

Université de Montréal

**Activation du Système Rénine-Angiotensine
Pulmonaire et Remodelage Pulmonaire dans
l'Insuffisance Cardiaque Chronique**

par
Frédéric Lefebvre

Département de Physiologie
Faculté de Médecine

Mémoire présenté à la Faculté des Études Supérieures
en vue de l'obtention du grade de
Maîtrise ès sciences (M.Sc.)
en Physiologie

Août, 2005
© Frédéric Lefebvre, 2005



Direction des bibliothèques

AVIS

L'auteur a autorisé l'Université de Montréal à reproduire et diffuser, en totalité ou en partie, par quelque moyen que ce soit et sur quelque support que ce soit, et exclusivement à des fins non lucratives d'enseignement et de recherche, des copies de ce mémoire ou de cette thèse.

L'auteur et les coauteurs le cas échéant conservent la propriété du droit d'auteur et des droits moraux qui protègent ce document. Ni la thèse ou le mémoire, ni des extraits substantiels de ce document, ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans l'autorisation de l'auteur.

Afin de se conformer à la Loi canadienne sur la protection des renseignements personnels, quelques formulaires secondaires, coordonnées ou signatures intégrées au texte ont pu être enlevés de ce document. Bien que cela ait pu affecter la pagination, il n'y a aucun contenu manquant.

NOTICE

The author of this thesis or dissertation has granted a nonexclusive license allowing Université de Montréal to reproduce and publish the document, in part or in whole, and in any format, solely for noncommercial educational and research purposes.

The author and co-authors if applicable retain copyright ownership and moral rights in this document. Neither the whole thesis or dissertation, nor substantial extracts from it, may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

In compliance with the Canadian Privacy Act some supporting forms, contact information or signatures may have been removed from the document. While this may affect the document page count, it does not represent any loss of content from the document.

Université de Montréal
Faculté des Études Supérieures

Ce mémoire intitulé :
**Activation du Système Rénine-Angiotensine
Pulmonaire et Remodelage Pulmonaire dans
l'Insuffisance Cardiaque Chronique**

présenté par
Frédéric Lefebvre

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Dr Michel White
président-rapporteur

Dr Jocelyn Dupuis
directeur de recherche

Dr Angelo Calderone
co-directeur

Dr Christian F. Deschepper
membre du jury

RÉSUMÉ

Lors d'hypertension pulmonaire veineuse secondaire à une insuffisance cardiaque chronique, un remodelage structurel du poumon, caractérisé par une prolifération myofibroblastique excessive et un dépôt de collagène, est observé. L'utilisation d'un antagoniste du récepteur AT1 de l'angiotensine II prévient ce remodelage chez le rat ayant souffert d'un infarctus du myocarde (INF). Le poumon étant un site important de production d'angiotensine II, l'activation locale de ce système pourrait donc contribuer au remodelage pulmonaire. **Méthodes et Résultats :** Des rats ayant souffert d'un infarctus du myocarde par ligation coronarienne furent comparés à des animaux témoins. Les animaux INF développèrent une hypertension pulmonaire et une hypertrophie du ventricule droit associées à des pressions de remplissage ventriculaires gauche élevées ($P < 0,01$). Un remodelage structurel du poumon fut confirmé par morphométrie et immunohistochimie. Les concentrations pulmonaires d'angiotensine II, mesurées par ÉLISA, étaient augmentées de plus de six fois post-INF ($P < 0,01$). L'expression des récepteurs de l'angiotensine II fut évaluée par immunobuvardage et sa distribution déterminée par immunofluorescence. Chez les poumons démontrant un remodelage structurel, l'expression du récepteur AT1 était augmentée de trois fois ($P < 0,01$). Ce récepteur était observé au niveau de myofibroblastes du septum alvéolaire. L'expression du récepteur AT2 et du facteur de croissance

TGF- β 1 étaient inchangées. Afin de déterminer les effets isolés d'une augmentation chronique des niveaux plasmatiques d'angiotensine II, des rats furent infusés de ce peptide (0,5 mg/kg/d) à l'aide de mini-pompes osmotiques. Après 28 jours, ces animaux développèrent une hypertension systémique avec une pression artérielle moyenne augmentée ($P < 0,05$) sans aucun signe d'hypertension et de remodelage pulmonaire. L'expression du récepteur AT1 ne fut pas modifiée par cette procédure. **Conclusion :** Le remodelage structurel du poumon post-INF est associé à une activation du système rénine-angiotensine pulmonaire. L'augmentation des concentrations d'angiotensine II associée à la surexpression myofibroblastique du récepteur AT1 pourrait contribuer aux processus de remodelage pulmonaire. Une augmentation isolée des concentrations plasmatiques d'angiotensine II ne modifie cependant pas de façon significative la circulation pulmonaire, suggérant que d'autres facteurs activés lors d'insuffisance cardiaque chronique, tels l'augmentation des pressions de remplissage associée à la congestion pulmonaire et/ou l'activation d'autres systèmes neuro-humoraux, seraient nécessaires à l'induction de tels processus.

Mots clés : insuffisance cardiaque, infarctus du myocarde, hypertension pulmonaire, remodelage pulmonaire, myofibroblastes, angiotensine II, AT1, AT2, TGF- β 1

ABSTRACT

Lungs structural remodelling, characterized by myofibroblast proliferation and collagen deposition, develops in pulmonary venous hypertension secondary to congestive heart failure. Therapy with an angiotensin AT1 receptor antagonist completely prevented these structural changes in rats after myocardial infarction (MI). The lung being a primary site for angiotensin II generation, local activation of this system could contribute to lung remodelling. **Methods and Results:** Rats with MI induced by coronary artery ligation were compared to sham operated controls. The MI group developed pulmonary hypertension and right ventricular hypertrophy with elevated left ventricular filling pressures ($P < 0.01$). Lungs structural remodelling was confirmed by morphometric measurements and immunohistochemistry. Pulmonary tissue angiotensin II concentrations measured by ELISA increased more than six-fold post MI ($P < 0.01$). Expression of angiotensin II receptors was evaluated by western blot and immunofluorescence studies. In MI lungs with evidence of structural remodelling, AT1 receptor expression was elevated three-fold ($P < 0.01$) with evidence of myofibroblastic distribution. AT2 receptor and TGF- β 1 expressions were unchanged. To determine the isolated effects of chronically elevated plasma levels of angiotensin II, a separate group of rats was infused intravenously with this peptide (0.5 mg/kg/d) using osmotic mini pumps.

