Proendothéline-1; DAG= Diacylglycérol; ECE= Enzyme de conversion de l'endothéline; ET-1= Endothéline-1; IP₃= Inositol triphosphate; NO= Mo-noxyde d'azote; NOS= NO synthase; PKC= Protéine kinase C; PLC= Phospholipase C. Figure modifiée de Endothelin receptor antagonists and their developing role in cardiovascular therapeutics, Can J Cardiol vol 16, No 7, juillet 2000, p.904

2.3.1 L'Endothéline

L'endothéline est une famille de peptides qui agit au niveau des cellules du muscle lisse vasculaire et des cellules endothéliales tout en produisant un effet vasopresseur puissant et de longue durée¹⁷⁶. L'endothéline possède trois isoformes soient l'ET-1, ET-2 (intestin) et ET-3 (neuronal). L'ET-1 étant la forme prédominante. Elle est synthétisée de façon constitutive et stimulée par l'entremise de plusieurs facteurs comme l'hypoxie, l'AngII, les catécholamines, les LDL oxydés, divers facteurs de croissance de même que les forces de cisaillement ou "shear stress". La traduction de l'ARNm de ET-1 mène à la formation du précurseur inactif soit la préproendothéline-1 (212 résidus d'acides aminés). Celle-ci se fait hydrolyser pour former la big ET-1, un acide aminé de 39 résidus. La big-ET se fait hydrolyser à son tour par l'enzyme de conversion de l'endothéline (ECE) pour former l'ET-1. La libération de ET-1 est dirigée surtout vers les cellules du muscle lisse vasculaire sous-jacentes. Une toute petite partie de ET-1 entre aussi dans la circulation¹⁸³. Les effets vasculaires de l'ET-1 sont médiés par deux types de récepteurs distincts: le récepteur ET_A (ET_A-R) et le récepteur ET_B (ET_B-R) (voir la figure 10, page 54).

2.3.1.1 Les récepteurs de l'endothéline

Les récepteurs de l'endothéline font partie de la famille des récepteurs couplés aux protéines G et transmettent leur signal en activant la phospholipase C (PLC) et en générant de l'inositol triphosphate (IP3) et du diacylglycérol (DAG). Les ET_A-R sont localisés au niveau des cellules du muscle lisse et modulent les effets

prolifératifs et vasoconstricteurs de l'ET-1. Les ET_B-R ont un rôle plus complexe et se retrouvent à deux endroits distincts tout en ayant des effets antagonistes. Ils prédominent au niveau de l'endothélium où il joue un double rôle de clairance¹⁸⁴⁻¹⁸⁷ et de vasodilatation^{188;189} via la libération de NO et de la prostacycline^{188;190;191}. Mais une partie des ET_B-R aussi présents sur les cellules du muscle lisse provoquent une vasoconstriction comme pour les ET_A-R^{192;193}.

2.3.2 Les antagonistes du récepteur de l'endothéline

Le rôle du système de l'endothéline dans la physiopathologie est évaluée à l'aide des antagonistes du récepteur de l'endothéline. Les premiers antagonistes développés ont été très utiles en recherche fondamentale mais leur nature peptidique empêche l'élaboration de projets d'étude clinique à long terme. Les agents peptidiques les plus couramment utilisés en recherche fondamentale et pré-clinique sont le BQ 123 (un antagoniste sélectif du ET_A-R) et le BQ 788 (un antagoniste sélectif du ET_B-R). Par la suite, de nombreux antagonistes non-peptidiques ont été développés. Ils peuvent être sous-divisés en deux catégories soient ceux ayant une activité sélective contre le ET_A-R ou ceux ayant une activité équilibrée ou mixte pour les ET_A-R et les ET_B-R. Parmi ces derniers, on retrouve le bosentan qui est un antagoniste non-sélectif des récepteurs ET_A et ET_B et qui est maintenant commercialisé.

D'Uscio et al. ont démontré que l'administration de l'All pour une période de deux semaines chez des rats mène à une élévation de la pression systolique et à l'apparition de la dysfonction endothéliale

¹⁹⁴. L'administration d'un antagoniste du ET_A-R , le LU 135 252 diminue la pression systolique chez les rats infusés à l'All et augmente les niveaux plasmatiques de l'ET-1. Cette diminution de la pression systolique peut être due au blocage sélectif du ET_A-R suivie d'une activation sélective du ET_B-R, qui favorise la libération d'agents vasodilatateurs comme la prostacycline et le NO¹⁹⁴.

2.3.3 L'All module la libération de l'ET-1

L'All a un effet sur la libération de l'ET-1. En effet, il a été démontré que l'All stimule la libération l'ET-1 au niveau des cellules du muscle lisse vasculaire¹⁹⁵ de même que des cellules endothéliales en culture¹⁹⁶. L'All peut aussi stimuler l'expression de l'ARNm de la préproendothéline, le précurseur de l'ET-1, de même l'expression du gène de l'ET-1 dans plusieurs types cellulaires dont les cellules endothéliales en culture du rat ¹⁹⁶et du boeuf¹⁹⁷. Cette stimulation a aussi été démontrée dans les cellules du muscle lisse vasculaire¹⁹⁵, les cardiomyocytes¹⁹⁸ et les cellules mésangiales du rein¹⁹⁹ provenant du rat. Il a aussi été démontré qu'une partie des effets hypertrophiques et mitogéniques de l'All étaient médiés par l'ET-1 tels que suggérés par des expériences d'inhibition de l'enzyme de conversion de l'ET-1 par le phosphoramidon¹⁹⁵ ou par des expériences d'inhibition du récepteur ET_A par des antagonistes sélectifs comme le BQ-123¹⁹⁸. De plus, l'ET-1 vasculaire peut amplifier l'effet vasoconstricteur de l'All. Ceci a été montré chez le rat normotendu et les chercheurs ont démontré que l'administration d'une dose d'ET-1 qui ne produit pas d'effet presseur permettait d'amplifier l'effet d'une dose non-presseur d'All, produisant alors une augmentation de la tension artérielle ²⁰⁰.

Finalement, les cellules endothéliales expriment des récepteurs AT₁ de l'angiotensine et la liaison de l'Ang II peut moduler la libération d'agents vasoactifs comme l'ET-1 et le NO²⁰¹.

2.3.4 La dysfonction endothéliale

L'équilibre entre les niveaux d'EDRF et des EDCF est essentiel pour la cellule endothéliale. Toute déviation de cette balance est définie comme étant une dysfonction endothéliale. Il est généralement accepté que des niveaux élevés d'ET-1 circulants sont associés à de nombreuses pathologies cardiovasculaires, comme l'infarctus du myocarde ou l'hypertension systémique¹⁸³. La dysfonction endothéliale survient après l'élévation de la pression artérielle. Donc la dysfonction endothéliale est une conséquence de l'hypertension systémique²⁰². Les mécanismes pouvant expliquer une telle situation sont multiples: ils vont d'une diminution de NO avec une augmentation concomitante de l'ET-1, à une élévation d'Ang II accompagnée d'une diminution des niveaux de BK, ce qui mène à une diminution de la production de NO²⁰³.

2.3.5 Rôle des oestrogènes dans la régulation de l'ET-1

Le nombre de patients mâles hypertendus avant la quarantaine dépasse celui des femmes hypertendues. Mais après la ménopause, le nombre de femmes hypertendues dépasse celui des hommes. En effet, l'hypertension est une des causes de décès principales chez les femmes. Selon le Heart and Stroke Statistical Update par la American Heart Association, trois fois plus de femmes meurent de l'hypertension et de ses complications que du cancer du sein. L'arrivée de la

ménopause génère une augmentation du nombre de cas d'hypertension chez la femme. Ceci suggère que les oestrogènes avaient un rôle protecteur sur la tension artérielle avant la ménopause. De nombreuses études ont démontré que les oestrogènes ont une influence importante au niveau de la régulation de facteurs humoraux comme l'Angiotensin II (Ang II) et l'ET-1 et ceci peut expliquer en partie pourquoi les femmes ont une incidence plus faible d'hypertension avant qu'après la ménopause. En effet, il a été démontré que l'absence d'hormones ovariennes fait augmenter les niveaux d'ARNm et peptidiques de l'ET-1²⁴⁴.

De récentes études cliniques ont permis de confirmer certains résultats expérimentaux obtenus il y a dix ans. Ceux-ci ont démontré qu'une déficience en oestrogènes est associée à une réduction de la vasodilatation endothélium-dépendante et que l'administration d'une ERT est capable de renverser le processus²⁰⁴. Cette relation étroite entre les concentrations sériques d'oestrogènes et la fonction endothéliale est appuyée par l'observation qu'une vasorelaxation dépendante de l'endothélium varie selon les niveaux d'oestrogènes pendant le cycle menstruel²⁰⁵. Chez les femmes postménopausées, la réduction de la fonction endothéliale est plus marquée que chez les hommes du même âge²⁰⁶. De plus, une réduction des niveaux sériques de NO a été remarquée chez les femmes ménopausées²⁰⁷. Bilsel et al. ont démontré que les oestrogènes jouent un rôle direct et indirect dans la régulation de l'expression et de la synthèse de l'ET-1 dans des cellules endothéliales en culture provenant du cordon ombilical humain²⁰⁸. Premièrement, le 17- β -oestradiol agit de façon directe sur l'ET-1 en modulant son expression. Deuxièmement, le 17-

β -estradiol agit de façon indirecte sur l'ET-1 en stimulant la production de NO. Plusieurs études ont été effectués démontrant qu'une partie des effets cardioprotecteurs des oestrogènes est attribuée au NO. Il est bien établi qu'un traitement aigu ou chronique d'oestrogènes mène à une augmentation de la synthèse de NO et celui-ci joue un rôle dans le tonus et dans la réactivité vasculaire^{209;210}. De plus, le NO inhibe la synthèse de l'ET-1. En effet, plusieurs études ont démontré que le NO réduit la production d'ET-1 dans les cellules endothéliales²¹¹⁻²¹³. Le NO active la guanylate cyclase soluble et permet l'augmentation des niveaux de GMPc dans les cellules endothéliales et favorise ainsi la vasodilatation²¹¹.

Ce résultat a été appuyé au niveau clinique. Les chercheurs ont pu démontré que la ERT mène à une augmentation du ratio NO/ET-1²⁰⁷. L'administration de la ERT après une période de six mois a permis de réduire les niveaux d'ET-1 à une valeur normale. Cette valeur a été déterminée par des études antérieures²¹⁴.

2.4 OBJECTIFS DU MÉMOIRE

L'objectif principal notre recherche est de trouver d'autres approches thérapeutiques qui pourraient diminuer l'incidence des maladies cardiovasculaires tout en minimisant les effets secondaires néfastes liés à l'ERT. Notre hypothèse de recherche est que le tamoxifène, un composé à activité agoniste partielle qui se lie sur le récepteur aux oestrogènes, ainsi que certains composés inhibant la vasoconstriction (Irbesartan, BMS 182 874) pourraient se révéler de meilleurs candidats que les oestrogènes utilisés de façon classique

dans l'ERT. Toutes ces études ont été effectuées sur le modèle du rat femelle ovariectomisé (OVX) de souche Sprague-Dawley. L'OVX bilatérale est une procédure chirurgicale où l'on enlève de façon chirurgicale les deux ovaires. L'OVX est aussi connue sous le nom de ménopause chirurgicale. L'OVX mène à une déficience d'hormones ovariennes dont les oestrogènes. Cette procédure chirurgicale est souvent effectuée chez des femmes qui ont un antécédent familial du cancer des ovaires. La technique chirurgicale de l'OVX bilatérale chez la rate Sprague Dawley a été employée antérieurement par l'équipe de Mohamed et al.²¹⁵ Les objectifs visés par ce projet sont :1) d'évaluer les effets de l'OVX à court terme au niveau des paramètres hémodynamiques et morphologiques au niveau du coeur et de l'utérus 2) de vérifier les effets du tamoxifène au niveau cardiovasculaire et 3) d'évaluer le rôle des agents vasoconstricteurs comme l'angiotensine II (AII) et l'endothéline-1 (ET-1) dans la progression de l'hypertension systémique (HS). La morphologie utérine de même que les effets des différents composés sur la fonction ventriculaire ainsi que sur l'hypertrophie et la fibrose cardiaques seront évalués.

CHAPITRE 3

MATÉRIEL ET MÉTHODES

3.1 OVARIECTOMIE

Des rats femelles Sprague-Dawley (âgées de 8 à 11 semaines; Charles River, St. Constant, Québec, Canada) ont été anesthésiées par injection intramusculaire (1cc/ kilogramme poids corporel) à l'aide d'un mélange de kétamine 50 mg/kg (Rogarsertic, Rogar / STB inc, London, Ont.) et de xylazine 10 mg/kg (Rompun, Bayer, Toronto, Ont.) avant d'entreprendre une chirurgie de type témoin ou une ovariectomie bilatérale. Les poils au niveau du dos de la rate ont été rasés et une incision de 2 cm était fait au niveau de la peau, exposant les muscles du dos. Une seconde incision d'environ 1 à 2 cm était effectuée au niveau du muscle donnant accès ainsi à chacun des ovaires. Les ovaires ont été dégagées et attachées à l'aide d'un fil de suture chirurgical pour fin d'excision. Les muscles et la peau ont été suturés séparément. L'animal a été refermé à l'aide d'agrafes chirurgicales (MikRon Autoclip 9 mm, Becton Dickinson, Spark, MD). Durant les sept jours subséquents, les animaux ont récupéré de l'opération avant le début des traitements. La procédure a été approuvée par le Conseil Canadien pour la protection des animaux de même que le Comité de déontologie animale de l'Institut de Cardiologie de Montréal.

3.2 TRAITEMENTS

Chaque groupe de rates avant l'administration des traitements a été maintenu dans des cages et ont reçu des granules de nourriture de rats et de l'eau *ad libitum*. Une semaine post-chirurgie, les granules de nourriture ont été remplacées par un des trois traitements suivants: un antagoniste du récepteur AT1, Irbesartan (40 mg/kg poids corporel;

Bristol Myers Squibb, Canada), un modulateur sélectif du récepteur aux oestrogènes, le tamoxifène (10 mg/kg poids corporel ; Sigma) ou un antagoniste du récepteur ETA de l'endothéline, le BMS 182874 (60 mg/kg/jour). Tous ces traitements ont été incorporés dans de la nourriture de rat en poudre (Lab Diet 5012 rat diet, Richmond, Indiana). Les animaux témoins et ovariectomisés non traités recevaient de l'alimentation en poudre mais sans addition de médicaments. Les traitements ont été étalés sur une période de deux semaines après quoi les animaux sont sacrifiées.