After 28 days, these animals developed systemic hypertension with increased mean arterial pressure ($P < 0.05$), but without any signs of pulmonary hypertension or lung structural remodelling. There was also no change in AT1 receptor expression. **Conclusion:** Lungs structural remodelling after MI is associated with activation of the pulmonary renin-angiotensin system. Increased angiotensin II levels together with higher myofibroblast expression of the AT1 receptor could contribute to lung structural remodelling. Higher plasma levels of angiotensin II alone however did not affect pulmonary circulation, suggesting that other factors activated in congestive heart failure, such as increased filling pressure with pulmonary venous congestion and/or activation of other neuro-humoral mediator systems, must contribute to the process.

Keywords: heart failure, myocardial infarction, pulmonary hypertension, lung structural remodelling, myofibroblasts, angiotensin II, AT1, AT2, TGF- β 1

TABLE DES MATIÈRES

RÉSUMÉ	iv
ABSTRACT	vi
TABLE DES MATIÈRES	viii
ABRÉVIATIONS	x
1 INTRODUCTION	1
1.1 Insuffisance Cardiaque et Infarctus du Myocarde	1
1.1.1 Insuffisance cardiaque	1
1.1.1.1 <i>Activation neuro-humorale</i>	5
1.1.2 Infarctus du myocarde	11
1.2 Hypertension Pulmonaire	17
1.2.1 Congestion pulmonaire	24
1.2.2 Remodelage pulmonaire	29
1.3 Le Myofibroblaste	36
1.3.1 Généralités	36
1.3.2 Fonctions du myofibroblaste	39
1.3.3 Activation myofibroblastique	46
1.4 Le Système Rénine-Angiotensine	53
1.4.1 Système rénine-angiotensine systémique	54
1.4.1.1 <i>La rénine</i>	54
1.4.1.2 <i>L'angiotensinogène</i>	56
1.4.1.3 <i>L'enzyme de conversion de l'angiotensine</i>	57
1.4.1.4 <i>Fonctions systémiques de l'angiotensine II</i>	59
1.4.1.5 <i>Récepteurs de l'angiotensine II</i>	62
1.4.2 Système rénine-angiotensine pulmonaire	67

2	HYPOTHÈSE ET OBJECTIFS	78
2.1	Hypothèse	78
2.2	Objectifs	78
3	RÉSULTATS	79
	Activation of the Pulmonary Renin-angiotensin System and Lung Structural Remodelling in Congestive Heart Failure	80
	ABSTRACT	81
	KEY WORDS	82
	ABBREVIATIONS LIST	83
	INTRODUCTION	84
	MATERIALS AND METHODS	86
	RESULTS	92
	DISCUSSION	96
	CONCLUSION	102
	REFERENCES	103
	FIGURE LEGENDS	106
4	DISCUSSION	117
5	CONCLUSION	132
6	RÉFÉRENCES	133

ABRÉVIATIONS

AMPc	Adénosine monophosphate cyclique
Ang	Angiotensine
ANP	<i>Atrial natriuretic peptide</i>
AT1	Récepteur 1 de l'angiotensine II
AT2	Récepteur 2 de l'angiotensine II
BMP	<i>Bone morphogenetic protein</i>
BMPR	<i>Bone morphogenetic protein receptor</i>
BNP	<i>Brain natriuretic peptide</i>
CAMK	<i>Calcium/calmodulin-dependent protein kinase</i>
CGRP	<i>Calcitonin gene-related peptide</i>
CTGF	<i>Connective tissue growth factor</i>
ECA	Enzyme de conversion de l'angiotensine
ED-A FN	<i>Extra-domain-A fibronectin</i>
EGF	<i>Epithelial growth factor</i>
ELISA	<i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>
ENaC	<i>Epithelial sodium channel</i>
ETA	Récepteur A de l'endothéline
ETB	Récepteur B de l'endothéline
FAK	<i>Focal adhesion kinase</i>
FGF	<i>Fibroblast growth factor</i>
GM-CSF	<i>Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor</i>
GMPC	Guanosine monophosphate cyclique
HGF	<i>Hepatocyte growth factor</i>
HTP	Hypertension pulmonaire
ICAM	<i>Intercellular adhesion molecule</i>
IFN	Interféron
IGF	<i>Insulin-like growth factor</i>
IL	Interleukine
INF	Infarctus-du myocarde
JAK	<i>Janus kinase</i>
JNK	<i>c-jun N-terminal kinase</i>
KGF	<i>Keratinocyte growth factor</i>
KKK	Système kininogène-kallikréine-kinine
Mac	<i>Membrane attack complex</i>
MEF	<i>Myocyte enhancer factor</i>
MKP	<i>Mitogen-activated protein kinase phosphatase</i>
MMP	<i>Matrix metalloproteinase</i>
Myf	<i>Myogenic factor</i>
NO	Monoxyde d'azote
PDGF	<i>Platelet-derived growth factor</i>

PGE ₂	Prostaglandine E2
PGI ₂	Prostacycline
PKC	Protéine kinase C
PP	Protéine phosphatase
Ren-1	Gène 1 de la rénine
Ren-2	Gène 2 de la rénine
SMA	<i>Smooth muscle actin</i>
SRA	Système rénine-angiotensine
STAT	<i>Signal transducer and activator of transcription</i>
TBR	<i>TGF-β receptor</i>
TGF	<i>Transforming growth factor</i>
TNF	<i>Tumor necrosis factor</i>
V	Vimentine
VA	Vimentine/α-SMA
VAD	Vimentine/ α-SMA/desmine
VADM	Vimentine/ α-SMA/desmine/myosine
VD	Vimentine/desmine
VEGF	<i>Vascular endothelial growth factor</i>
VIP	<i>Vasoactive intestinal peptide</i>

*À mes parents,
pour m'avoir encouragé à poursuivre mes études et réaliser mes ambitions.*

1 INTRODUCTION

1.1 Insuffisance Cardiaque et Infarctus du Myocarde

1.1.1 Insuffisance cardiaque

L'insuffisance cardiaque, trouble insidieux généralement secondaire à une cardiopathie, est caractérisée cliniquement par un tableau de fonction cardiaque altérée et de congestion au niveau circulatoire. (Schoen, 2005) En effet, dans cette situation, le coeur est incapable d'entreprendre ses fonctions normales ou ne peut les entreprendre qu'à des pressions de remplissage exagérées. (Schoen, 2005) Cette condition est souvent associée à un mauvais pronostic et une importante mortalité et morbidité. (Wilson, 2001) Environ un pourcent de la population canadienne en est touché et 85% des patients nécessitant une hospitalisation ont 65 ans et plus. (Lee & al., 2004)

Souvent, l'insuffisance cardiaque est secondaire à un trouble systolique associé à la maladie coronarienne athérosclérotique avec ischémie du myocarde. Cette condition peut causer une nécrose myocardique (infarctus du myocarde) avec détérioration des fonctions contractiles du coeur. (Dargie & al., 2005 ; Struthers & al., 2005) Dans certaines situations, l'insuffisance cardiaque peut être secondaire à une incapacité du muscle cardiaque à se

dilater et permettre un remplissage adéquate lors de la diastole. Cette dysfonction diastolique se retrouve généralement lors d'hypertrophie ventriculaire gauche massive ou de fibrose myocardique. (Zile & al., 2002)

Bien que l'insuffisance cardiaque peut être une conséquence de plusieurs pathologies, dont les malformations congénitales cardiaques, la maladie hypertensive (systémique ou pulmonaire) ou la maladie valvulaire, il est important de se rappeler que la maladie ischémique cardiaque est responsable de plus de 80% des décès associés à une cardiopathie et serait la cause principale de la mortalité dans le monde occidental. (Schoen, 2005) Étant donné les caractéristiques fonctionnelles et anatomiques uniques de chacun des ventricules, l'insuffisance ventriculaire gauche peut se produire indépendamment de l'insuffisance ventriculaire droite. Par contre, étant donné le circuit hémodynamique fermé du système cardiovasculaire, une atteinte d'un ventricule résulterait alors en une altération des fonctions contractiles de l'autre ventricule. (Schoen, 2005)

Une conséquence majeure de l'insuffisance ventriculaire gauche est l'accumulation de sang au niveau de la circulation pulmonaire, entraînant alors un tableau symptomatique de congestion pulmonaire et d'œdème. Ceci serait alors associée à une diminution de la pression artérielle et du débit cardiaque avec chute de la perfusion tissulaire, touchant plus particulièrement les reins et le cerveau. (Schoen, 2005) Comparativement à l'atteinte ventriculaire gauche, l'insuffisance ventriculaire droite isolée surviendrait moins fréquemment et

serait associée à certaines pathologies à incidence plus rare. Le plus souvent, une atteinte au ventricule droit est secondaire à une insuffisance ventriculaire gauche, étant donné l'augmentation de pression au niveau de la circulation pulmonaire. Cette condition a comme conséquence clinique la formation d'oedème périphérique, d'épanchement pleural et d'hépatomégalie. (Schoen, 2005)

Lors d'une altération des fonctions cardiaques, la pression artérielle et la perfusion des organes vitaux sont maintenus par divers mécanismes physiologiques. Les principaux seront brièvement présentés ci-dessous. (Lorell & al., 2000) Le mécanisme de Frank-Starling en est un exemple important. Le coeur a en effet la capacité intrinsèque d'augmenter sa force de contraction en réponse à une augmentation du retour veineux, permettant ainsi une augmentation de la fraction d'éjection. Cette propriété est indépendante des variations neuro-humorales ci-dessous présentées et serait dépendante de l'étirement en longueur des cardiomyocytes lors de l'augmentation du volume télédiastolique (Parmley, 1992 ; Lorell & al., 2000) L'hypertrophie cardiaque représente un second mécanisme de compensation. (Lorell & al., 2000) Une augmentation de la tension pariétale ventriculaire serait observée lors d'insuffisance cardiaque, résultant de la dilatation progressive du ventricule gauche ou de l'élaboration de pression systoliques élevées. (Dyer & al., 2003) Un tel phénomène, combiné à diverses modifications neuro-humorales systémiques et locales, stimulerait alors le développement d'une hypertrophie

myocardique et la déposition de matrice extracellulaire. (Dyer & al., 2003) Cette hypertrophie serait dépendante de la nature du stimulus. (Schoen, 2005) Une surcharge en pression, telle l'hypertension artérielle ou la sténose aortique, résulterait en une hypertrophie dite concentrique, caractérisée par un élargissement du myocyte cardiaque, une augmentation de l'épaisseur du muscle cardiaque et une diminution du diamètre de la cavité interne ventriculaire. (Schoen, 2005) Toutefois, une surcharge en volume, telle une insuffisance aortique, résulterait plutôt en une hypertrophie excentrique, démontrant plutôt une dilatation musculaire et une augmentation du diamètre ventriculaire secondaire à l'élongation du cardiomyocyte. (Schoen, 2005) Ces changements seraient dépendants d'altérations biochimiques au niveau cellulaire même, telles l'induction de programmes foetaux et la synthèse de protéines anormales. (MacLellan, 2000) L'hypertrophie du myocarde permettrait ainsi le maintien de la contractilité cardiaque, tout en compensant l'augmentation sous-jacente de la tension pariétale. Enfin, l'activation de systèmes neuro-humoraux constitueraient un troisième mécanisme. Les facteurs principaux impliqués seraient le système rénine-angiotensine-aldostérone et le système sympathique, responsables ensemble de l'augmentation du rythme et de la force de contraction cardiaque et de l'augmentation de la résistance vasculaire. (Parmley, 1992 ; Lorell & al., 2000) Ce mécanisme sera présenté de façon détaillée ci-dessous.

1.1.1.1 Activation neuro-humorale

Une diminution de la performance ventriculaire stimulerait une cascade d'altérations hémodynamiques et neuro-humorales. (Shah & al., 2001)

La phase aigüe de l'insuffisance cardiaque, caractérisée par une diminution du débit cardiaque et une augmentation de la pression veineuse, ne durerait normalement que quelques secondes, ceci dû à l'activation réflexe sympathique. (Guyton & al., 2000)

La diminution de la pression artérielle activerait en effet immédiatement le réflexe des barorécepteurs. L'ischémie sous-jacente et ses conséquences pourraient de plus activer le réflexe des chimiorécepteurs et le réflexe afférent sympathique cardiaque. Le système sympathique n'étant plus inhibé pourrait alors renforcer l'activité cardiaque directement via la libération massive de norépinéphrine et d'épinéphrine, et indirectement via l'augmentation du tonus veineux et donc du retour veineux. (Guyton & al., 2000)

De plus, ce système serait responsable de l'activation du système rénine-angiotensine, celui-ci discuté de façon détaillée dans un prochain chapitre. Les concentrations élevées d'angiotensine II résultantes et de norépinéphrine pourront alors induire une vasoconstriction périphérique, augmentant l'inotropie et la chronotropie cardiaque. (Guyton & al., 2000)

Ainsi, à l'aide d'une activité réflexe précoce sympathique, la fonction cardiaque est immédiatement compensée.