Tableau II - Nombre d'animaux dans chaque groupe et le type de traitement administré

Type/ Durée du traitement	Nombre d'animaux
Témoin, 3 semaines	11
OVX, 3 semaines	7
Témoin, 6 semaines	10
OVX, 6 semaines	8
Témoin, 3 semaines	11
Témoin+BMS 182 874, 3 semaines	4
OVX, 3 semaines	10
OVX+BMS 182 874, 3 semaines	9
Témoin, 3 semaines	7
Témoin+Irbesartan, 3 semaines	9
OVX, 3 semaines	7
OVX+ Irbesartan, 3 semaines	7
Témoin, 3 semaines	7
Témoin+ Tamoxifène, 3 semaines	8
OVX, 3 semaines	9
OVX+ Tamoxifène, 3 semaines	8

Le nombre d'animaux dans chaque groupe varie car il y a eu des rats blessés suivant l'intervention chirurgicale (arrachement des agrafes chirurgicales dans le dos par les autres rates vivant dans le même

cage) et quelques cas de décès dus à l'intolérance à l'agent anesthésiant. Dans le cas des rates traitées au TAM, certaines d'entre elles étaient malades à cause de la perte de poids et ont du être sacrifiées avant la fin des expériences.

3.3 MESURES HÉMODYNAMIQUES

Les rates ont été anesthésiées par injection intramusculaire (1cc/kilogramme poids corporel) à l'aide d'un mélange de kétamine 50 mg/kg (Rogarsertic, Rogar / STB inc, London, Ont.) et de xylazine 10 mg/kg (Rompun, Bayer, Toronto, Ont) avant d'entreprendre les mesures hémodynamiques. Un cathéter transducteur de pression à micropointe (modèle SPR-407, 2F; Millar Instrument, Houston, Texas) est inséré au niveau de l'artère carotide droite pour obtenir un tracé de la tension artérielle et de fréquence cardiaque. Le cathéter est poussé plus loin vers le ventricule gauche pour mesurer les pressions systolique et télédiastolique. Les indices de contraction (+dp/dt) et de relaxation (-dp/dt) cardiaque maximales pour le ventricule gauche sont dérivés par la différentiation analogue active du signal de pression artérielle. Le cathéter est inséré par la suite dans le ventricule droit par la veine jugulaire droite afin de prélever du sang et mesurer les indices contractiles reliés au ventricule droit. Les mesures hémodynamiques sont enregistrés sur un physiomètre Gould 2600 secondes (Gould Inc., Instruments division, Cleveland, Ohio). En fin d'expérience, le coeur et l'utérus ont été prélevés, pesés et congelés immédiatement dans de l'azote liquide. Les échantillons sont conservées à -80°C .

3.4 HYBRIDATION DE TYPE NORTHERN

L'ARN total provenant de la paroi du ventricule gauche (excluant le septum) est isolé par une version modifiée de l'extraction guanidine thiocyanate-phénol-chloroforme comme cela a été décrit précédemment²¹⁶. L'ARN total (20 µg) a été dénaturé avec de la formaldéhyde et de la formamamide, puis séparé par grosseur par un gel d'électrophorèse composé de 1.3% d'agarose et 4% de formaldéhyde). Cette étape est suivie d'un transfert sur membrane de nylon (Genescreen Plus; Dupont-NEN) par vacuum blotting (modèle 785; Bio-Rad Laboratories). Un fragment de 0.7 kilobases de prépro-peptide natriurétique auriculaire provenant du rat (gracieuseté du Dr. M. Boluyt) et un autre fragment de 1.2 kilobases de GAPDH provenant aussi du rat (American Type Culture Collection; Rockville, MD) ont été marqués avec du ³²P-déoxycytidine phosphate (³²P -dCTP;NEN) possédant une activité spécifique de 1-2 cpm/mg d'ADNc par la méthode "random hexamer (Pharmacia) priming" et hybridés sur des membranes de nylon (Dupont-NEN) pendant 18 à 24 heures à 42°C, tel que décrit précédemment ²¹⁶. Les filtres qui sont exposés à la sonde d'ADNc ont été lavés à deux reprises avec 300 mmol/L de NaCl /30 mmol/L trisodium citrate et 0.1% SDS, pendant 15 minutes à 45°C. Cela est suivi par deux autres lavages avec 30 mmol/L NaCl / 3 mmol trisodium citrate et 0.1% SDS. Les membranes de nylon sont exposés sur du film Kodak XAR avec écran intensifiant à -70°C. Les films sont numérisés à l'aide d'un densitomètre à laser (logiciel Chemilmager 4000 I v4.04; Alphan Innotech corporation). Tous les niveaux d'ARN dans ce mémoire sont normalisés au niveau d'ARNm de GAPDH.

3.5 DOSAGE DU COLLAGÈNE

Le contenu en collagène de type 1 et de type 3 dans le ventricule gauche par des coupes transversales de 8 μ m d'épaisseur et marquées avec du rouge de Sirius F3BA 0.1% dans une solution aqueuse d'acide picrique, comme cela a été décrit précédemment ²¹⁷. Les coupes histologiques ont été observées à un grossissement de 400X à l'aide d'un microscope de la marque Olympus (Carson Group Inc, Markham, Ontario, Canada) qui est branché à un moniteur vidéo de couleur de la marque Sony. Six champs sélectionnés de façon aléatoire au niveau de l'endocarde et dix champs dans l'épicarde provenant de rates témoin (n=4) et de rates ovariectomisées (n=4) de six semaines ont été analysés. L'analyse de l'image a été effectuée par le logiciel Scion Image 1.6 (Scion, Co.) sur un ordinateur Power McIntosh. Le pourcentage de la densité volumique du collagène est calculé comme étant la somme de tous les points de collagène dans chaque champ divisé par la surface occupée par ce champ.

3.6 STATISTIQUES

Tous les résultats présentés correspondent à la moyenne \pm S.E.M. Les valeurs hémodynamiques et morphologiques entre les rates témoin, ovariectomisées et traitées (Tamoxifène, Irbesartan, BMS 182 784) ont été évalués par une analyse de variance (ANOVA) à deux facteurs de classification et la différence significative est déterminée par un test de Neuman-Keuls. Une valeur de $p < 0.05$ est considéré comme étant statistiquement significative. Les analyses statistiques

pour l'expression du récepteur aux oestrogènes, pour le dosage de collagène et pour l'expression de l'ARNm de prépro-ANP entre les rates témoin et ovariectomisées sont effectuées par un test-t de Student non-pairé bilatéral et une valeur de $p < 0.05$ est considérée comme étant statistiquement significative

CHAPITRE 4

RÉSULTATS

PREMIÈRE PARTIE: EFFETS RELIÉS À L'OVX

4.1 Mesures gravimétriques chez la rate OVX de 3 et 6 semaines (voir le tableau III)

Il a été démontré dans des études antérieures que les femmes postménopausées gagnent du poids. Un gain de poids significatif a été remarqué chez la rate OVX de trois semaines comparé à la rate témoin. Ce gain de poids s'est poursuivi chez les rates OVX de six semaines et ceci est statistiquement différent de la rate témoin de six semaines de même que chez la rate OVX de trois semaines.

Chez les rates OVX de trois semaines, le poids utérin a diminué de façon significative comparé au groupe témoin (rates non-ovariectomisées). Cette atrophie de l'utérus s'est poursuivie chez la rate OVX de six semaines et celle-ci est statistiquement différente des valeurs correspondantes pour la rate témoin de six semaines de même que pour la rate OVX de trois semaines.

Il n'y a pas eu de changement du rapport poids du ventricule gauche/ poids corporel entre la rate OVX de trois semaines et la rate témoin de trois semaines. Par contre, nous avons observé une diminution significative du rapport du poids du ventricule gauche/ poids corporel chez la rate OVX de six semaines comparé à la rate témoin de six semaines. Le même profil a été observé pour le rapport du poids du ventricule droit/ poids corporel entre les rates OVX et témoin de trois et de six semaines.

Tableau III - Données gravimétriques chez la rate témoin et OVX de 3 et 6 semaines

	Poids Corporel (g)	Poids du Ventricule gauche (g)	Poids du Ventricule droit (g)	Ratio Ventricule gauche /Poids corporel (x 10 ³)	Ratio Ventricule droit /Poids corporel (x 10 ³)	Poids de l'Utérus (g)	Ratio Poids Utérus/ Poids Corporel (x 10 ³)
TÉMOIN 3 sem (n=11)	260 ±3	0.53±0.01	0.16±0.004	2.05±0.048	0.62±0.01	0.41±0.02	1.58±0.08
TÉMOIN 6 sem (n=7)	287±12*	0.57±0.02*	0.15±0.005*	2.00±0.083	0.54±0.03	0.42±0.02*	1.49±0.11*
OVX 3 sem (n=10)	323±4*	0.63±0.02*	0.19±0.005*	1.91±0.040	0.58±0.01	0.17±0.02*	0.52±0.02*
OVX 6 sem (n=8)	356±7*★	0.64±0.02*	0.18±0.003*	1.80±0.044*	0.48±0.03*	0.10±0.01*★	0.29±0.02*★

La durée de l'étude est de trois et six semaines. Les rates sont opérées, on les laisse récupérer pendant une semaine puis on les laisse dans leur cage pour deux ou cinq semaines de plus avant de les sacrifier. Les données présentées correspondent à la (moyenne ± l'erreur type). (*) correspond à p<0.05, versus le groupe témoin et (★) correspond à p<0.05 versus le groupe OVX de 3 semaines.

4.2 Mesures hémodynamiques chez la rate OVX de 3 et 6 semaines (voir tableau IV)

Chez la rate OVX de trois semaines, nous avons remarqué une élévation significative de la tension artérielle moyenne de même que la pression systolique du ventricule gauche. Cette tendance s'est maintenue chez les rates OVX de six semaines tant pour la tension artérielle moyenne que pour la pression systolique du ventricule gauche. En somme, ceci démontre que la rate OVX est hypertendue.

Pour ce qui est des indices de contractilité (+dP/dt) ou de relaxation (-dP/dt) cardiaques, ces deux indices ont été augmentés chez les rates OVX de trois et de six semaines par rapport au groupe témoin respectif. Mais seuls les -dP/dt des rates OVX de trois et de six semaines sont statistiquement significatifs. Et finalement, au niveau de la pression télédiastolique du ventricule gauche, une élévation significative de ce paramètre a été observée chez la rate OVX de trois semaines. Chez les rates OVX de six semaines la pression télédiastolique du ventricule gauche est demeurée élevée, mais cette valeur n'est pas statistiquement significative.. Aucun changement n'a été remarqué pour la fonction contractile du ventricule droit entre les rates témoin et OVX de trois et de six semaines.

Tableau IV - Données hémodynamiques chez la rate témoin et OVX de 3 et 6 semaines

	Pression systolique du ventricule gauche (mmHg)	Pression télédiastolique du ventricule gauche (mmHg)	+dP/dt du ventricule gauche (mmHg/se c)	-dP/dt du ventricule gauche (mmHg/se c)	Tension artérielle moyenne (mmHg)
TÉMOIN 3 sem (n=11)	115±4	7±1	6200±243	5066±321	106±4
TÉMOIN 6 sem (n=7)	108±3	5±1	6257±420	5422±357	97±4
OVX 3 sem (n=10)	142±8*	13±2*	6777±315	6088±284*	122±5*
OVX 6sem (n=6)	140±7*	9±2	6937±290	6593±21*	120±5*

La durée de l'étude est de trois et six semaines. Les rates sont opérées et on les laisse récupérer pendant une semaine puis on les laisse dans leur cage pour deux ou cinq semaines de plus avant de les sacrifier. Les données présentées correspondent à la (moyenne ± l'erreur type). (*) correspond à $p < 0.05$, versus le groupe témoin.

4.3 Évaluation du niveau d'expression de collagène et de l'ARNm de pré-pro ANP dans le ventricule gauche de la rate OVX

Pour permettre de confirmer l'absence d'une réponse hypertrophique, nous avons examiné l'expression de l'ARNm du pré-pro ANP au niveau du ventricule gauche chez la rate OVX. Le pré-pro ANP est un marqueur de l'hypertrophie cardiaque. Chez les rates OVX de trois semaines, il y a une diminution modeste mais non-significative ($27 \pm 33\%$, $n=4$) du niveau d'expression de pré-pro ANP, comparé au groupe témoin. Le niveau d'expression de l'ARNm du pré-pro ANP a été normalisé par rapport au GAPDH. Cette diminution d'expression de l'ARNm de pré-pro ANP s'est poursuivie chez les rates OVX de six semaines (diminution non-significative de $18 \pm 8\%$, $n=4$).

La deuxième composante du remodelage cardiaque est la fibrose cardiaque. Celle-ci est associée avec une augmentation de l'expression d'une protéine de la matrice extracellulaire, le collagène. Au niveau de l'épicarde et de l'endocarde du ventricule gauche de la rate OVX de six semaines, le contenu en collagène de type-1 est semblable au contenu de collagène de type-1 présent chez la rate témoin.

Figure 11– Niveau d'expression de l'ARNm de pré-pro ANP chez la rate OVX de six semaines

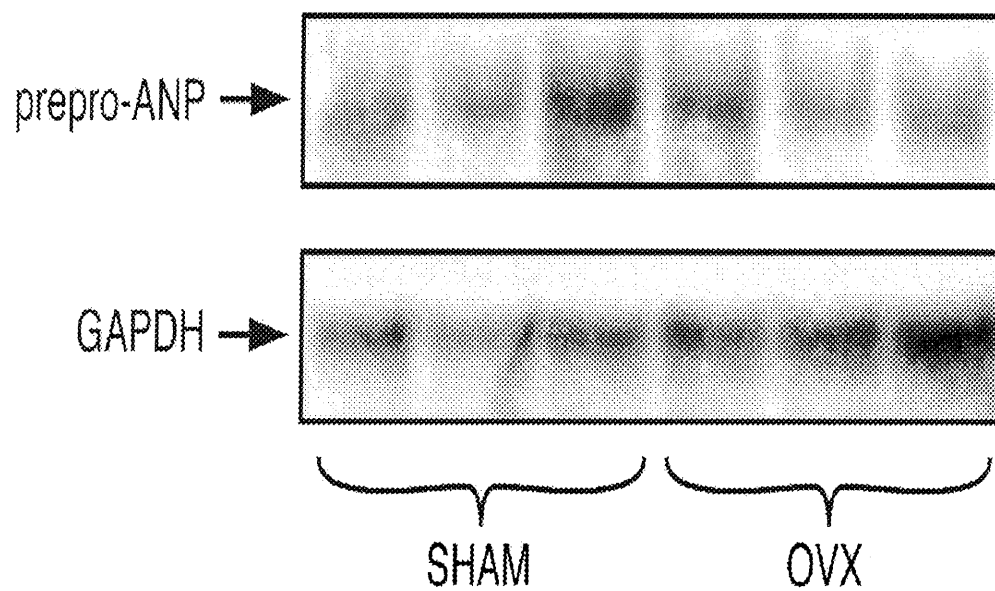
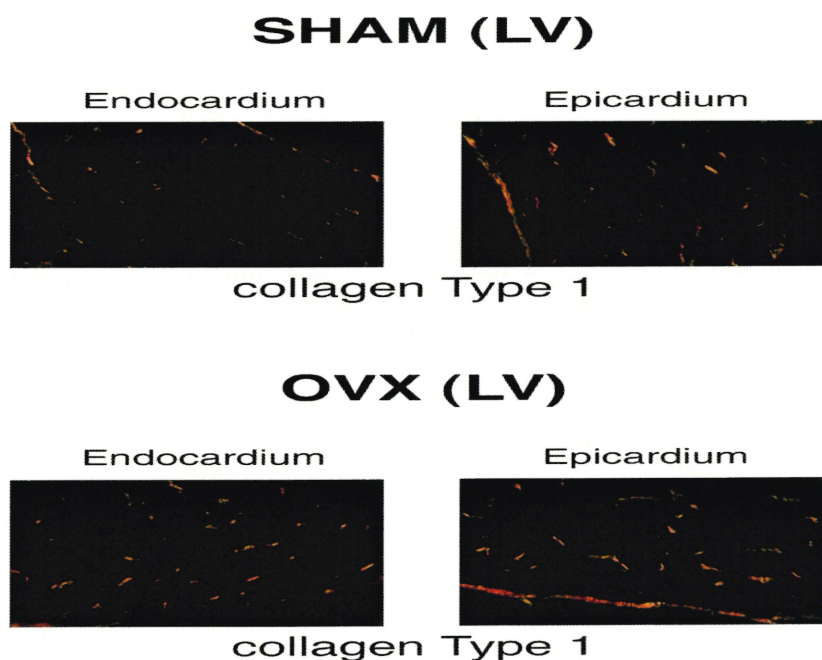


Tableau V - Contenu en collagène dans le ventricule gauche de la rate OVX de 6 semaines

	Collagène de type-1 épicaarde (%)	Collagène de type-1 endocarde (%)
TÉMOIN (n=4)	0.035 ± 0.003	0.027 ± 0.002
OVX (n=4)	0.035 ± 0.003	0.026 ± 0.003

Pour les mesures du contenu en collagène dans l'épicaarde, 10 champs aléatoires ont été sélectionnés au niveau de chaque rate. Pour les mesures du contenu en collagène dans l'endocarde, 6 champs aléatoires ont été sélectionnés au niveau de chaque rate. Le pourcentage de densité volumique de collagène est calculé en fonction de la somme de tous les points de collagène dans chaque champ divisé par la surface de ce champ.

Figure 12– Contenu de collagène de type-1 dans le ventricule gauche de la rate OVX de six semaines



DEUXIÈME PARTIE : EFFETS DE DIVERS TRAITEMENTS PHARMACOLOGIQUES POUR ATTÉNUER L'ÉLEVATION DE LA TENSION ARTÉRIELLE

4.4 Mesures gravimétriques et hémodynamiques chez la rate OVX de 3 semaines traité avec le BMS 182 874 (voir tableaux VI et VII)

Le traitement de la rate témoin avec l'antagoniste du récepteur ET_A , BMS 182 874 pendant une période de deux semaines n'a pas d'effet sur l'indice d'hypertrophie cardiaque, sur le gain de poids de même que les paramètres hémodynamiques. Parcontre, nous avons observé une augmentation significative du poids de l'utérus chez les rates témoin traitées au BMS 182 874.

L'administration à la rate OVX de BMS 182 874 pendant deux semaines entraîne une diminution de la tension artérielle moyenne de même que la pression systolique du ventricule gauche. Une diminution significative des indices de contractilité cardiaque (c'est-à-dire le $+dP/dt$ et le $-dP/dt$) a été remarquée chez les rates OVX traitées au BMS 182 874 par rapport au groupe OVX sans traitement. Pour ce qui est de la pression télédiastolique du ventricule gauche, le traitement de la rate OVX avec le BMS 182 874 n'a pas diminué ce paramètre. La fonction contractile du ventricule droit n'a pas changé chez les rates ovariectomisées traitées au BMS 182 874. Finalement, le poids utérin de la rate ovariectomisée traitée au BMS 182 874 n'a pas changé par rapport à la rate ovariectomisée non-traitée.

Tableau VI - Données gravimétriques chez la rate OVX traitée avec l'antagoniste du récepteur ET_A, BMS 182 874

	Poids Corporel (g)	Poids du Ventricule gauche (g)	Poids du Ventricule droit (g)	Ratio Ventricule gauche /Poids corporel (x 10 ³)	Ratio Ventricule droit /Poids corporel (x 10 ³)	Poids de l'Utérus (g)	Ratio Utérus/ Poids Corporel (x 10 ³)
TÉMOIN (n=11)	260 ±3	0.53±0.01	0.16±0.004	2.05±0.048	0.62±0.01	0.41±0.02	1.58±0.08
TÉMOIN + BMS (n=4)	278±4	0.55±0.02	0.15±0.006	1.98±0.041	0.55±0.03	0.58±0.04*	2.10±0.2*
OVX (n=10)	323±4*	0.63±0.02*	0.19±0.005*	1.91±0.040	0.58±0.01	0.17±0.02*	0.52±0.02*
OVX+BMS (n=9)	322±8*	0.67±0.01*	0.18±0.003*	2.09±0.05	0.56±0.01	0.15±0.01*	0.46±0.02*

La durée de l'étude est de trois semaines. Pour les traitements avec le BMS 182 874, la rate est opérée et on la laisse récupérer pendant une semaine puis le traitement est administré pendant les deux semaines suivantes à une dose de 60 mg/kg/jour. Les données présentées correspondent à la (moyenne ± l'erreur type). (*) correspond à p<0.05, versus le groupe témoin

Tableau VII- Données hémodynamiques chez la rate OVX traitée avec l'antagoniste du récepteur ET_A BMS 182 874

	Pression systolique du ventricule gauche (mmHg)	Pression télédiastolique du ventricule gauche (mmHg)	+dP/dt du ventricule gauche (mmHg/sec)	-dP/dt du ventricule gauche (mmHg/sec)	Pression artérielle moyenne (mmHg)
TÉMOIN (n=11)	115±4	7±1	6200±243	5066±321	106±4
TÉMOIN + BMS (n=4)	118±6	7±1	5069±420	5070±357	106±3
OVX (n=10)	142±8*	13±2*	6777±315	6088±284*	122±5*
OVX+BMS (n=9)	116±5★	13±1*	5139±120★	5139±219★	109±3★

La durée de l'étude est de trois semaines. Pour les traitements avec le BMS 182 874, la rate est opérée et on la laisse récupérer pendant une semaine puis le traitement est administré pendant les deux semaines suivantes à une dose de 60 mg/kg/jour. Les données présentées correspondent à la (moyenne ± l'erreur type). (*) correspond à p<0.05, versus le groupe témoin et (★) correspond à p<0.05, versus le groupe OVX.

4.5 Mesures gravimétriques et hémodynamiques chez la rate OVX de 3 semaines traitée avec l'Irbesartan (voir tableaux VIII et IX)

L'administration de la rate témoin avec un antagoniste du récepteur AT_1 , Irbesartan pendant deux semaines n'a pas d'effet sur l'indice d'hypertrophie cardiaque, sur le gain de poids de même que les paramètres hémodynamiques et le poids de l'utérus.

Lorsqu'on traite la rate OVX avec l'antagoniste du récepteur AT_1 Irbesartan deux semaines suivant l'OVX, nous observons une normalisation des tension artérielle moyenne et systoliques du ventricule gauche. Nous avons remarqué une diminution non-significative du $+dP/dt$. Par contre, la diminution du $-dP/dt$ est statistiquement significative par rapport à la rate OVX non-traitée. Le traitement de la rate OVX avec l'Irbesartan n'a pas diminué la pression télédiastolique du ventricule gauche. La fonction contractile du ventricule droit n'a pas changé chez les rates OVX traitées à l'Irbesartan. Finalement, le poids utérin de la rate OVX traitée avec l'Irbesartan n'a pas changé par rapport à la rate OVX non-traitée.

Tableau VIII - Données gravimétriques chez la rate OVX traitée avec l'antagoniste du récepteur AT₁, Irbesartan

	Poids Corporel (g)	Poids du Ventricule gauche (g)	Poids du Ventricule droit (g)	Ratio Ventricule gauche /Poids corporel (x 10 ³)	Ratio Ventricule droit /Poids corporel (x 10 ³)	Poids de l'Utérus (g)	Ratio Poids Utérus/ Poids Corporel (x 10 ³)
TÉMOIN (n=7)	259±7	0.37±0.02	0.14±0.007	1.37±0.091	0.58±0.02	0.53±0.05	2.10±0.24
TÉMOIN + IRB (n=9)	253±6	0.29±0.01	0.15±0.005	1.13±0.029	0.59±0.03	0.51±0.04	2.02±0.19
OVX (n=7)	306±7*	0.39±0.02	0.17±0.007	1.29±0.060	0.54±0.02	0.13±0.01*	0.41±0.03
OVX+IRB (n=7)	278±6★	0.32±0.02	0.13±0.007	1.14±0.059	0.48±0.02	0.13±0.01★	0.45±0.02

La durée de l'étude est de trois semaines. Pour les traitements avec l'Irbesartan, la rate est opérée et on la laisse récupérer pendant une semaine puis le traitement est administré pendant les deux semaines suivantes à une dose de 40 mg/kg/jour. Les données présentées correspondent à la (moyenne ± l'erreur type). (*) correspond à p<0.05, le groupe témoin et (★) correspond à p<0.05, le groupe OVX

Tableau IX - Données hémodynamiques chez la rate OVX et l'effet de l'antagoniste du récepteur AT₁, Irbesartan

	Pression systolique du ventricule gauche (mmHg)	Pression télédiastolique du ventricule gauche (mmHg)	+dP/dt du ventricule gauche (mmHg/sec)	-dP/dt du ventricule gauche (mmHg/sec)	Tension artérielle moyenne (mmHg)
TÉMOIN (n=7)	109±6	6±2	6170±443	4835±333	101±9
TÉMOIN+IRB (n=9)	106±4	7±2	5975±232	4900±135	97±7
OVX (n=7)	141±7*	11±1*	6592±280	6361±178*	122±5*
OVX+IRB (n=7)	101±4★	11±1*	5633±237	5171±223★	89±4★

La durée de l'étude est de trois semaines. Pour les traitements avec l'Irbesartan, la rate est opérée et on la laisse récupérer pendant une semaine puis le traitement est administré pendant les deux semaines suivantes à une dose de 40 mg/kg/jour. Les données présentées correspondent à la (moyenne ± l'erreur type). (*) correspond à $p < 0.05$, versus le groupe témoin et (★) correspond à $p < 0.05$, versus le groupe OVX

4.6 Mesures gravimétriques et hémodynamiques chez la rate OVX de 3 semaines traitée avec le Tamoxifène (voir tableaux X et XI)

. Le traitement de la rate témoin avec le SERM tamoxifène (TAM) mène à une diminution non-significative de la masse corporelle, sans affecter l'indice d'hypertrophie cardiaque. Par contre, on remarque une diminution significative du poids utérin chez la rate témoin traitée au TAM. Pour les paramètres hémodynamiques, on observe une élévation significative de la tension artérielle moyenne chez la rate témoin traitée au TAM de même qu'une élévation non-significative de la pression systolique du ventricule gauche. Une légère augmentation des indices de contractilité a été remarquée mais celle-ci s'est avérée non-significative.

Lorsque l'on administre à la rate OVX du TAM pendant une période de deux semaines, nous observons une diminution significative de la masse corporelle sans que cela n'affecte l'indice d'hypertrophie cardiaque. Par contre, le traitement de la rate OVX avec le TAM mène à une augmentation significative du poids utérin. Au point de vue hémodynamique, le TAM permet de diminuer de façon significative la pression systolique du ventricule gauche comparé au groupe OVX. Le TAM diminue aussi la tension artérielle moyenne, mais cette diminution est non-significative. Au niveau de l'indice de relaxation cardiaque, le TAM diminue de façon significative le $-dP/dt$. Pour l'indice de contractilité cardiaque nous remarquons une élévation du $+dP/dt$ chez la rate OVX, et le traitement avec le TAM mène à une diminution non-significative de ce paramètre. Par contre, le traitement de la rate

OVX avec le TAM permet de diminuer de façon significative la pression télédiastolique du ventricule. Et finalement, le TAM ne change pas la fonction contractile du ventricule droit.

Tableau X - Données gravimétriques chez la rate OVX et l'effet du Tamoxifène

	Poids Corporel (g)	Poids du Ventricule gauche (g)	Poids du Ventricule droit (g)	Ratio Ventricule gauche /Poids corporel (x 10 ³)	Ratio Ventricule droit /Poids corporel (x 10 ³)	Poids de l'Utérus (g)	Ratio Utérus/ Poids Corporel (x 10 ³)
TÉMOIN (n=7)	268±20	0.37±0.02	0.15±0.01	1.39±0.114	0.57±0.04	0.41±0.01	1.58±0.01
TÉMOIN+ TAM (n=8)	223±8	0.34±0.02	0.12±0.004	1.56±0.122	0.54±0.03	0.31±0.01*	1.37±0.01
OVX (n=9)	312±12*	0.43±0.02	0.18±0.001	1.41±0.05	0.57±0.03	0.14±0.01*	0.46±0.01
OVX+TAM (n=8)	227±6★	0.35±0.02	0.13±0.005	1.58±0.1	0.56±0.03	0.24±0.02★	1.09±0.01

La durée de l'étude est de trois semaines. Pour les traitements avec le TAM, la rate est opérée et on la laisse récupérer pendant une semaine puis le traitement est administré pendant les deux semaines suivantes à une dose de 10 mg/kg. Les données présentées correspondent à la (moyenne ± l'erreur type). (*) correspond à p<0.05, versus le groupe témoin et (★) correspond à p<0.05, versus le groupe OVX

Tableau XI - Données hémodynamiques chez la rate OVX et l'effet du Tamoxifène

	Pression systolique du ventricule gauche (mmHg)	Pression télédiastolique du ventricule gauche (mmHg)	+dP/dt du ventricule gauche (mmHg/sec)	-dP/dt du ventricule gauche (mmHg/sec)	Pression artérielle moyenne (mmHg)
TÉMOIN (n=7)	105±7	6±2	5835±443	4835±346	94±7
TÉMOIN+ TAM (n=8)	115±8	3±2	6718±379	5437±737	117±7*
OVX (n=9)	141±10*	11±1*	6644±629	6361±1064	123±10*
OVX+TAM (n=8)	110±8★	5±1★	6125±446	4656±356★	108±9

La durée de l'étude est de trois semaines. Pour les traitements avec le TAM la rate est opérée et on la laisse récupérer pendant une semaine puis le traitement est administré pendant les deux semaines suivantes à une dose de 10 mg/kg. Les données présentées correspondent à la (moyenne ± l'erreur type). (*) correspond à $p < 0.05$, versus le groupe témoin et (★) correspond à $p < 0.05$, versus le groupe OVX.