Après quelques minutes, une phase chronique serait activée. Celle-ci serait caractérisée premièrement par une augmentation du volume sanguin secondaire à une rétention rénale de fluide. (Guyton & al., 2000) L'anurie résultante serait secondaire à trois mécanismes, soit une diminution de la filtration glomérulaire secondaire à la diminution de la pression artérielle et de la vasoconstriction sympathique de l'artériole afférente du néphron ; une activation du système rénine-angiotensine permettant alors directement une réabsorption tubulaire d'eau et de sels plus efficace ; et une sécrétion augmentée d'aldostérone secondaire à l'activité de l'angiotensine II et à l'hyperkaliémie, permettant alors une réabsorption de sels mais aussi d'eau par osmose et libération de l'hormone anti-diurétique. (Guyton & al., 2000) Ces trois mécanismes agiraient ensemble pour augmenter le retour veineux, ceci par augmentation de la pression de remplissage systémique au niveau cardiaque et par diminution de la résistance veineuse secondaire à la distension des veines. (Guyton & al., 2000) Cette phase chronique serait aussi caractérisée secondairement par une régénération du myocarde sur une période de quelques semaines à plusieurs mois, permettant en effet la formation d'un nouvel apport sanguin collatéral au niveau du tissu périphérique à la région nécrosée et le développement d'une hypertrophie, le plus souvent excentrique, dans la portion non-endommagée du coeur. (Guyton & al., 2000) Ces mécanismes permettraient ainsi le retour du débit cardiaque à des valeurs normales, sans toutefois maintenir la réserve cardiaque à un taux adéquat.

Dans une situation où le coeur est trop sévèrement endommagé, l'insuffisance cardiaque est dite « décompensée ». Dans un tel cas, le débit cardiaque ne peut pas retourner à des valeurs normales, altérant ainsi la fonction rénale de façon permanente. (Guyton & al., 2000) La rétention de fluide persisterait alors, augmentant progressivement la pression de remplissage systémique et la pression auriculaire droite. Ce phénomène surétirerait la paroi ventriculaire et permettrait le développement d'un oedème au niveau du muscle cardiaque. (Guyton & al., 2000) L'efficacité cardiaque serait alors une fois de plus diminuée, d'où l'élaboration d'un cercle vicieux entre l'altération du débit cardiaque et de la fonction rénale. Ces excès de volume pourrait de plus se présenter sous forme d'oedèmes pulmonaire et/ou périphérique. (Guyton & al., 2000) Cet état de décompensation compromettrait la qualité de vie et la survie des sujets atteints.

Il est important de noter que l'activation neuro-humorale contribuerait de façon importante au processus de décompensation des fonctions cardiaques. (Shah & al., 2001) Avec la détérioration de l'insuffisance cardiaque, il y aurait augmentation progressive des concentrations en vasoconstricteurs et une diminution proportionnelle en vasodilatateurs, tels l'oxyde nitrique, les prostaglandines et la bradykinine. (Shah & al., 2001) Ce déséquilibre favoriserait alors une augmentation de la précharge et postcharge, induisant alors un remodelage ventriculaire maladapté. (Shah & al., 2001) La suractivation sympathique favoriserait en effet l'hypertrophie ventriculaire,

tout en ayant des effets toxiques directs sur les cardiomyocytes. (Cohn & al., 1984 ; Mann & al., 1992) Les concentrations d'épinéphrine plasmatique corréleraient ainsi directement avec le niveau de dysfonction cardiaque et le pronostic. (Francis & al., 1990) De même, l'augmentation des concentrations en angiotensine II systémique et cardiaque pourrait induire une hypertrophie ventriculaire et une fibrose du myocarde, se traduisant alors en une plus grande dysfonction contractile. (Baker & al., 1990 ; Dzau, 1993)

Plusieurs autres facteurs pourraient être associés à l'insuffisance cardiaque, dont l'endothéline et les facteurs natriurétiques. (Shah & al., 2001) L'endothéline pourrait contribuer au développement de l'insuffisance cardiaque. (Shah & al., 2001 ; Moe & al., 2003) Ce peptide, dont les concentrations plasmatiques doubleraient chez les patients souffrant d'insuffisance cardiaque (Moe & al., 2003), pourrait en effet exercer des effets presseurs, augmenter l'action d'autres peptides vasoactifs et induire l'hypertrophie et la fibrose cardiaque. (Moe & al., 2003) L'endothéline diminuerait aussi le débit rénal et le taux de filtration glomérulaire, tout en augmentant la réabsorption tubulaire de sodium et le volume plasmatique. (Moe & al., 2003) Par ses propriétés mitogéniques et fibrotiques, ce peptide à effets presseurs pourrait aussi contribuer au développement d'hypertension pulmonaire. (Moe & al., 2003) L'augmentation des niveaux plasmatiques d'endothéline semblerait être résultat d'une diminution de sa clairance et d'une augmentation de sa production au niveau endothélial. (Moe & al., 2003) Ces

niveaux corrèleraient de plus avec la sévérité de l'insuffisance cardiaque. (Moe & al., 2003) L'importance de l'endothéline dans la pathogenèse de l'insuffisance cardiaque fut ainsi démontrée par l'efficacité de ses antagonistes dans divers modèles animaux et études cliniques. (Moe & al., 2003)

Deux systèmes vasodépresseurs protégeraient la fonction cardiaque, soit le système kininogène-kallikréine-kinine (KKK) et les facteurs natriurétiques. Par sa capacité d'induction du monoxyde d'azote, de prostaglandines et de l'activateur du plasminogène tissulaire, la bradykinine, médiateur principal du système KKK, démontrerait des propriétés vasodilatatrice, anti-athérosclérotique, anti-arythmique, anti-hypertrophique et inotropique. (Heitsch, 2003 ; Tom & al., 2003) Celles-ci permettraient alors à ce système de protéger la fonction cardiaque des effets néfastes du diabète, de l'hypertension artérielle et des lésions d'ischémie/réperfusion, tout en induisant un préconditionnement ischémique cardioprotecteur. (Heitsch, 2003 ; Tom & al., 2003) Les kinines seraient ainsi directement impliquées dans la pathogenèse de l'insuffisance cardiaque, ceci en agissant au niveau de la fonction endothéliale, de la consommation en oxygène myocardique, de l'hypertrophie ventriculaire et de la fonction cardiaque même. (Heitsch, 2003 ; Tom & al., 2003) Bien que les taux circulant et cardiaque de bradykinine seraient augmentés précocement suivant un infarctus du myocarde, ceux-ci diminueraient plus tardivement et se maintiendraient à de faibles niveaux lors d'insuffisance cardiaque, d'où la nécessité d'augmenter ces taux lors

d'intervention médicale et l'utilisation contemporaine d'inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine, cette dernière pouvant métaboliser les kinines. (Heitsch, 2003 ; Tom & al., 2003)

Les facteurs natriurétiques joueraient aussi un rôle protecteur essentiel à fonction cardiaque. (Shah & al., 2001 ; Woods, 2004) Ces peptides seraient en effet synthétisés par le cardiomyocyte et seraient libérés en réponse à un étirement auriculaire (ANP) et ventriculaire (BNP) exagéré secondaire à l'augmentation de la pression de remplissage systémique au niveau cardiaque. (Woods, 2004) Ces facteurs pourraient retarder le début de la décompensation cardiaque en diminuant la précharge et la postcharge spécifiquement via la stimulation de la natriurèse, la diurèse et de la vasodilatation, et l'inhibition de la libération et de l'activité du système rénine-angiotensine-aldostérone, de l'hormone anti-diurétique et des catecholamines. (Woods, 2004) Les concentrations plasmatiques seraient augmentées lors de l'insuffisance cardiaque chronique et celles-ci auraient une implication particulièrement importante au niveau diagnostique, thérapeutique et pronostique. (Colucci & al., 2000) Par contre, les facteurs favorisant la décompensation cardiaque prendraient rapidement le dessus, inhibant alors les propriétés protectrices des facteurs natriurétiques. (Shah & al., 2001)

1.1.2 Infarctus du myocarde

Le groupe de syndromes classifiés sous la rubrique de maladie ischémique cardiaque, dont l'infarctus du myocarde, l'angine de poitrine, la maladie ischémique cardiaque chronique et la mort cardiaque soudaine, serait secondaire à une même cause sous-jacente, soit l'ischémie du myocarde. Simplement expliquée, l'ischémie peut être considérée comme un déséquilibre entre la perfusion tissulaire et la demande en sang oxygéné par le coeur. Contrairement à l'hypoxie pure retrouvée par exemple lors d'anémie sévère, l'ischémie est aussi caractérisée par un apport en éléments nutritifs diminués et une élimination inadéquate de métabolites tissulaires, la rendant alors plus endommageant. (Schoen, 2005) Dans plus de 90% des cas, cette condition pourrait être expliquée par une diminution de l'apport sanguin coronarien secondaire à une occlusion artérielle athérosclerotique. (Schoen, 2005) En effet, une sténose de plus de 75% causeraient généralement une ischémie symptomatique lors de l'exercice physique. Dans cette situation, la vasodilatation compensatoire augmentant le flot sanguin coronarien ne serait pas suffisante pour répondre à une demande légèrement augmentée au niveau du myocarde. Lors de sténose de plus de 90%, l'apport sanguin serait inadéquat même au repos. (Schoen, 2005)

Comme il a été mentionné précédemment, la maladie ischémique cardiaque serait la cause principale de mort chez les hommes et les femmes

dans les pays industrialisés. Aux États-Unis, presque 500 000 individus meurent de cette maladie à chaque année. (Schoen, 2005) L'infarctus du myocarde serait la forme la plus importante de la maladie ischémique cardiaque, tant du point de vue de la sévérité que celui de la durée de l'ischémie. Près de 1,5 millions d'Américains par année souffriraient de cette cardiomyopathie ischémique, et un tiers des individus atteints ne la survivraient pas. (Schoen, 2005) L'infarctus du myocarde pourrait atteindre des individus de tous âges, mais la fréquence augmenterait avec l'âge et la présence de facteurs prédisposant à l'athérosclérose, comme l'hypertension, l'hypercholestérolémie, le diabète et le tabagisme. (Schoen, 2005)

La pathogenèse associée à l'infarctus du myocarde peut être considérée sous deux rubriques, soit l'occlusion coronarienne et la réponse du myocarde à celle-ci. Quoique seulement un tronc coronarien épigastrique peut être atteint, deux ou même trois vaisseaux sont le plus souvent touchés. Ces derniers sont en effet l'artère interventriculaire antérieure et l'artère circonflexe, toutes deux originant du tronc commun de la coronaire gauche, et l'artère coronaire droite. (Schoen, 2005) L'occlusion coronarienne produit une séquence d'événements dynamiques communs à tout infarctus. L'évènement initial se manifesterait par une perturbation d'une plaque athéromateuse présente depuis l'adolescence, telle l'hémorragie, l'ulcération ou la fissuration. (Mitchell, 2005 ; Schoen, 2005) L'exposition aux collagènes sous endothéliaux et au contenu nécrotique de la plaque stimulerait alors l'adhésion, l'agrégation et l'activation

plaquettaires, permettant alors la libération de facteurs prothrombotiques comme le thromboxane A₂ et la sérotonine. (Mitchell, 2005 ; Schoen, 2005) Un vasospasme pourrait de plus être induit par cette agrégation plaquettaire et la libération de médiateurs associés. (Mitchell, 2005 ; Schoen, 2005) La voie extrinsèque de la coagulation serait aussi activée parallèlement, renforçant ainsi l'importance du thrombus intracoronarien. (Mitchell, 2005 ; Schoen, 2005) Celui-ci pourrait alors encombrés complètement en quelques minutes la lumière du vaisseau coronarien. Dans seulement dix pourcents des cas, l'infarctus du myocarde transmural ne serait pas associé à une thrombose d'une plaque athérosclerotique. Dans une telle situation, l'occlusion serait le plus souvent associée à un vasospasme ou une embolie. (Schoen, 2005)

L'ischémie du myocarde induirait des conséquences fonctionnelles, biochimiques et morphologiques importantes au niveau de la cellule et de la paroi cardiaque. (Reimer & al., 1990) La fonction cardiaque serait très sensible à l'ischémie sévère. La contractilité serait en effet perdue dans les soixante premières secondes suivant le début de l'ischémie. Cet évènement pourrait même précipiter l'insuffisance cardiaque aiguë bien avant la mort du myocyte cardiaque. Ce phénomène serait de plus réversible. (Reimer & al., 1990) Toutefois, une ischémie sévère prolongée de vingt à quarante minutes induiraient un endommagement irréversible et une nécrose au niveau de certains cardiomyocytes. (Reimer & al., 1990) Si reperfusion et restauration du flot coronarien sont entrepris avant vingt minutes, la perte cellulaire

pourrait être évitée. Pour cette raison, la thérapie précoce par thrombolyse permettrait la récupération maximale de tissus sains. (Huber & al., 1996) L'endommagement ischémique irréversible débiterait au niveau de la zone sous-endocardique, étant donné la moins bonne perfusion intrinsèque de cette région du myocarde. (Schoen, 2005) Avec une ischémie plus soutenue, une vague de nécrose cellulaire s'avancerait à travers le myocarde, touchant éventuellement toute l'épaisseur transmurale de la région ischémique. (Schoen, 2005) La nécrose serait plus ou moins complétée suivant les six premières heures de l'occlusion coronarienne. (Reimer & al., 1990)