CHAPITRE 5
DISCUSSION ET CONCLUSION

PREMIÈRE PARTIE : EFFETS RELIÉS À L'OVX

Caractéristiques pondérales de l'OVX

Dans le modèle de la rate ovariectomisée, la diminution en hormones ovariennes trois semaines suivant l'OVX entraîne un gain de poids significatif ainsi qu'une atrophie de l'utérus. Nos résultats concordent avec ceux observés par Mohammed et al. décrits ci-dessous. Par contre, notre étude diffère de celle de Mohammed et al. en ce qu'ils s'intéressent aux mesures pondérales des rates OVX alors que nous voulons étendre l'étude aux mesures hémodynamiques ainsi que la fonction ventriculaire gauche de la rate OVX. Mohamed et al. ont remarqué dans une étude s'étalant sur une période de 12 semaines que peu après l'OVX, les rates Sprague-Dawley gagnent du poids de façon très rapide mais qu'après la cinquième semaine, l'augmentation de poids se fait de façon plus graduelle²¹⁵. Cet effet a été renversé après implantation d'une pompe sous-cutanée contenant du 17- β -oestradiol à ces rates. Une semaine après l'administration de l'oestradiol, le poids des rates OVX traitées a chuté par rapport aux rates OVX seules. Le poids des rates OVX traitées avec l'oestradiol durant les semaines suivantes est resté constant, mais était un peu plus bas que celui des rates témoins (non-OVX).²¹⁵ Une autre caractéristique importante observée avec la rate OVX, est l'atrophie de l'utérus. L'absence d'oestrogènes suivant l'OVX fait en sorte que le poids de l'utérus diminue.

Implications de choisir un modèle de rate jeune

Dans notre étude, nous voulons vérifier les paramètres directement reliés à l'OVX. Or, le vieillissement entraîne des variables supplémentaires qui nous empêchent de faire la distinction entre les effets biologiques dus à l'âge de ceux dus uniquement à l'intervention chirurgicale. L'ovariectomie a donc été effectuée lorsque les rates sont en début de maturité (environ de 8 à 11 semaines). Plusieurs études publiées antérieurement ont employé des rates femelles Sprague-Dawley OVX lorsqu'elles sont en début de maturité^{218,219}. Il a été démontré antérieurement que le vieillissement chez les rates est associé à une réduction de la L-Arginine, qui est le précurseur du NO, ainsi qu'une réduction de l'excrétion de métabolites du NO. Il est probable que le vieillissement vient interférer avec le NO et que cet effet surpasse celui attribué aux oestrogènes sur la production de NO chez les femmes postménopausées²²⁰. De plus, lorsque les rates Sprague-Dawley sont ovariectomisées à une période plus tardive, la déficience en oestrogènes fait diminuer le diamètre des artères périphériques et ceci mène à une diminution de la réactivité du muscle lisse vasculaire ainsi qu'une diminution du tonus myogénique. Ceci peut expliquer en partie pourquoi il y a une augmentation de l'incidence d'hypertension chez ces animaux²²¹.

Caractéristiques hémodynamiques de l'OVX

Nos résultats démontrent que les rates OVX ont une élévation significative de la tension artérielle moyenne, de même que la pression systolique du ventricule gauche trois semaines suivant l'intervention

chirurgicale. Ces valeurs sont demeurées élevées même après six semaines post-OVX. Une étude de Hernandez et al. rapporte aussi une élévation de la tension artérielle chez des rates OVX ²²². Hernandez et al., suggère que l'élévation de la tension artérielle suite à l'OVX est médiée par une altération de l'expression de la NOS endothéliale de même qu'une diminution de l'effet antioxydant normalement attribuée aux oestrogènes ²²². De plus, dans une étude effectuée sur des rates OVX spontanément hypertendues, la libération de NO était diminuée ²²³. Dans une autre étude antérieure effectuée au niveau de gros vaisseaux de conductance, il semblerait que la libération de NO est plus marquée chez les rats femelles que chez les rats mâles ²²⁴ et que l'OVX abolissait cette différence et diminuait en même temps la vasodilatation aux agents pharmacologiques qui stimulent la libération de NO^{222;225}. De plus, il a été démontré que la dysfonction endothéliale au niveau de l'aorte de rates OVX était renversée suite à l'addition de la N-acétyl-L-cystéine. Ce dernier capte les radicaux libres. Ces résultats suggèrent que l'OVX mène à un stress oxydatif ²²². Hernandez et al. ont pu démontrer que l'OVX induit un changement du degré d'oxydation-réduction qui peut être responsable de la diminution de NO libéré et mener à une diminution de la résistance vasculaire systémique, ce qui génère une augmentation de la tension artérielle. L'administration du 17- β -estradiol à la rate OVX renverse cette augmentation ²²⁶.

Dans notre étude, les indices de contractilité et de relaxation cardiaques du ventricule gauche ont été augmentées chez la rate OVX, mais seul l'indice de relaxation cardiaque (-dp/dt) était statistiquement significatif par rapport au groupe témoin. L'élévation de

la valeur de ces indices indique probablement une augmentation de la fonction contractile chez la rate OVX. Dans notre étude, la pression télédiastolique du ventricule gauche était augmentée après trois semaines chez la rate OVX et elle est demeurée élevée six semaines post-OVX, mais cette élévation s'est avérée non-significative. L'augmentation de la pression télédiastolique du ventricule gauche peut être due à un changement associé uniquement à l'OVX et les hormones ovariennes joueraient un rôle dans cette élévation. Un mécanisme potentiel pourrait impliquer la modulation du NO dépendante de l'oestrogène au niveau du myocarde²²⁷. Car il a été démontré que ce dernier augmente la distensibilité diastolique^{228;229}. Donc, une diminution de la production de NO dépendante des oestrogènes au niveau du myocarde (par exemple dans les myocytes, dans l'endocarde endothélial) de la rate OVX peut mener à une élévation modeste de la pression télédiastolique du ventricule gauche. De plus, l'élévation de la pression télédiastolique du ventricule gauche chez la rate OVX ne peut être due à la pression diastolique du ventricule gauche car il n'y a aucun changement entre les valeurs observées chez la rate témoin de trois semaines et la rate OVX de trois semaines.

L'hypertension chronique mène à une forme concentrique d'hypertrophie cardiaque. Celle-ci est caractérisée par une augmentation de l'expression de l'ARNm du marqueur hypertrophique prépro-ANP de même qu'une progression de la fibrose²³⁰⁻²³³. Nous n'avons pas examiné si une forme concentrique de remodelage cardiaque a eu lieu. Mais, il existe un indice qui nous permet de détecter la présence d'hypertrophie cardiaque, c'est le ratio poids du

ventricule gauche/ poids corporel. Nous avons observé que le ratio poids du ventricule gauche/poids corporel était similaire entre les rates témoin et les rates OVX. Ces résultats démontrent l'absence d'hypertrophie cardiaque chez les rats femelles OVX malgré la présence d'hypertension systémique. L'absence d'hypertrophie cardiaque après OVX a été aussi remarquée par Scheuer et al. et comme dans la présente étude, un gain de poids important a été observé chez les rates ovariectomisés²³⁴. Mais, à cause du gain de poids considérable observé chez la rate OVX, ceci a pu masquer la présence d'hypertrophie. Pour confirmer l'absence de la réponse hypertrophique, nous avons examiné l'expression de l'ARNm du marqueur hypertrophique prépro-ANP provenant du ventricule gauche. Les niveaux d'ARNm de prépro-ANP ont diminué de façon modeste dans le ventricule gauche de la rate OVX de trois semaines, alors qu'on a observé une diminution significative de prépro-ANP six semaines post-ovariectomie. L'étude démontre une diminution de l'expression de l'ARNm du marqueur hypertrophique prépro-ANP dans le myocarde. Nous avons par la suite évalué le contenu en collagène dans le ventricule gauche. Chez les rates OVX de six semaines, le pourcentage de collagène interstitiel au niveau de l'endocarde et de l'épicarde du ventricule gauche est semblable au pourcentage retrouvé chez les rats témoin. Il est très probable que la durée de l'étude et l'intensité du postcharge chez la rate OVX n'était pas suffisant pour induire l'hypertrophie cardiaque ou la fibrose. Une différence intrinsèque au niveau du coeur du rat mâle et femelle pourrait aussi influencer le patron de remodelage cardiaque. En effet, Weinberg et al. ont démontré qu'il existe des différences entre le rat mâle et femelle quant au remodelage cardiaque et à la fonction ventriculaire, malgré

des niveaux semblables d'hypertrophie ventriculaire gauche²³⁵. De plus, dans le modèle d'hypertension artérielle induite par le L-NAME chez le rat, même si le poids du coeur n'augmente pas après six semaines de traitement, il y a quand même remodelage (parois plus épaisses et cavités plus petites) et une augmentation de l'expression de l'ARNm de l'ANF du ventricule gauche par rapport aux animaux témoins²³⁶. Dans notre modèle de la rate OVX, il y a diminution de l'expression de l'ARNm du pré-pro ANP après six semaines sans qu'il n'y ait épaississement des parois. Donc, ces résultats sont les premiers à souligner l'absence de remodelage cardiaque chez la rate OVX, malgré une tension artérielle élevée.

DEUXIÈME PARTIE : ÉTUDE SUR DIVERS TRAITEMENTS PHARMACOLOGIQUES POUR ATTÉNUER L'ÉLEVATION DE LA TENSION ARTÉRIELLE

L'absence de maladies cardiovasculaires chez la femme avant la ménopause semble être attribuée à la présence d'oestrogènes. Il existe plusieurs mécanismes pouvant expliquer l'effet cardioprotecteur des oestrogènes. Ceux-ci exercent des effets bénéfiques au niveau du profil lipidique en favorisant l'augmentation du HDL et la diminution de LDL. Deuxièmement, l'utilisation des oestrogènes favorise la vasodilatation en libérant du NO provenant de l'endothélium. Les oestrogènes diminuent la synthèse d'agents vasoconstricteurs comme l'Ang II et l'ET-1.

Arrivée à la ménopause, la diminution en oestrogènes favoriserait plus la vasoconstriction que la vasodilatation. Il a été démontré que les femmes postménopausées ont un taux plasmatique

plus élevé de l'agent vasoconstricteur ET-1 en circulation que chez les femmes préménopausées²³⁷. En effet, l'ET-1 joue un rôle dans la régulation de la tension artérielle telle que montrée dans un modèle de souris "knockout" pour le gène de l'ET-1²³⁸. Même si le rôle de l'ET-1 dans la pathologie de l'hypertension est encore nébuleux, il demeure que le système de l'endothéline est activé dans plusieurs modèles expérimentaux d'hypertension. Parmi ces modèles, on retrouve le modèle de rat hypertendu "deoxycorticosterone-acétate (DOCA)-salt", les rats sensibles au sel de type Dahl, les rats spontanément hypertendus prones aux ACV, et finalement les rats spontanément hypertendus traités au "DOCA-salt". Dans ces modèles, le traitement de ces animaux avec un bloqueur sélectif du récepteur ET_A mène à une réduction modeste de la tension artérielle²³⁹⁻²⁴¹. En plus, l'ET-1 par l'entremise du récepteur ET_A est impliquée dans le développement de l'hypertension systémique et pulmonaire²⁴²⁻²⁴⁴.

Nos résultats sont les premiers à souligner l'implication de l'ET-1 dans le développement de l'hypertension systémique chez la rate OVX. Le traitement avec un antagoniste sélectif du récepteur ET_A, soit le BMS-182 874 initié une semaine post-OVX et poursuivie pendant deux semaines a permis de normaliser la tension artérielle moyenne, la PSVG, les indices de contractilité et de relaxation cardiaques. Le traitement n'a pas d'effet secondaire sur le gain de poids corporel ni sur l'atrophie de l'utérus. De plus, nous n'avons remarqué aucun changement au niveau de la fonction contractile du ventricule droit. Donc, l'administration d'un antagoniste du récepteur ET_A pourrait représenter comme une approche thérapeutique alternative dans le traitement de l'hypertension systémique chez les femmes

postménopausées. Malgré l'abolition de l'hypertension systémique, le traitement du rat ovariectomisé avec l'antagoniste du récepteur ET_A a maintenu l'élévation de la pression télédiastolique du ventricule gauche. Ce phénomène est donc indépendant de la tension artérielle moyenne et de la fonction contractile au niveau du ventricule gauche. L'augmentation de la pression télédiastolique n'est pas relié à un effet direct de l'ET-1.

Dans des cellules endothéliales en culture, l'All peut stimuler l'expression de l'ARNm de la préproendothéline, le précurseur de l'ET-1¹⁹⁴. L'All tout comme l'ET-1 est aussi un puissant agent vasoconstricteur. L'All se lie au niveau du récepteur AT_1 , le récepteur qui module les effets reliés à la vasoconstriction. Gallagher et al. ont démontré qu'au niveau de l'aorte de la rate OVX il y a une augmentation de l'expression de l'ARNm de l'ECA, ce qui fait augmenter les niveaux d'All¹⁵⁹. De plus, il existe très peu d'information concernant les niveaux d'All chez les femmes postménopausées²⁴⁵. L'All a été démontré comme étant un des plus importants agents humoraux impliqués dans la pathologie de l'hypertension. Dans le modèle du rat spontanément hypertendu de même que dans les cas d'hypertension chez l'humain, la réactivité vasculaire à l'All est amplifiée²⁴⁶⁻²⁴⁹. Pour vérifier les effets de l'All dans le développement de l'hypertension systémique chez le rat OVX, on a administré dans une étude parallèle, un antagoniste sélectif du récepteur AT_1 , soit l'Irbesartan. La raison pour laquelle on a choisi un antagoniste du récepteur AT_1 à la place d'un IECA est dû au fait que ce dernier n'empêche pas la formation d'All par des voies indépendants de l'ECA¹⁵¹. L'All peut être formée à partir de l'AI par l'entremise d'autres

enzymes comme la chymase, que l'on retrouve en quantités abondantes dans le coeur et les vaisseaux sanguins ^{155;156}. De plus, l'All peut être formée directement de l'angiotensinogène à l'aide de la cathepsine G ou l'élastase, qui peut être libéré par les neutrophiles aux sites d'inflammation à l'intérieur ou autour des vaisseaux sanguins. Finalement, l'All peut être formé directement par l'angiotensinogène par l'activateur de plasminogène tissulaire. De plus, les IECA bloquent le métabolisme de la BK, qui est un agent vasodilatateur ¹⁴⁸. À cause de cette accumulation de BK, l'emploi d'un IECA produit une toux sèche inconfortable chez certains patients ¹⁴⁹.

Nos résultats sont les premiers à démontrer la contribution de l'All dans le développement de l'hypertension systémique chez la rate OVX. De plus, l'All n'est pas associée à des effets secondaires au niveau de l'utérus. Le traitement de la rate OVX avec l'antagoniste du récepteur AT₁, Irbesartan initié une semaine après OVX et poursuivi pendant deux semaines a permis de normaliser la tension artérielle moyenne, la pression systolique du ventricule gauche et les indices de dp/dt, mais seul le changement du -dp/dt du ventricule gauche était statistiquement significatif. Cette observation est en accord avec une étude effectuée par l'équipe de Hernandez et al. ²⁵⁰ qui ont démontré que le NO est nécessaire pour renverser l'All suite à une stimulation par l'oestrogène. Et l'administration de l'oestrogène avec un bloqueur de la NO synthase, soit la N^ω-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME), mène à une vasoconstriction systémique par augmentation de la résistance périphérique. L'administration d'un bloqueur du récepteur AT₁, le losartan, supprime l'effet vasoconstricteur de l'oestrogène en présence de L-NAME. Donc, il existe un lien entre l'oestrogène, le NO

et l'All. Mais il se peut aussi que cet effet vasodilatateur soit médié par le récepteur AT_2 . Ce récepteur est responsable des effets vasodilatateurs. Donc, en bloquant de façon sélective le récepteur AT_1 , il est aussi très probable que l'All se lie au récepteur AT_2 . D'autres études seront nécessaires pour vérifier cette hypothèse. Comme dans le cas du traitement avec l'antagoniste du récepteur ET_A , le BMS-182 874, l'Irbesartan n'a aucun effet sur l'utérus et mène à une réduction modeste mais significative de poids corporel par rapport au contrôle et n'a pas d'effet sur les paramètres de fonction contractile au niveau du ventricule droit. De plus, le traitement de la rate OVX avec l'Irbesartan mène à une diminution significative de la pression télédiastolique du ventricule gauche, comme dans le cas du traitement avec le BMS-182 874.

Dans une autre étude parallèle, nous avons voulu observer l'effet des SERMs dans le traitement de maladies cardiovasculaires, comme l'hypertension systémique. L'administration du TAM une semaine après OVX a diminué la pression systolique du ventricule gauche de même que les indices de contractilité et de relaxation cardiaques. Le TAM mène aussi à une diminution de la tension artérielle moyenne chez la rate OVX + TAM, mais celle-ci n'est pas statistiquement significative. Donc, au niveau des paramètres hémodynamiques chez la rate OVX + TAM, le TAM exercerait un rôle agoniste oestrogénique. De plus, le traitement de la rate OVX avec le TAM mène à une augmentation du poids de l'utérus, qui est un effet très néfaste. Ce résultat confirme celui des études antérieures qui démontrent que le TAM cause une stimulation au niveau de l'endomètre chez la rate OVX^{87;93}. Donc, chez la rate OVX + TAM, le

TAM exerce un effet agoniste oestrogénique au niveau de l'utérus. Si on administre le même traitement chez la rate témoin, on observe une augmentation significative de la tension artérielle moyenne. Le TAM exerce alors un effet antagoniste antioestrogénique. Par contre, ce résultat est discutable, car dans notre échantillon il y a eu beaucoup de variabilité; certains animaux étaient hypertendus alors que d'autres étaient normotendus. Une augmentation de notre échantillon TÉMOIN +TAM serait nécessaire. Au niveau de l'utérus du rat TÉMOIN+TAM, on observe une diminution du poids de l'utérus, qui est un effet négatif, car ceci pourrait contribuer à l'infertilité chez la femme. Dans ce cas-ci le tamoxifène agirait comme un agent antagoniste anti-oestrogénique en empêchant la liaison des oestrogènes au ER. Donc, d'après nos résultats, l'état oestrogénique de l'animal a une influence importante sur l'action du TAM. En plus, on n'a pas remarqué de changements au niveau de la fonction contractile du ventricule droit, comme dans le cas du traitement avec le BMS 182 874 et l'Irbesartan. Tel qu'observé chez la rate OVX, le TAM possède un effet bénéfique au niveau cardiovasculaire; néanmoins, il est important de souligner que ce même composé possède des effets négatifs au niveau de l'utérus manifesté par une augmentation du poids de ce dernier chez le rat OVX traité au TAM. De plus, nous avons observé chez le rat témoin que le traitement au TAM mène à une élévation de la tension artérielle moyenne; donc, dans ce cas-ci, le TAM n'a aucun effet bénéfique sur le plan cardiovasculaire. De plus, le traitement du rat témoin avec le TAM fait diminuer le poids de l'utérus et comme cela a été mentionné précédemment, ceci peut contribuer à l'infertilité chez la femme en âge de reproduction. Le TAM est fortement déconseillé chez les femmes

en âge de reproduction à cause des effets néfastes cardiovasculaires et utérins⁷⁹.

LIMITES DU MODÈLE

L'étude actuelle ne détermine pas si l'absence de remodelage observée chez la rate OVX est bénéfique à long terme. Il est très probable que le remodelage s'effectue plus tard. De plus, la durée pour la plupart de nos études était de trois semaines. Donc, il serait intéressant de voir les effets à long terme des traitements sur les rates OVX et voir s'il y a eu des changements par rapport aux résultats actuels. Deuxièmement, le modèle de l'ovariectomie discuté dans ce travail s'applique uniquement à la rate. À cause des différences physiologiques entre ces deux espèces, les résultats concernant les effets de la perte d'oestrogènes suivant l'ablation chirurgicale des ovaires qu'on obtient chez la rate ne peuvent pas être extrapolé directement à la femme. Finalement, il serait nécessaire de doser les niveaux plasmatiques d'Ang II et d'ET-1 par radioimmunoessai pour confirmer l'implication de ces deux agents vasoconstricteurs dans l'élévation de la tension artérielle chez les rates OVX.

CONCLUSION

En conclusion, les rates OVX ont une tension artérielle élevée. Au cours de l'étude, les rates OVX hypertendues n'ont pas développé d'hypertrophie cardiaque, ni de fibrose. Le traitement de la rate OVX avec un antagoniste du récepteur ET_A, le BMS-182 874 a permis de normaliser les paramètres hémodynamiques, sans qu'il n'y ait d'effet au niveau du gain de poids ni sur l'utérus. De façon analogue,

l'administration d'un antagoniste du récepteur AT_1 , l'Irbesartan chez la rate OVX, mène aussi à la normalisation des mesures hémodynamiques. De plus, l'Irbesartan a diminué modestement le gain de poids observé chez la rate OVX et n'exerce aucun effet secondaire sur l'utérus. Ce qui n'est pas le cas avec le TAM, qui engendre une augmentation du poids de l'utérus. L'utilisation d'un antagoniste du récepteur ET_A ou d'un bloqueur du récepteur AT_1 pourraient être de bons choix thérapeutiques employés dans le traitement de l'hypertension chez la femme postménopausée. Il serait alors intéressant d'étudier le potentiel clinique de ces deux médicaments chez les femmes postménopausées hypertendues compte tenu que le pourcentage de femmes hypertendues augmente avec l'âge et que plus de femmes meurent suite aux complications de l'hypertension que du cancer du sein.

RÉFÉRENCES

1. Reynolds E, Baron RB. Hypertension in women and the elderly: Some puzzling and some expected findings of treatment studies. *Postgrad Med* 1996;100:1-10.
2. Kannel WB, Hjortland MC, McNamara PM, Gordon T. Menopause and risk of cardiovascular disease: the Framingham study. *Ann Intern Med* 1976;85:447-52.
3. Marieb EN, Laurendeau G. Anatomie et physiologie humaines, ERPI ed. Montréal: 1993. p. 946-70.
4. Mendelsohn ME, Karas RH. The protective effects of estrogen on the cardiovascular system. *N Engl J Med*, 1999;340:1801-11.
5. Osborne CK. Steroid hormone receptors in breast cancer management. *Breast cancer Res Treat* 1998;51:227-38.
6. Kuiper G, Enmark E, Peltö-Huikko M, Cloning of a novel estrogen receptor expressed in rat prostate and ovary. *Proc Nat Acad Sci USA* 1996;93:5925-30.
7. Mosselman S, Polman J, Kijkema R. Identification and characterization of a novel human estrogen receptor. *FEBS Letters* 1996;392:49-53.
8. Ogawa S, Inoue S, Watanabe T, Hiroi H, Orimo A, Hosoi T, Ouchi Y, Muramatsu M. The complete primary structure of human estrogen receptor beta (hER-beta) and its heterodimerization with ER alpha in vivo and in vitro. *Biochem Biophys Res Commun* 1998;243:122-26.
9. Barkhem T, Carlsson B, Nilsson Y, Enmark E, Gustafsson J, Nilsson S. Differential response of estrogen receptor alpha and estrogen receptor beta to partial estrogen agonists and antagonist. *Mol Pharmacol* 1998;54:105-12.

10. Kuiper G, Lemmen J, Carlsson B, Corton JC, Safe SH, van der Saag PT, van der Burg B, Gustafsson JA. Interaction of estrogenic chemical and phytoestrogens with estrogen receptor beta. *Endocrinology* 1998;139:4252-63.
11. Montano M, Muller V, Trobaugh A, Katzenellenbogen BS. The carboxy-terminal F domain of the human estrogen receptor: Role in transcriptional activity of the receptor and effectiveness of antiestrogens as estrogen antagonists. *Mol Endocrinol* 1995;9:814-25.
12. Kumar V, Green S, Staub A, Chambon P. Localisation of the oestradiol-binding and putative DNA-binding domains of the human oestrogen receptor. *EMBO J* 1986;5:2231-36.
13. Kumar V, Green S, Stack G, Berry M, Jin JR, Chambon P. Functional domains of the human estrogen receptor. *Cell* 1989;51:941-51.
14. Tora L, White J, Brou C, Tasset D, Webster N, Scheer E, Chambon P. The human estrogen receptor has two independent nonacidic transcriptional activation functions. *Cell* 1989;59:477-87.
15. Webster NJ, Green S, Tasset D, Ponglikitmonkol M, Chambon P. The transcription activation function located in the hormone-binding domain of the human oestrogen receptor is not encoded by a single exon. *EMBO J* 1989;8:1441-46.
16. Tzukerman MT, Esty A, Santiso-Mere D, Danielian P, Parker MG, Stein RB, Pike JW, McDonnell DP. Human estrogen receptor transactivational capacity is determined by both cellular and promoter context and mediated by two functionally distinct intramolecular regions. *Mol Endocrinol* 1994;8:21-30.
17. Stumpf WE, Sar M, Aumuller G. The heart: a target organ for estradiol. *Science* 1977;196:319-20.

18. Losordo DW, Kearney M, Kim EA, Jekanowski J, Isner JM. Variable expression of the estrogen receptor in normal and atherosclerotic coronary arteries of premenopausal women. *Circulation* 1994;89:1501-10.
19. Kamei Y, Xu L, Heinzl T, Torchia J, Kurokawa R, Gloss B, Lin SC, Heyman RA, Rose DW, Glass CK, Rosenfeld MG. A CBP integrator complex mediates transcriptional activation and AP-1 inhibition by nuclear receptors. *Cell* 1996;85:403-14.
20. Horwitz KB, Jackson TA, Bain DL, Richer JK, Takimoto GS, Tung L. Nuclear receptor coactivators and corepressors. *Mol Endocrinol*, 1996;11:67-77.
21. McKenna N, Lanz R, O'Malley B. Nuclear receptor coregulators: Cellular and molecular biology. *Endocr Rev* 1999;20:321-44.
22. Guyton AC, Hall JE. *Textbook of medical physiology*, ninth ed. Philadelphia: W.B. Saunders and company; 1996. p. 1029-30.
23. Cyr MG. Menopause: Introduction to a four-article symposium. *Postgrad Med*, 2000;108:1.
24. Dell DL, Stewart DE. Menopause and mood: Is depression linked with hormonal changes? *Postgrad Med* 2000;108:35-36.
25. Wing RR, Kuller L, Matthews K, Meilahn EN, Platinga PL. Weight gain at the time of menopause. *Arch Intern Med* 1991;151:97-102.
26. Hjortland MC, McNamara PM, Kannel WB. Some atherogenic concomitants of menopause: the Framingham study. *Am J Epidemiol* 1976;103:304-11.
27. Kannel WB. Fifty years of Framingham Study contributions to understanding hypertension. *J Hum Hypertens* 2000;14:83-90.

28. Staessen J, Bulpitt CJ, Fagard R, Lijnen P, Amery A, The influence of menopause on blood pressure. *J Hum Hypertens* 1989;3:427-33.
29. Lin AL, Shain SA. Estrogen-mediated cytoplasmic and nuclear distribution of rat cardiovascular estrogen receptors. *Arteriosclerosis* 1985;5:677.
30. Karas RH, Patterson BL, Mendelsohn ME. Human vascular smooth muscle cells contain functional estrogen receptors. *Circulation* 1994;89:1943-50.
31. Herrington DM. Effects of estrogen on the anatomic and functional sequelae of coronary atherosclerosis. *Hormonal, Metabolic and Cellular Influences on Cardiovascular Disease in Women*. Armonk, 175-192. 1997. Futura.
Ref Type: Pamphlet
32. Bush TL, Barrett-Connor E, Cowan LD. Cardiovascular mortality and noncontraceptive use of estrogen in women: results from the Lipids Research Clinics Program follow-up study. *Circulation* 1987;75:1102-09.
33. Gruchow HW, Anderson AJ, Barboriak JJ, Sobocinski KA. Postmenopausal use of estrogens in women and occlusion of coronary arteries. *Am Heart J* 1988;115:954-63.
34. Walsh BW, Schiff I, Rosner B, Greenberg L, Ravinkar V, Sacks FM. Effects of postmenopausal estrogen replacement on the concentrations and metabolism of plasma lipoproteins. *N Engl J Med* 1991;325:1196-204.
35. Psaty BM, Heckbert SR, Atkins D. A review of the association of estrogens and progestins with cardiovascular disease in postmenopausal women. *Arch Intern Med* 1993;153:1421-27.
36. Nabulsi AA, Folsom AR, White A. Association of hormone replacement therapy with various cardiovascular risk factors in postmenopausal women. *N Engl J Med* 1993;328:1069-75.

37. Vera SM, Evans JC, Larson MG, Wilson PWF. The impact of female hormone usage on the lipid profile: the Framingham offspring study. *Arch Intern Med* 1993;153:2200-06.
38. Manolio TA, Furberg CD, Shemanski L. Associations of postmenopausal estrogen use with cardiovascular disease and its risk factors in older women. *Circulation* 1993;88 pt 1:2163-71.
39. Tikkanen MJ, Nikkila EA, Kuusi T, Sipinen S. High density lipoprotein-2 and hepatic lipase: reciprocal changes produced by estrogen and norgestrel. *J Clin Endocrinol Metab* 1982;54:1117.
40. Hearn J, Donohue BC, Ba'albaki H. Usefulness of serum lipoprotein (a) as a predictor of restenosis after percutaneous transluminal coronary angioplasty. *Am J Cardiol* 1992;69:736-39.
41. Soma MR, Osnago-Gadda I, Paoletti R, Fumagalli R, Morisett JD, Meschia M. The lowering of lipoprotein (a) induced by estrogen plus progesterone replacement therapy in postmenopausal women. *Arch Intern Med* 1993;153:1462-68.
42. Shewmon DA, Stock JL, Abusamra LC, Kristan MA, Baker S, Heiniluoma K. Tamoxifen decreases lipoprotein(a) in women with breast cancer. *Metabolism* 1994;43:531-32.
43. Negre-Salvayre A, Pieraggi MT, Mabile L, Salvayre R. Protective effect of 17- β -estradiol against the cytotoxicity of minimally oxidized LDL to cultured bovine aortic endothelial cells. *Atherosclerosis* 1993;99:209-17.
44. Maziere C, Auclair M, Ronveaux M-F, Salmon S, Santus R, Maziere J-C. Estrogens inhibit copper an cell-mediated modification of low-density lipoprotein. *Atherosclerosis* 1990;89:175-82.