Une grande partie du tissu touché par l'infarctus serait ultimement remplacée par du tissu cicatriciel. L'élaboration d'une cicatrice ventriculaire nécessiterait la présence d'une activité cellulaire très diversifiée. (Sun & al., 2000) La formation d'une telle cicatrice serait dépendante de l'infiltration et l'activité leucocytaire. (Frangogiannis & al., 2002) La réponse inflammatoire débutant après les quelques premières heures suivant la nécrose serait nécessaire à l'enlèvement de débris cellulaires et permettrait alors l'initiation de la régénération ventriculaire. (Frangogiannis & al., 2002) Les facteurs de croissance et autres médiateurs libérés par les macrophages et les mastocytes stimuleraient en effet une prolifération fibroblastique et endothéliale et permettrait l'activation d'une angiogénèse. (Frangogiannis & al., 2002) Le maintien de la cicatrice ventriculaire serait de plus résultat d'une prolifération cellulaire soutenue particulière. (Sun & al., 2000) La cicatrice pourrait en effet

être considérée comme un tissu vivant et non-inerte. Celle-ci ne se composerait pas simplement de collagènes fibrillaires. Des cellules à phénotype fibroblastique mais démontrant des composantes de cellules musculaires lisses, nommées myofibroblastes, prolifèreraient à ce site. (Sun & al., 2000) Celles-ci contrôleraient spécifiquement le renouvellement de collagène fibrillaire au site cicatriciel. (Sun & al., 2000) Ces cellules, pouvant être retrouvées au niveau pulmonaire, seront discutées de façon plus abondante dans un prochain chapitre.

Plusieurs changements structuraux dynamiques maintiendraient l'efficacité cardiaque suivant un infarctus du myocarde aigu. Comme il a été expliqué précédemment, la zone nécrotique et les régions non-touchées du myocarde subiraient un remodelage ventriculaire. Ce dernier serait caractérisé par une altération de l'épaisseur, de la taille et de la forme de la paroi ventriculaire. (Sutton & al., 2000 ; Anversa & al., 2002) L'hypertrophie compensatoire initiale de la région du myocarde n'ayant pas été atteinte par l'infarctus diminuerait la tension pariétale ventriculaire et serait nécessaire au maintien des constantes hémodynamiques. Toutefois, les capacités adaptatrices d'un tel remodelage pourraient dégénérées, soit par étirement, amincissement et dilatation disproportionnés de la paroi ventriculaire, résultant alors en expansion ou même en la formation tardive d'un anévrisme ventriculaire. (Sutton & al., 2000 ; Anversa & al., 2002) Ces changements

morphologiques décompenseraient ainsi les capacités contractiles du myocarde, et résulteraient alors en une insuffisance ventriculaire.

1.2 Hypertension Pulmonaire

L'hypertension pulmonaire (HTP) peut être simplement définie comme étant toute augmentation de la pression artérielle pulmonaire moyenne dépassant 25 mmHg au repos ou 30 mmHg à l'effort. (Klodell, 2005) Cette situation pourrait refléter la présence sous-jacente d'une maladie vasculaire pulmonaire ou une augmentation passive obligatoire des pressions pulmonaires secondaire à des pressions élevés au niveau du coeur gauche. (McLaughlin & al., 2004) Étant une dysfonction hémodynamique sérieuse, l'hypertension pulmonaire peut causer en une défaillance cardiaque droite ou même en une mort subite.

L'hypertension pulmonaire peut être sommairement classifiée sous les rubriques de primaire ou secondaire. L'HTP primaire est d'origine idiopathique et d'incidence faible. Celle-ci serait associée principalement à une mutation du gène BMPR2 et une altération de l'expression de canaux potassiques au niveau du muscle lisse. (Runo & al., 2003) L'HTP secondaire est beaucoup plus fréquente et peut résulter de plusieurs conditions, dont les maladies du parenchyme pulmonaire, la maladie thromboembolique pulmonaire chronique, la dysfonction ventriculaire gauche, la sténose valvulaire mitrale ou la maladie congénitale cardiaque. (Husain & al., 2005) Cette classification est aujourd'hui obsolète.

En 2003, une nouvelle classification de l'hypertension pulmonaire fut développée par l'Organisation Mondiale de la Santé au Troisième Symposium Mondiale sur l'Hypertension Pulmonaire. (Simonneau & al., 2004) Cette classification se baserait sur les caractéristiques pathobiologiques communes à la maladie et aurait pour but de servir comme guide lors de l'évaluation clinique et le traitement de patients atteints de cette condition. (McLaughlin & al., 2004) Brièvement, l'hypertension pulmonaire est ainsi aujourd'hui classifiée en cinq sous-types, soit l'HTP artérielle, l'HTP associée à des cardiopathies gauche, l'HTP associée à la maladie pulmonaire et/ou à l'hypoxémie, l'HTP secondaire à la maladie thrombotique et/ou embolique chronique et l'HTP de causes diverses. (Simonneau & al., 2004)

L'insuffisance ventriculaire gauche serait l'étiologie la plus souvent associée à l'hypertension pulmonaire. (Klodell, 2005) Une HTP veineuse associée à une résistance accrue au drainage veineux pulmonaire serait en effet une complication fréquente de l'insuffisance cardiaque et serait ainsi souvent associée à un mauvais pronostic, ceci dû à ses effets néfastes sur le ventricule droit et l'insuffisance biventriculaire résultante. (Ghio & al., 2001) Il est à noter qu'une telle condition pourrait aussi être associée à d'autres cardiomyopathies, dont la maladie valvulaire mitrale, la péricardite constrictive, le myxome auriculaire gauche, les anomalies congénitales du retour veineux pulmonaire et la sténose aortique en stage tardif. (Klodell, 2005)

Le phénomène expliquant le développement de l'hypertension pulmonaire reposerait sur la Loi d'Ohm. (Klodell, 2005) Celle-ci stipulerait que les variations en pression seraient directement proportionnelles aux altération du débit sanguin et de la résistance vasculaire. Ainsi, une augmentation en pression artérielle pulmonaire moyenne pourrait être résultat de trois évènements hémodynamiques distincts, soit une augmentation du débit sanguin pulmonaire, une augmentation de la résistance vasculaire pulmonaire et enfin une augmentation en pression veineuse pulmonaire secondaire à une augmentation en pression auriculaire gauche. (Klodell, 2005)

Ainsi, lors d'insuffisance cardiaque, une augmentation en pression auriculaire gauche secondaire à la dysfonction contractile gauche serait reflétée par un phénomène de congestion pulmonaire veineuse. Le sang s'accumulerait en effet au niveau du poumon, augmentant alors la pression de remplissage pulmonaire étant donné le transfert de quantités importantes de sang de la circulation systémique à la circulation pulmonaire. (Guyton & al., 2000) Au fur et à mesure que le sang s'accumulerait dans les poumons, la pression au niveau du capillaire pulmonaire augmenterait proportionnellement. Un transudat commencerait alors à se développer au moment même où la pression capillaire pulmonaire atteindraient des valeurs similaires à la pression colloïdale plasmatique de 28 mmHg. (Guyton & al., 2000) Ce phénomène résulterait alors rapidement en la formation d'un oedème pulmonaire. La

pathophysiologie de la congestion veineuse et de l'oedème pulmonaire en résultant seront discutées dans une prochaine sous-section de ce chapitre.