45. Rifici VA, Khachadurian AK, The inhibition of low-density lipoprotein oxidation by 17- β -estradiol. *Metabolism* 1992;41:1110-14.
46. Huber LA, Scheffler E, Poll T, Ziegler R, Dresel HA, 17 Beta-estradiol inhibits LDL oxidation and cholesterol ester formation in cultured macrophages. *Free Rad Res Commun* 1990;8:167-73.
47. Herrington DM, Klein KP. Estrogen replacement and prevention of coronary artery disease in postmenopausal women. *Menopause Manage* 1998;7:8-19.
48. Herrington D. Role of estrogens, selective estrogen receptor modulators and phytoestrogens in cardiovascular protection. *Can J Cardiol* 2000;16 suppl E:5E-9E.
49. Nuedling S, Karas RH, Mendelsohn ME, Katzenellenbogen JA, Meyer R, Vetter H *et al.* Activation of estrogen receptor β is a prerequisite for estrogen-dependent upregulation of nitric oxide synthases in neonatal rat cardiomyocytes. *FEBS Lett*, 2001;502:103-08.
50. Stefano GB, Prevot V, Beauvillain J-C, Cadet P, Fimiani C, Welters I *et al.* Cell-surface estrogen receptors mediate calcium-dependent nitric oxide release in human endothelia. *Circulation* 2000;101:1594-97.
51. Wagner JD, Clarkson TB, St Clair RW, Schwenke DC, Shively CA, Adams MR. Estrogen and progesterone replacement therapy reduces low density lipoprotein accumulation in the coronary arteries of surgically postmenopausal cynomolgous monkeys. *J.Clin Invest*, 1991;88:1995-2002.
52. Williams JK, Adams MR, Klopfenstein HS. Estrogen modulates responses of atherosclerotic coronary arteries. *Circulation* 1990;81:1680-87.

53. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980;288:373-76.
54. Palmer RMJ, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 1987;327:524-26.
55. De Caterina R, Libby P, Peng HB. Nitric oxide decreases cytokine-induced endothelial activation. Nitric oxide selectively reduces endothelial expression of adhesion molecules and proinflammatory cytokines. *J Clin Invest* 1995;96:60-68.
56. de Graaf JC, Banga JD, Moncada S, Palmer RMJ, de Groot PG, Sixma JJ. Nitric oxide functions as an inhibitor of platelet adhesion under flow conditions. *Circulation* 1992;85:2284-90.
57. Cardona-Sanclemente LE, Born GVR. Effect of inhibition of nitric oxide synthesis on the uptake of LDL and fibrinogen by arterial walls and other organs of the rat. *Br J Pharmacol* 1995;114:1490-94.
58. Marks DS, Vita JA, Folts JD, Keaney JFJ, Welch GN, Loscalzo J. Inhibition of neointimal proliferation in rabbits after vascular injury by a single treatment with a protein adduct of nitric oxide. *J Clin Invest* 1995;96:2630-38.
59. Pervin S, Singh R, Rosenfeld ME, Navab M, Chaudhuri G, Nathan L. Estradiol suppresses MCP-1 expression in-vivo: Implications for atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998;18:1575-82.
60. Bar J, Tepper R, Pardo Y, Goldberger S, Ovadia J. The effect of estrogen replacement therapy on platelet aggregation and adenosine triphosphate release in postmenopausal women. *Obstet Gynecol* 1993;81:261-64.

61. Vargas R, Wroblewska B, Rego A, Hatch J, Ramwell PW. Oestradiol inhibits smooth muscle cell proliferation of pig coronary artery. *Br J Pharmacol* 1993;109:612-17.
62. Bolotina BM, Najibi S, Palacino JJ, Pagano PG, Cohen RA. Nitric oxide directly activates calcium-dependent potassium channels in vascular smooth muscle. *Nature* 1994;368:850-53.
63. Chen Z, Yuhanna IS, Galcheva-Gargova Z, Karas RH, Mendelsohn ME, Shaul PW. Estrogen receptor mediates the non-genomic activation of endothelial nitric oxide synthase by estrogen. *J Clin Invest* 1999;103:401-06.
64. Samaan SA, Crawford MH. Estrogen and cardiovascular function after menopause. *J Am Coll Cardiol* 1995;26:1403-10.
65. Chang WC, Nakao J, Orimo H, Murota SI. Stimulation of prostacyclin biosynthetic activity by estradiol in rat aortic smooth muscle cells in culture. *Biochim Biophys Acta* 1980;619:107-18.
66. Trends in ischemic heart disease mortality- United States, 1980-1988. *Morb Mortal Weekly Rep* 1992;41:548-56.
67. Grodstein F, Stampfer MJ, Manson JE. Postmenopausal estrogen and progestin use and the risk of cardiovascular disease. *N Engl J Med* 1996;335:453-61.
68. Grodstein F, Stampfer MJ, Colditz GA. Postmenopausal hormone therapy and mortality. *N Engl J Med*, 1997;336:1769-75.
69. Writing group for the PEPI trial. Effects of estrogen or estrogen/progestin regimens on heart disease risk factors in postmenopausal women: the Postmenopausal Estrogen/Progestin Interventions (PEPI) Trial. *JAMA* 1995;273:199-208.
70. Peterson LR. Estrogen replacement therapy and coronary artery disease. *Curr Opin Cardiol* 1998;13:223-31.

71. Wood MJ, Cox JL. HRT to prevent cardiovascular disease: What studies show, how to advise patients. *Postgrad Med*, 2000;108:60-61.
72. Moreau, M. and Ibbott, T. Guide Nouveau Départ: Comprendre la ménopause (pour le médicament Prométrium), distribué par Schering Canada. 2-5. 1995.
Ref Type: Pamphlet
73. Hulley S, Grady D, Bush T, Furberg C, Herrington D, Riggs B, Vittinghoff B. for the Heart and estrogen/progestin Replacement Study (HERS) Research Group. Randomized trial of estrogen plus progestin for secondary prevention of coronary heart disease in postmenopausal women. *JAMA* 1998;280:605-13.
74. Eiken P, Kolthoff N. Compliance with long-term oral hormonal replacement therapy. *Maturitas* 1995;22:97-103.
75. Nerhood RC. Making a decision about ERT/HRT: Evidence to consider initiating and continuing protective therapy. *Postgrad Med* 2001;109:167-78.
76. Sato M, Glasebrook AL, Bryant HU. Raloxifene: a selective estrogen receptor modulator. *J Bone Miner. Metab.* 1994;12:S9-S20.
77. Osborne CK. Selective estrogen receptor modulators: structure, function and clinical use. *J Clin Oncol* 2000;18:3172-86.
78. Paech K, Webb P, Kuiper GG, Nilsson S, Gustafsson J, Kushner PJ, Scanlan TS. Differential ligand activation of estrogen receptors ER and ER at AP1 sites. *Science* 1997;277:1508-10.
79. Goldstein SR, Siddhanti S, Ciaccia AV, Plouffe Jr L. A pharmacological review of selective estrogen receptor modulators. *Human Reproduction Update* 2000;6:212-24.

80. Grese TA, Sluka JP, Bryant HU, Cullinan GJ, Glasebrook AL, Jones CD, Matsumoto K, Palkowitz AD, Sato M, Termine JD, Winter MA, Yang NN, Dodge JA. Molecular determinants of tissue selectivity in estrogen receptor modulators. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997;94:14105-10.
81. Bryant HU, Glasebrook AL, Yang NN, Sato M. A pharmacological review of raloxifene. *J Bone Miner Metab* 1995;14:1-9.
82. Buelke-Sam J, Bryant HU, Francis PC. The selective estrogen receptor modulator, raloxifene: an overview of nonclinical pharmacology and reproductive and developmental testing. *Reprod Toxicol* 1998;12:217-21.
83. Black LJ, Sato M, Rowley ER, Magee DE, Bekele A, Williams DC, Cullinan GJ, Bendele R, Kauffman RF, Bensch WR *et al.* Raloxifene (LY 139481 HCl) prevents bone loss and reduces serum cholesterol without causing uterine hypertrophy in ovariectomized rats. *J Clin Invest*, 1994;93:63-69.
84. Sato M, McClintock C, Kim J, Turner CH, Bryant HU, Magee D, Slemenda CW. Dual-energy X-ray absorptiometry of raloxifene effects on lumbar vertebrae and femora in ovariectomized rats. *J Bone Miner Res* 1994;9:715-24.
85. Turner CH, Sato M, Bryant HU. Raloxifene preserves bone strength and bone mass in ovariectomized rats. *Endocrinology* 1994;135:2001-05.
86. Figtree GA, Lu Y, Webb CM, Collins P. Raloxifene acutely relaxes rabbit coronary arteries in vitro by an estrogen receptor-dependent and nitric oxide-dependent mechanism. *Circulation* 1999;100:1095-101.
87. Sato M, Rippy MK, Bryant HU. Raloxifene, Tamoxifen, Nafoxidine, or estrogen effects on reproductive and nonreproductive tissues in ovariectomized rats. *FASEB J*. 1996;10:905-12.

88. Bjarnason NH, Haarbo J, Byrjalsen I, Kauffman RF, Christiansen C. Raloxifene inhibits aortic accumulation of cholesterol in ovariectomized, cholesterol-fed rabbits. *Circulation* 1997;96:1964-69.
89. Wakeling AE, Valcaccia B, Newbould, Green LR. Non-steroidal antiestrogens-receptor binding and biological response in rat uterus, rat mammary carcinoma and human breast cancer cells. *J Steroid Biochem.* 1984;20:111-20.
90. Gottardis MM, Robinson SP, Jordan VC. Estradiol-stimulated growth of MCF-7 tumors implanted in athymic mice: a model to study the tumoristatic action of tamoxifen. *J Steroid Biochem* 1988;30:311-14.
91. Frolik CA, Bryant HU, Black EC, Magee D, Chandrasekhar S. Time-dependant changes in biochemical bone markers and serum cholesterol in ovariectomized rats: effects of raloxifene HCl, tamoxifen, estrogen and alendronate. *Bone* 1996;18:621-27.
92. Williams JK, Wagner JD, Li Z, Golden DL, Adams MR. Tamoxifen inhibits arterial accumulation of LDL degradation products and progression of coronary artery arteriosclerosis in monkeys. *Arteriosler Thromb Vasc Biol* 1997;17:403-08.
93. Wakeling AE, Valcaccia B. Antiestrogenic and antitumour activities of a series of non-steroidal antiestrogens. *J Endocrinol* 1983;99:455-64.
94. Wakeling AE, O'Connor KM, Newbould E. Comparison of the biological effects of tamoxifen and a new antiestrogen (LY 117018) on the immature rat uterus. *J Endocrinol* 2001;99:447-53.
95. Grey AB, Stapleton JP, Evans MC, Reid IR. The effect of the anti-estrogen tamoxifen on cardiovascular risk factors in normal post-menopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 1995;80:3191-95.

96. Guetta V, Lush RM, Figg WD, Waclawiw MA, Cannon RO 3rd. Effects of the antiestrogen tamoxifen on low-density lipoprotein concentrations and oxidation in postmenopausal women. *Am J Cardiol* 1995;76:1072-73.
97. Love RR, Wiebe DA, Feyzi JM, Newcomb PA, Chapell RJ. Effects of tamoxifen on cardiovascular risk factors in postmenopausal women after 5 years of treatment. *J Natl Cancer Inst* 1994;86:1534-39.
98. Anker G, Lonning PE, Ueland PM, Refsum H, Lien EA. Plasma levels of the atherogenic amino acid homocysteine in postmenopausal women with breast cancer treated with tamoxifen. *Int J Cancer* 1995;60:365-68.
99. Cattaneo M, Baglietto L, Zighetti ML, Bettega D, Robertson C, Costa A, Mannucci PM, Decensi A. Tamoxifen reduces plasma homocysteine levels in healthy women. *Br J Cancer* 1998;77:2264-66.
100. Chlebowski RT, Collyar DE, Somerfield MR, Pfister DG. American Society of clinical oncology technology assessment on breast cancer risk reduction strategies: tamoxifen and raloxifene. *J Clin Oncol* 1999;17:1939-55.
101. McDonald CC, Alexander FE, Whyte BW, Forrest AP, Stewart HJ. Cardiac and vascular morbidity in women receiving adjuvant tamoxifen for breast cancer in randomized trial. The Scottish Cancer Trials Breast Group. *Br Med J* 1995;311:977-80.
102. Rutqvist LE, Mattsson A. Cardiac and thromboembolic morbidity among postmenopausal women with early-stage breast cancer in a randomized trial of adjuvant tamoxifen. The Stockholm Breast Cancer Study Group. *J Natl Cancer Inst* 1993;85:1938-406.
103. McDonald CC, Stewart HJ. Fatal myocardial infarction in the Scottish adjuvant tamoxifen trial. The Scottish Breast Cancer Committee. *Br Med J* 1991;303:435-37.

104. Costantino JP, Kuller LH, Ives DG, Fisher B, Dignam J, Coronary heart disease mortality and adjuvant tamoxifen therapy. *J Natl Cancer Inst* 1997;89:776-82.
105. Fisher B, Costantino JP, Wickerham DL, Redmond CK, Kavanah M, Cronin WM, Vogel V, Robidoux A, Dimitrov N, Atkins J, Daly M, Wieand S, Tan-Chiu E, Ford L, Wolmark N. Tamoxifen for prevention of breast cancer: report of the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project P-1 Study. *J Natl Cancer Inst* 1998;90:1371-88.
106. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group, Tamoxifen for early breast cancer: an overview of the randomized trials. *Lancet* 1998;351:1451-67.
107. Barakat RR. Tamoxifen and the endometrium. *Cancer Treat Res* 1998;94:195-207.
108. Fisher B, Costantino JP, Redmond CK, Fisher ER, Wickerham DL, Cronin WM. Endometrial cancer in tamoxifen-treated breast cancer patients: findings from the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project (NSABP) B-14. *J Natl Cancer Inst* 1994;86:527-37.
109. Katzenellenbogen JA, O'Malley BW, Katzenellenbogen BS. Tripartite steroid hormone pharmacology: Interaction with multiple effector sites as a basis for the cell-and-promoter-specific action of these hormones. *Mol Endocrinol* 1996;10:119-31.
110. Martin PM, Bererthois Y, Jensen EV. Binding of antiestrogens exposes an occult antigenic determinant in human estrogen receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;85:2533-37.
111. McDonnell DP, Clemm DL, Hermann T, Goldman ME, Pike JW. Analysis of estrogen receptor *in vitro* reveals three distinct classes of antiestrogens. *Mol Endocrinol* 1995;9:659-69.