L'augmentation modérée de la pression auriculaire gauche, passant de valeurs physiologiques de 1-5 mmHg à des valeurs pathologiques initiales de 7-8 mmHg, n'affecterait pas la circulation pulmonaire. (Guyton & al., 2000b) Cette hypertension auriculaire modérée stimulerait en effet la diminution de la résistance vasculaire et du gradient de pression pulmonaire, ceci par distension de veinules et/ou ouverture de réseaux de capillaires additionnels. (Rich & al., 2005) Cette situation ne résulterait donc pas en une augmentation de la pression artérielle pulmonaire. (Rich & al., 2005) Des pressions auriculaires plus élevées, dépassant les valeurs initiales de 7-8 mmHg, seraient associées à une augmentation de la pression capillaire pulmonaire, d'où augmentation passive de la pression artérielle pulmonaire systolique. (Guyton & al., 2000b) Ce phénomène serait nécessaire au maintien à des valeurs constantes du débit sanguin pulmonaire, du gradient de pressions pulmonaire et de la résistance vasculaire pulmonaire. (Rich & al., 2005) Lorsque les pressions pulmonaires veineuses dépasseraient 25 mmHg, la pression artérielle pulmonaire systolique augmenterait soudainement de façon disproportionnée, pouvant atteindre des valeurs supérieures à 80 mmHg. Le gradient de pression pulmonaire augmenterait tandis que le débit sanguin diminuerait. (Rich & al., 2005) Ceci refléterait une augmentation de la résistance vasculaire pulmonaire associée en partie à une vasoconstriction précapillaire. (Rich & al., 2005) Ces

différents évènements entraîneraient donc une hypertension pulmonaire veineuse dénommée hypertension pulmonaire post-capillaire.

Le ventricule droit pourrait contribuer au maintien de l'hypertension pulmonaire. Celui-ci réagirait aux altérations hémodynamiques ci-dessus présentées par hypertrophie et augmentation de la pression systolique. (Rich, 2005) Ce mécanisme d'adaptation serait nécessaire au maintien du débit cardiaque. À long terme, différentes modifications permanentes surviendraient alors au niveau de la circulation pulmonaire pouvant ainsi favoriser l'hypertension pulmonaire même en l'absence d'évènements initiateurs. (Rich, 2005) Le remodelage vasculaire en résultant surviendrait en effet en réponse à divers stimuli physiques, dont l'étirement mécanique et les forces de cisaillement, et divers stimuli chimiques, dont l'hypoxie, des médiateurs vasoactifs et des facteurs de croissance. (Jeffery & al., 2002) Ce remodelage serait caractérisé par un épaississement des trois couches du vaisseau sanguin, soit l'adventice, la média et l'intima. L'épaississement serait secondaire à l'hypertrophie et/ou l'hyperplasie de cellules musculaires lisses, de cellules endothéliales et de fibroblastes. (Jeffery & al., 2002) Le remodelage vasculaire serait aussi caractérisé par une rigidité accrue et une non-compliance du vaisseau secondaires à la déposition augmentée de constituants de la matrice extracellulaire, tels l'élastine, le collagène et la fibronectine. (Jeffery & al., 2002) Ainsi, du point de vue microscopique, le remodelage vasculaire se présenterait sous forme de fibrose intimale et d'hypertrophie

médiale avec avancement du muscle vasculaire jusqu'au niveau artériolaire. (Gehlbach & al., 2004) De même, les veines pulmonaires démontreraient une paroi vasculaire anormalement épaissie. (Gehlbach & al., 2004) Diminuant le diamètre luminal, le remodelage vasculaire augmenterait ainsi la résistance vasculaire pulmonaire. Initialement adaptatif en phase aiguë, ce mécanisme deviendrait pathogénique à long terme et irréversible. (Jeffery & al., 2002)

Les différents mécanismes responsables de l'augmentation réactive de la résistance vasculaire pulmonaire sont aujourd'hui encore imprécis. (Rich & al., 2005) À titre d'exemple, deux mécanismes pouvant y contribuer seront brièvement présentés. Une augmentation en pression pulmonaire veineuse pourrait étrangler les voies respiratoires. (Rich & al., 2005) L'hypoxie résultante stimulerait alors une vasoconstriction locale. (Cutaia & al., 1990) Ce mécanisme d'adaptation physiologique redirigerait le débit sanguin pulmonaire vers des régions du poumon mieux oxygénés, permettant alors un meilleur appariement ventilation/perfusion. (McLaughlin & al., 2004) La résistance vasculaire augmenterait alors considérablement, entraînant ainsi une augmentation des pressions pulmonaires. (McLaughlin & al., 2004) L'hypoxie pourrait de plus contribuer à l'accumulation de liquide au niveau alvéolaire, ceci par inhibition du transport transalvéolaire de fluides et par modification de l'expression de canaux et de transporteurs sodiques. (Hardiman & al., 2001 ; Clerici & al., 2000 ; Suzuki & al., 1999) L'oedème pulmonaire secondaire à la congestion veineuse et à l'hypoxie pourrait entamer le capillaire, augmentant

une fois de plus la résistance vasculaire pulmonaire et entraînant alors l'élaboration d'un cercle vicieux. (Rich & al., 2005) Il est intéressant de noter que le mécanisme de vasoconstriction hypoxique ci-dessus présenté pourrait contribuer aux stimuli nécessaires au processus de remodelage vasculaire, augmentant ainsi une fois de plus la résistance vasculaire. (Jeffery & al., 2002)

L'augmentation de la résistance vasculaire réactive pourrait aussi être secondaire à différentes anomalies réversibles du tonus vasculaire. (Moraes & al., 2000) Celles-ci résulteraient principalement d'une dysfonction endothéliale pulmonaire, elle-même entrelacée au processus de remodelage vasculaire. (Moraes & al., 2000) Le mécanisme physiopathologique sous-jacent serait commun à plusieurs formes d'hypertension pulmonaire secondaire. (Budhiraja & al., 2004) La dysfonction endothéliale résulterait du processus pathologique responsable du trouble hémodynamique initial. Lors d'insuffisance cardiaque, la congestion pulmonaire augmenterait en effet le stress mécanique et les forces de cisaillement. Ces événements pourraient alors entraîner une production altérée de plusieurs médiateurs vasoactifs endothéliaux. (Moraes & al., 2000) Une diminution en prostacycline et en NO associées à une synthèse augmentée en endothéline par exemple favoriseraient la vasoconstriction pulmonaire. (Budhiraja & al., 2004) De plus, cette même diminution en prostacycline et NO favoriserait aussi l'adhésion et l'activation plaquettaire. (Budhiraja & al., 2004) L'activation endothéliale sous-jacente à la dysfonction rendrait de plus la cellule endothéliale plus thrombogénique.