112. Brzozowski AM, Pike AC, Dauter Z, Hubbard RE, Bonn T, Engstrom O, Ohman L, Greene GL, Gustafsson JA, Carlquist M. Molecular basis of agonism and antagonism in the oestrogen receptor. *Nature* 1997;389:753-58.
113. Paige LA, Christensen DJ, Gron H, Norris JD, Gottlin EB, Padilla KM, Chang CY, Ballas LM, Hamilton PT, McDonnell DP, Fowlkes DM. Estrogen receptor modulators each induce distinct conformational changes in ER and ER. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:3999-4004.
114. Pike AC, Brzozowski AM, Hubbard RE, Bonn T, Thorsell AG, Engstrom O, Ljunggren J, Gustafsson JA, Carlquist M. Structure of the ligand-binding domain of oestrogen receptor beta in the presence of a partial agonist and a full antagonist. *EMBO J* 1999;18:4608-18.
115. Jackson TA, Richer JK, Bain DL, Takimoto GS, Tung L. The partial agonist activity of antagonist-occupied steroid receptors is controlled by a novel hinge domain-binding coactivator L7/SPA and the corepressors N-CoR or SMRT. *Mol Endocrinol* 1997;11:693-705.
116. Smith CL, Nawaz Z, O'Malley BW. Coactivator and corepressor regulation of the agonist/antagonist activity of the mixed antiestrogen, 4-hydroxytamoxifen. *Mol Endocrinol* 1997;11:657-66.
117. Lavinsky RM, Jepsen K, Heinzl T, Torchia J, Mullen TM, Schiff R, Del-Rio AL, Ricote M, Ngo S, Gemsch J, Hilsenbeck SG, Osborne CK, Glass CK, Rosenfeld MG, Rose DW. Diverse signaling pathways modulate nuclear receptor recruitment of N-CoR and SMRT complexes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:2920-25.
118. Webb P, Nguyen P, Shinsako J, Anderson C, Feng W, Nguyen MP, Chen D, Huang SM, Subramanian S, McKinerney E, Katzenellenbogen BS, Stallcup MR, Kushner PJ. Estrogen receptor activation function 1 works by binding p160 coactivator proteins. *Mol Endocrinol*, 1998;12:1605-18.

119. Endoh H, Maruyama K, Masuhiro Y, Kobayashi Y, Goto M, Tai H, Purification and identification of p68 RNA helicase acting as a transcriptional coactivator specific for the activation function-1 of human estrogen receptor alpha. *Mol Cell Biol* 1999;19:5363-72.
120. Dutertre M, Smith CL. Molecular mechanisms of selective estrogen receptor modulator (SERM) action. *The journal of pharmacology and experimental therapeutics* 2000;295:431-37.
121. Hall JM, McDonnell DP. The estrogen receptor -isoform (ER) of the human estrogen receptor modulates ER transcriptional activity and is a key regulator of the cellular response to estrogens and antiestrogens. *Endocrinology* 1999;140:5566-78.
122. Jones PS, Parrott E, White IN. Activation of transcription by estrogen receptor alpha and beta is cell-type and promoter-dependent. *J Biol Chem* 1999;274:32008-14.
123. Kalu DN, Salerno E, Liu CC, Echon R, Ray M, Garza-Zapata M, Hollis BW, A comparative study of the actions of tamoxifen, estrogen, and progesterone in the ovariectomized rat. *J Bone Miner Res* 1991;15:109-23.
124. Amidon T. Hypertension. *Postgrad Med* 1996;100:1-2.
125. Communiqué de presse-Selon une nouvelle étude, les Américains contrôlent deux fois mieux l'hypertension que les Canadiens. 2-1-2002.
Ref Type: Internet Communication
126. Touyz RM. Molecular and cellular mechanisms regulating vascular function and structure-Implications in the pathogenesis of hypertension. *Can J Cardiol* 2000;16:1137-46.
127. Baumbach GL, Heistad DD. Remodeling of cerebral arterioles in chronic hypertension. *Hypertension* 1989;13:968-72.

128. Heagerty AM, Aalkjaer C, Bund SJ, Korsgaard N, Mulvany MJ. Small artery structure in hypertension: dual processes of remodeling and growth. *Hypertension* 1993;21:391-97.
129. Mulvany MJ, Baumbach GL, Aalkjaer C, Heagerty AM, Korsgaard N, Schiffrin EL *et al.* Vascular remodeling. *Hypertension* 1996;28:505-06.
130. Diez J, Lopez B, Gonzalez A, Querejeta R. Clinical aspects of hypertensive myocardial fibrosis. *Curr Opin Cardiol* 2001;16:328-35.
131. Swynghedauw B. Molecular mechanisms of cardiac remodelling. *Physiol Rev* 1999;79:215-62.
132. Hatt PY, Marie JP, Guillemot H. Le degré de granulation des cardiocytes auriculaires. Étude planimétrique au cours des différents apports d'eau et de sodium chez le rat. *Pathol Biol (Paris)* 1976;24:549-55.
133. Drexler H, Hanze J, Finckh W, Lu H, Lang RE. Atrial natriuretic peptide in a rat model of cardiac failure: atrial and ventricular mRNA, atrial content, plasma levels and effect of volume loading. *Circulation* 1989;79:620-33.
134. Franch HA, Dixon RAF, Blaine EH, Siegl PKS. Ventricular atrial natriuretic factor in the cardiomyopathic hamster model of congestive heart failure. *Circ Res* 1988;62:31-36.
135. Mercadier J, Samuel J, Michel JB, Zongaro MA, De la Bastie D, Lompré A-M, Wisnewsky C, Rappaport L, Ley B, Schwartz K. Atrial natriuretic factor gene expression in rat ventricle during experimental hypertension. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1989;26:H979-H987.
136. Nishigaki K, Tomita M, Kagawa K, Noda T, Minatoguchi S, Oda H. Marked expression of plasma brain natriuretic peptide is a special feature of hypertrophic obstructive cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 1996;28:1234-42.

137. Takahashi T, Allen PD, Izumo S. Expression of A-,B-,C-type natriuretic peptide gene in failing and developing human ventricle: correlation with expression of the Ca²⁺-ATPase gene. *Circ Res* 1992;71:9-17.
138. Colditz GA, Willett WC, Stampfer MJ, Rosner B, Speizer FE, Hennekens CH. Menopause and the risk of coronary heart disease in women. *N Engl J Med* 1987;316:1105-10.
139. Hong MK, Romm PA, Reagan K, Green CE, Rackley CE. Effects of estrogen replacement therapy on serum lipid values and angiographically defined coronary artery disease in postmenopausal women. *Am J Cardiol* 1992;69:176-78.
140. Heckbert SR, Weiss NS, Koepsell TD, Lemaitre RN, Smith NL, Siscovick DS, Lin D, Psaty BM. Duration of estrogen replacement therapy in relation to the risk of incident myocardial infarction in postmenopausal women. *Arch Intern Med* 1997;157:1330-36.
141. Grohè C, Kahlert S, Lobbert K, Van Eickels M, Stimpel M, Vetter H, Neyses L. Effects of moexiprilat on oestrogen-stimulated cardiac fibroblast growth. *Br J Pharmacol* 1997;121:1350-54.
142. Grohè C. Cardiac myocytes and fibroblasts contain functional estrogen receptors. *FEBS Lett*, 1997;416:107-12.
143. Ellis ML, Patterson JH. A new class of antihypertensive therapy: angiotensin II receptor antagonists. *Pharmacotherapy* 1996;16:849-60.
144. Welches WR, Brosnihan KB, Ferrario CM. A comparison of the properties and enzymatic activity of three angiotensin processing enzymes: angiotensin converting enzyme, prolyl endipeptidase, and natural endopeptidase. *Life Sci*. 1993;52:1461-80.

145. Corvol P, Michaud A, Soubrier F, Williams T. Recent advances in knowledge of the structure and function of the angiotensin I converting enzyme. *J.Hypertens.* 1995;13 (suppl 3):S3-S10.
146. Villard E, Soubrier F. Molecular biology and genetics of the angiotensin-I-converting enzyme: potential implications in cardiovascular diseases. *Cardiovasc Res* 1996;32:999-1007.
147. Chappell MC, Pirro NT, Sykes A, Ferrario CM. Metabolism of angiotensin (1,7) by angiotensin-converting enzyme. *Hypertension* 1998;29:394-400.
148. Vaughan D. Pharmacology of ACE inhibitors versus AT1 blockers. *Can J Cardiol* 2000;16:36E-40E.
149. Baan Jr J. AT1-receptor antagonists for the treatment of chronic heart failure. *Cardiovasc Res* 1999;41:14-15.
150. Lacourciere Y, Lefebvre J, Nahkle G, Faison EP, Snavely DB, Nelson EB. Association between cough and angiotensin converting enzyme inhibitors versus angiotensin II antagonists: the design of a prospective, controlled study. *J Hypertens Suppl* 1994;12:S49-S53.
151. Siragy HM. Angiotensin II receptor blockers: Review of the binding characteristics. *Am J Cardiol* 1999;84:3S-8S.
152. Dzau VJ. Implications of local angiotensin production in cardiovascular physiology and pharmacology. *Am J Cardiol* 1987;59:59A-65A.
153. Muller DN, Luft FC. The renin-angiotensin system in the vessel wall. *Bas Res Cardiol* 1998;93:7-14.
154. Ikeda M, Sasaguri M, Maruta H, Arakawa K. Formation of angiotensin II by tonin-inhibitor complex. *Hypertension* 1988;11:63-70.

155. . Balcells, E., Meng, Q.C., Johnson, W.H. Jr, Oparil, S., Dell'Italia, L., Angiotensin II formation from ACE and chymase in human and animal hearts: methods and species considerations, , 1997; 273, p. Am J Physiol 1997;273:H1769-H1774.
156. 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;32:387-92.
157. Brosnihan KH, Weddel D, Anthony MS, Heise C, Li P, Ferrario CM. Effects of chronic hormone replacement on the renin-angiotensin system in cynomologous monkeys. J.Hypertens. 1997;15:719-26.
158. Brosnihan KB, Li P, Gantan D, Ferrario CM. Estrogen protects transgenic hypertensive rats by shifting the vasoconstrictor-vasodilator balance of RAS. Am J Physiol (Regul Integr Comp Physiol.) 1997;273:R1908-R1915.
159. Gallagher PE, Li P, Lenhart JR, Chappell MC, Brosnihan KB. Estrogen regulation of Angiotensin-Converting Enzyme mRNA. Hypertension 1999;33 (part II):323-28.
160. Dahlof B. Left ventricular hypertrophy and angiotensin II antagonists. Am J Hypertens 2001;14:174-82.
161. de Gasparo M, Levens N. Does blockade of angiotensin II receptors offer clinical benefits over inhibition of angiotensin converting enzyme? Pharmacol Toxicol, 1998;82:257-71.
162. Bermann MA, Walsh MF, Sowers JR. Angiotensin-II biochemistry and physiology: update on angiotensin-II receptor blockers. Cardivasc Drug Rev 1997;15:75-100.
163. Kamp TJ, Hell JW. Regulation of cardiac L-type calcium channels by protein kinase A and protein kinase C. Circ Res 2000;87:1095-102.

164. Siragy HM, Ibrahim MM, Jaffa AA, Mayfield R, Margolius HS. Rat renal interstitial bradykinin, prostaglandinE2 and cyclic guanosine 3', 5'-monophosphate. Effects of altered sodium intake. *Hypertension*, 1994;23:1068-70.
165. Siragy HM, Carey RM. The subtype-2 (AT2) angiotensin receptor regulates renal cyclic guanosine 3', 5'-monophosphate and AT1 receptor-mediated prostaglandin E2 production in conscious rats. *J Clin Invest* 1996;97:1978-82.
166. Scheiffer B, Paxton WG, Marrero MB, Bernstein KE. Importance of tyrosine phosphorylation in angiotensin II type 1 receptor signalling. *Hypertension* 1996;27:476-80.
167. Nickenig G, Grohè C, Baumer AT, Kahlert S, Strehlow K, Rosenkranz S, Stablein A, Beckers F, Smits JF, Daemen MJ, Vetter H, Bohm M. Estrogen modulates AT1 receptor gene expression in vitro and in vivo. *Circulation* 1998;97:2197-201.
168. Carey RM, Wang ZQ, Siragy HM. Role of the angiotensin type 2 receptor in the regulation of blood pressure and renal function. *Hypertension* 2000;35:155-63.
169. Inagami T, Eguchi S, Numaguchi K, Motley ED, Tang H, Matsumoto T, Yamakawa T. Cross-talk between angiotensin II receptors and the tyrosine kinases and phosphatases. *J Am Soc Nephrol* 1999;10:S57-S61.
170. Tsuzuki S, Matoba T, Eguchi S, Inagami T. Angiotensin type-2 receptor inhibits cell proliferation and activates tyrosine phosphatase. *Hypertension* 1996;28:916-18.
171. Yamada T, Horiuchi M, Dzau VJ. Angiotensin II type 2 receptor mediates programmed cell death. *Proc Nat Acad Sci USA* 1996;93:156-60.
172. van Kesteren CA, van Heugten HA, Lamers JM, Saxena PR, Schalekamp MA, Danser AH. Angiotensin II- mediated growth

- and antigrowth effects in cultured neonatal rat cardiac myocytes and fibroblasts. *J Mol Cell Cardiol* 1997;29:2147-57.
173. Matsukawa T, Ichikawa I. Biological functions of angiotensin and its receptors. *Ann Rev Physiol* 1997;59:395-412.
174. Pittman RN, Wang S, DiBenedetto AJ, Mills JC. A system for characterizing cellular and molecular events in programmed neuronal cell death. *J Neurosci* 1993;13:3669-80.
175. Siragy HM, Jaffa AA, Margolius HS, Carey RM. Renin-angiotensin system modulates renal bradykinin production. *Am J Physiol* 1996;271:R-1090-R-1095.
176. Mateo AO, De Artinano A. Highlights on endothelins: a review. *Pharmacological research* 1997;36:339-51.
177. Furchgott RF. Studies on relaxation of rabbit aorta by sodium nitrite: the basis for the proposal that the acid-activatable inhibitory factor from retractor penis is inorganic nitrite and the endothelium-derived relaxing factor is nitric oxide., In Vanhoutte, P.M., *Vasodilation: Vascular Smooth Muscle, Peptides, Autonomic Nerves and Endothelium*. New York: Raven Press; 1988. p. 401-14.
178. Ignarro LJ, Byrns RE, Woods KS. Biochemical and pharmacological properties of endothelium-derived relaxing factor and its similarity to nitric oxide radical, In Vanhoutte, P.M., ed. *Vasodilation: Vascular Smooth Muscle, Peptides, Autonomic Nerves and Endothelium*. New York: Raven Press; 1988. p. 427-36.
179. Gillespie MN, Owasoyo JO, McMurty IF, O'Brien RF. Sustained coronary vasoconstriction provoked by a peptidergic substance released from endothelial cells in culture. *J Pharmacol Exp Ther* 1985;236:339-43.

180. Hickey KA, Rubanyi G, Paul RJ, Highsmith RF. Characterization of a coronary vasoconstrictor produced by cultured endothelial cells. *Am J Physiol* 1985;248:C-550-C-556.
181. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomobe Y, Kobayashi M, Mitsui Y, Yazaski Y, Goto K, Masaki T. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* 1988;332:411-15.
182. Sakurai T, Yanagisawa M, Inoue A, Ryan US, Kimura S, Mitsui I Goto K, Masaki T. cDNA cloning, sequence analysis and tissue distribution of rat pre-proendothelin-1 mRNA. *Biochem Biophys Res Commun* 1991;175:44-47.
183. Dupuis J. Endothelin receptor antagonists and their developing role in cardiovascular therapeutics. *Can J Cardiol* 2000;16:903-10.
184. Dupuis J, Stewart DJ, Cernacek P, Gosselin G. Human pulmonary circulation is an important site for both clearance and production of endothelin-1. *Circulation* 1996;94:1578-84.
185. Dupuis J, Goresky CA, Fournier A. Pulmonary clearance of circulating endothelin-1 in dogs in vivo: exclusive role of ETB receptors. *J Appl Physiol* 1996;81:1510-15.
186. Dupuis J, Goresky CA. Endothelin-1 myocardial clearance and production and effect on capillary permeability in vivo. *Am J Physiol* 1997;273:H-1239-H-1245.
187. Dupuis J, Schwab AJ, Simard A, Cernacek P, Stewart DJ, Goresky CA. Kinetics of endothelin-1 binding in the dog liver microcirculation in vivo. *Am J Physiol* 1999;277:G-905-G-914.
188. de Nucci G, D'Orleans-Juste P, Antunes E, Walder C, Warner TD, Vane JR. Pressor effects of circulating endothelin are limited by its removal in the pulmonary circulation and by the release of prostacyclin and endothelium-derived relaxing factor. *Proc Nat Acad Sci USA* 1988;85:9797-800.

189. Sato K, Oka M, Hasunuma K, Ohnishi M, Kira S. Effects of separate and combined ETA and ETB blockade on ET-1 induced constriction in perfused rat lungs. *Am J Physiol* 1995;269:L-668-L-672.
190. Verhaar MC, Strachan FE, Newby DE. Endothelin-A receptor antagonist-mediated vasodilation is attenuated by inhibition of nitric oxide synthesis and by endothelin-B receptor blockade. *Circulation* 1998;97:752-56.
191. Lal H, Woodward B, Williams KI. Investigation of the contributions of nitric oxide and prostaglandins to the actions of endothelins and safrotoxin 6c in rat isolated perfused lungs. *Br J Pharmacol* 1996;118:1931-38.
192. Teerlink JR, Breu V, Sprecher U, Clozel M, Clozel JP. Potent vasoconstriction mediated by endothelin ETB-receptors in canine coronary arteries. *Circ Res* 1994;74:105-14.
193. Haynes WG, Strachan FE, Gray GA, Webb DJ. Forearm vasoconstriction to endothelin-1 is mediated by ETA and ETB receptors in vivo in humans. *J Cardiovasc Pharmacol* 1995;26:S-40-S-43.
194. d'Uscio LV, Moreau P, Shaw S, Takase H, Barton M, Luscher TF. Effects of chronic ETA-receptor blockade in Angiotensin II-induced hypertension. *Hypertension* 1997;29 (part 2):435-41.
195. Sung CP, Arleth AJ, Storer BL, Ohlstein EH. Angiotensin type 1 receptors mediate smooth muscle proliferation and endothelin biosynthesis in rat vascular smooth muscle. *J Pharmacol Exp Ther* 1994;271:429-37.
196. Dohi YA, Hahn WA, Boulanger CM, Bühler FR, Luscher TF. Endothelin stimulated by angiotensin II augments contractility of spontaneously hypertensive rat resistance arteries. *Hypertension* 1992;19:131-37.

197. Imai T, Hirata Y, Emori T, Yaganisawa M, Masaki T, Marumo F. Induction of endothelin-1 gene by angiotensin and vasopressin in endothelial cells. *Hypertension* 1992;19:753-57.
198. Ito H, Hirata Y, Adachi S, Tanaka M, Tsujino M, Koike A, Nogami A, Murumo F, Hiroe M. Endothelin-1 is an autocrine/paracrine factor in the mechanism of angiotensin II - induced hypertrophy in cultured rat myocytes. *J Clin Invest* 1993;92:398-403.
199. Kohno M, Horio T, Ikeda M, Yokokawa K, Fukui T, Yasunari K, Kurihara N, Takeda T. Angiotensin II stimulates endothelin-1 secretion in cultures rat mesangial cells. *Kidney Int.* 1992;42:860-66.
200. Yoshida K, Yasujima M, Kohzuki M, Kanazawa M, Yoshinaga K, Abe K. Endothelin-1 augments response to angiotensin II infusion in rats. *Hypertension* 1992;20:292-97.
201. Boulanger CM, Caputo L, Lévy BI. Endothelial AT1-mediated release of nitric oxide decreases angiotensin II contractions in the rat carotid artery. *Hypertension* 1995;26:752-57.
202. Herrmann J, Lerman A. The endothelium: Dysfunction and beyond. *J Nucl Cardiol* 2001;8:197-206.
203. Moncada S, Vane JR. Pharmacology and endogenous roles of prostaglandin endoperoxides, thromboxane A₂ and prostacyclin. *Pharmacol Rev* 1978;30:293-331.
204. Viridis A, Ghiadoni L, Pinto S, et al. Mechanisms responsible for endothelial dysfunction associated with acute estrogen deprivation in normotensive women. *Circulation* 2000;101:2258-63.
205. Hashimoto M, Akishita M, Eto M, et al. Modulation of endothelium-dependent flow-mediated dilation of the brachial artery by sex and menstrual cycle. *Circulation* 1995;92:3431-35.

206. Celermajer DS, Sorensen KE, Spiegelhalter DJ, Georgakopoulos D, Robinson J, Deanfield JE. Aging is associated with endothelial dysfunction in healthy men years before the age-related decline in women. *J Am Coll Cardiol* 1994;24:471-76.
207. Best PJM, Berger PB, Miller VM, Lerman A. The effect of estrogen replacement therapy on plasma nitric oxide and endothelin-1 levels in postmenopausal women. *Ann Intern Med* 1998;128:285-88.
208. Bilsel AS, Moini H, Tetik E, Aksungar F, Kaynak B, Ozer A. 17- β -estradiol modulates endothelin-1 expression and release in human endothelial cells. *Cardiovasc Res* 2000;46:579-84.
209. Schray-Utz B, Zeiher AM, Busse R. Expression of constitutive NO synthase in cultured endothelial cell is enhanced by 17- β -estradiol. *Circulation* 1993;88:1-80.
210. Hishikawa K, Nakaki T, Marumo T, Suzuki H, Kato R, Saruta T. Up-regulation of nitric oxide synthase by estradiol in human aortic endothelial cells. *FEBS Lett*, 1995;36:291-93.
211. Boulanger C, Luscher TF. Release of endothelin from the porcine aorta. *J Clin Invest* 1990;85:587-90.
212. Saijonmaa O, Ristimaki A, Fyrhquist F. Atrial natriuretic peptide, nitroglycerine, and nitroprusside reduce basal and stimulated endothelin. *Biochem Biophys Res Commun* 1990;173:514-20.
213. Sinley L, Lewis MJ. Nitric oxide modulates endothelin release from porcine cultured endocardial endothelium. *Endothelium* 1994;2:169-75.
214. Rodeheffer RJ, Lerman A, Heublein DM, Burnett Jc Jr. Increased plasma concentrations of endothelin in congestive heart failure in humans. *Mayo Clin Proc* 1992;67:719-24.

215. Mohamed MK, Abdel-Rahman AA. Effect of long-term ovariectomy and estrogen replacement on the expression of estrogen receptor gene in female rats. *Eur J Endocrinol* 2000;142:307-14.
216. Nguyen QT, Colombo F, Rouleau JL, Dupuis J, Calderone A. LU135252, an endothelinA receptor antagonist did not prevent pulmonary vascular remodeling or lung fibrosis in a rat model of myocardial infarction. *Br J Pharmacol* 2000;130:1525-30.
217. Pickering JG, Ford CM, Chow LH. Evidence for rapid accumulation and persistently disordered architecture of fibrillar collagen in human coronary restenosis lesions. *Am J Cardiol* 1996;78:633-37.
218. Davidge ST, Zhang Y, Stewart KG. A comparison of ovariectomy models for estrogen studies. *Am J Physiol (Regul Integr Comp Physiol.)* 2001;280:R904-R907.
219. Smith PJW, Ornatsky O, Stewart DJ, Picard P, Dawood F, Wen WH, Liu PP, Webb DJ, Monge JC. Effects of estrogen replacement on infarct size, cardiac remodeling, and the endothelin system after myocardial infarction in ovariectomized rats. *Circulation* 2000;102:2983-89.
220. Reckelhoff JF, Kellum JA, Blanchard EJ, Bacon EE, Wesley AJ, Kruckeberg WC. Changes in nitric oxide precursor L-Arginine and metabolites, nitrate and nitrite with aging. *Life Sci* 1994;55:1895-902.
221. Acs N, Szekacs B, Nadasy GL, Varbiro S, Kakucs R, Monos E. The effects of ovariectomy and oestrogen replacement on small artery biomechanics in the rat. *Br J Obstet Gynaecol* 1999;106:148-54.
222. Delgado JL, Landeras J, Carbonell LF, Parrilla JJ, Abad L, Quesada T, *et al.* Effect of N-Acetyl-cysteine on vascular endothelium function in aorta from oophorectomized rats. *Gen Pharmacol* 1998;32:23-27.

223. Mosquera A, Calvo C, Alonso M, Macia M, Cores M. Long-term effect of bilateral ovariectomy on endothelial function in aortic rings of spontaneously hypertensive rats: role of nitric oxide. *Gynecol Endocrinol* 2001;15:158-64.
224. Kauser K, Rubanyi GM. Gender difference in bioassayable endothelium-derived NO from isolated rat aortas. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1994;267:H2311-H2317.
225. Hayashi T, Fukutto JM, Ignarro LJ, Chaudhuri G. Basal release of nitric oxide from aortic rings is greater in female rabbits than in male rabbits: implication for atherosclerosis. *Proc Nat Acad Sci USA* 1992;89:11263.
226. Hernandez I, Delgado JL, Diaz J, Quesada T, Teruel MJ, Llanos MC, Carbonell LF. 17beta-estradiol prevents oxidative stress and decreases blood pressure in ovariectomized rats. *Am J Physiol (Regul Integr Comp Physiol.)* 2000;Nov; 279:R1599-R1605.
227. Nuedling S, Kahlert S, Loebbert K, Doevendans PA, Meyer R, Vetter H, Grohè C. 17 beta estradiol stimulates expression of endothelial and inducible NO synthase in rat myocardium in-vitro and in-vivo. *Cardiovasc Res* 1999;43:666-74.
228. Paulus WJ, Vantrimpont PJ, Shah AM. Acute effects of nitric oxide on left ventricular relaxation and diastolic distensibility in humans. *Circulation* 1994;89:2070-78.
229. Prendergast BD, Sagach VF. Basal release of nitric oxide augments the Frank-Starling response in the isolated heart. *Circulation* 1997;96:1320-29.
230. Grossman W, Jones D, McLaurin LP. Wall stress and patterns of hypertrophy in the human left ventricle. *J Clin Invest* 1975;56:56-64.
231. Calderone A, Takahashi N, Izzo NJ, Thaik CM, Colucci WS. Pressure-and volume-induced left ventricular hypertrophies are

associated with distinct myocyte phenotypes and differential induction of peptide growth factor mRNAs. *Circulation* 1995;92:2385-90.

232. Boluyt MO, Bing OHL. The lonely failing heart: a case for ECM genes. *Cardiovasc Res* 1995;30:835-40.
233. Weber KT, Brilla CG. Pathological hypertrophy and cardiac interstitium. *Circulation* 1991;83:1849-65.
234. Scheuer J, Malhotra A, Schaible TF, Capasso J. Effects of gonadectomy and hormonal replacement on rat hearts. *Circ Res* 1987;61:12-19.
235. Weinberg EO, Thienelt CD, Katz SE, Bartunek J, Tajima M, Rohrbach S, Douglas PS, Lorell BH. Gender differences in molecular remodeling in pressure overload hypertrophy. *J Am Coll Cardiol* 1999;34:264-73.
236. Bartunek J, Weinberg EO, Tajima M, Rohrbach S, Katz SE, Douglas PS, Lorell BH. Chronic N^G -Nitro-L-Arginine Methyl Ester-Induced Hypertension: Novel Molecular Adaptation to Systolic Load in Absence of Hypertrophy. *Circulation* 2000;101:423-29.
237. Wilcox JG, Hatch IE, Gentzschein E, Stanczyk FZ, Lobo RA. Endothelin levels decrease after oral and nonoral estrogen in postmenopausal women with increased cardiovascular risk factors. *Fertil Steril* 1997;67:273-77.
238. Gray GA, Battistini B, Webb DJ. Endothelins are potent vasoconstrictors, and much more besides. *Trends Pharmacol Sci* 2000;21:38-40.
239. Schiffrin EL, Intengan HD, Thibault G, Touyz RM. Clinical significance of endothelin in cardiovascular disease. *Curr Opin Cardiol* 1997;12:354-67.

240. Schiffrin EL, Lariviere R, Li JS, Sventek P, Touyz RM. DOCA plus salt induces overexpression of vascular ET-1 and severe vascular hypertrophy in SHR. *Hypertension* 1995;25:769-73.
241. Okada M, Kobayashi M, Maruyama H, Takahashi R, Ikemoto F, Yano M, Nishikibe M. Effects of a selective endothelin-A receptor antagonist, BQ-123, in salt-loaded stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1995;22: 763-68.
242. Schiffrin EL. Endothelin and endothelin antagonists in hypertension *J Hypertens* 1998;16: 1891-95.
243. DiCarlo VS, Chen SJ, Meng QC, Durand J, Yano M, Chen YF *et al.* ETA receptor antagonist prevents and reverses chronic hypoxia-induced pulmonary hypertension in rat. *Am J Physiol* 1995;269:L690-L697.
244. Prie S, Leung TK, Cernacek P, Ryan JW, Dupuis J. the orally active ET(A) receptor antagonist (+)-(-S)-2(4,6-dimethoxy-pyrimidin-2yloxy)-3-methoxy-3,3-diphenylpropionic acid (LU 135 252) prevents the development of pulmonary hypertension and endothelial metabolic dysfunction in monocrotaline-treated rats. *J Pharmacol Exp Ther* 1997;282:1312-18.
245. Umeda M, Ichikawa S, Kanda T, Sumino H, Kobayashi I. Hormone replacement therapy increases plasma level of angiotensin II in postmenopausal hypertensive women. *Am J Hypertens* 2001;14:206-11.
246. Schiffrin EL, Deng LY, Laroche P. Morphology of resistance arteries and comparison of effects of vasoconstrictors in mild essential hypertensive patients. *Clin Invest Med* 1993;16:177-86.
247. Touyz RM, Tolloczko B, Schiffrin EL. Mesenteric vascular smooth muscle cells from spontaneously hypertensive rats display increased calcium responses to angiotensin II but not to endothelin-1. *J Hypertens* 1994;12:663-73.

248. Touyz RM, Mabrouk M, Schiffrin EL. MEK inhibition attenuates Ang II-mediated signalling and contraction in SHR vascular smooth muscle cells. *Circ Res* 1999;84:505-15.
249. van Geel PP, Pinto YM, Voors AA, et al. Angiotensin II type 1 receptor A1166C polymorphism is associated with an increased response to angiotensin II in human arteries. *Hypertension* 2000;35:717-21.
250. Hernandez I, Delgado JL, Carbonell LF, Perez MC, Quesada T. Hemodynamic effect of 17- β -estradiol in absence of NO in ovariectomized rats: role of angiotensin II. *Am J Physiol (Regul Integr Comp Physiol.)* 1998;274:R-970-R-978.
251. DeSesso J, Jacobson C. Anatomical and physiological parameters affecting gastrointestinal absorption in humans and rats. *Food Chem Toxicol* 2001;39:209-28.