(Budhiraja & al., 2004) De même, la libération de facteurs de croissance et de cytokines induiraient la migration et la prolifération de cellules musculaires lisses et l'élaboration de constituants de la matrice extracellulaire, favorisant alors le remodelage vasculaire. (Budhiraja & al., 2004) Tous ces événements résulteraient en une oblitération de la lumière du vaisseau, augmentant ainsi la résistance vasculaire et les pressions pulmonaires.

1.2.1 Congestion pulmonaire

Avant de discuter de la pathophysiologie de la congestion pulmonaire, il est nécessaire de présenter rapidement l'anatomie et la physiologie de l'interface séparant l'alvéole du capillaire. Cette barrière air-sang serait responsable de trois propriétés essentielles, soit l'échange gazeux entre le sang et le gaz alvéolaire, la régulation du flux de soluté et de liquide entre la surface alvéolaire, l'espace interstitiel et le sang, et enfin la clairance active de liquide alvéolaire vers l'espace interstitiel. (Guazzi, 2003) Ces fonctions spécifiques seraient dépendantes de la configuration anatomique particulière de cette barrière, composée principalement d'un endothélium capillaire séparé d'un épithélium alvéolaire par une membrane basale associée à du tissu interstitiel. (Gehlbach & al., 2004) L'étude microscopique de cette unité fonctionnelle démontrerait de plus une double nature : l'interface serait en effet plus épaisse d'un côté par rapport à l'autre, ceci dépendamment de la composition de

l'espace interstitiel. (Gehlbach & al., 2004) La région la plus mince serait ainsi formée d'un capillaire directement apposé sur une alvéole, ceci via une membrane basale fusionnée et la présence de jonctions épithéliales complexes rapprochant l'épithélium de l'endothélium. (Gehlbach & al., 2004) Ce côté serait ainsi impliqué principalement dans l'échange gazeux, étant donné la faible perméabilité relative et la courte distance de diffusion. (Gehlbach & al., 2004) À l'opposé, la région plus épaisse serait formée d'une matrice interstitielle démontrant une composition riche en protéine à caractéristiques de gel. (Guazzi, 2003) Ce côté assurerait une résistance élevée contre une pression hydrostatique mécanique et une tuméfaction résultante, et serait ainsi plutôt impliqué dans la régulation de la perméabilité de la barrière. (Guazzi, 2003)

L'épithélium alvéolaire serait moins perméable que l'endothélium capillaire, ceci dû à la présence de deux sous-types cellulaires. (Guazzi, 2003) Le pneumocyte de type I représenterait plus de 90% de la surface alvéolaire et assurerait un rôle de support structural et de barrière physique. (Guazzi, 2003) Le pneumocyte de type II serait essentiel à la production de surfactant et à la régénération de l'épithélium alvéolaire secondaire à une lésion, ceci par différenciation en cellule épithéliale de type I. (Guazzi, 2003) De plus, cette même cellule aurait aussi un rôle crucial dans le transport d'ions et l'élimination de liquide alvéolaire en condition d'oedème, ceci via un canal ENaC et un canal non-sélectif aux cations. (Guazzi, 2003)

Différents mécanismes physiologiques préviendraient la formation d'oedème lors de pressions capillaires pulmonaires élevées. (Gehlbach & al., 2004) Une augmentation modérée en pression serait accommodée par une redistribution anatomique plus uniforme du débit sanguin pulmonaire secondaire à une dilatation capillaire. (West & al., 1964 ; Glazier & al., 1969) En condition physiologique normale, le débit sanguin serait augmenté de façon linéaire de l'apex à la base du poumon. (Gehlbach & al., 2004) À des pressions de remplissage plus élevés, un transudat pourrait se développer. La localisation anatomique de celui-ci dépendrait alors de son importance et de la présence de mécanismes de défense secondaire. La formation d'oedème commencerait d'abord au niveau de la région plus épaisse de l'interface séparant l'alvéole du capillaire. (Gehlbach & al., 2004) Les propriétés particulières de la matrice interstitielle sous-jacente permettrait l'accumulation facile de liquide à cet endroit. (Gehlbach & al., 2004) L'augmentation locale de la pression hydrostatique et la diminution locale de la pression oncotique créerait alors un nouvel équilibre, empêchant ainsi l'expansion de l'oedème à ce site. (Gehlbach & al., 2004) L'oedème pourrait alors s'accumuler au niveau du septum interlobulaire, de l'espace peri-bronchovasculaire, de l'hile du poumon et de l'espace pleural. (Staub & al., 1967 ; Staub, 1974) Ce dernier pourrait ainsi accommoder une grande partie de l'oedème total. (Broaddus & al., 1990) Le système lymphatique, retrouvé au niveau du tissu conjonctif du septum interlobulaire, du feuillet peri-bronchovasculaire et de la plèvre, serait

enfin un dernier mécanisme de défense contre l'expansion de l'oedème pulmonaire, pouvant augmenter l'élimination de liquide au niveau pulmonaire d'au moins dix fois. (Uhley & al., 1962) Seulement après saturation de tous ces derniers mécanismes de défense, une accumulation de liquide interstitiel se développerait au niveau de l'alvéole. Cependant, comme il fut expliqué précédemment, l'épithélium alvéolaire aurait en dernier recours la capacité de transporter activement ce liquide hors de l'espace alvéolaire. (Guazzi, 2003)

La circulation pulmonaire et l'espace alvéolaire seraient particulièrement susceptibles aux effets hémodynamiques d'engorgement vasculaire lors d'insuffisance cardiaque. Dans cette situation, l'intégrité des capillaires pulmonaires serait perturbée par l'augmentation en pression et en volume. (Guazzi, 2003) En effet, l'hypertension pulmonaire veineuse secondaire à l'augmentation de la pression télé-diastolique ventriculaire gauche et la stase sanguine au niveau des capillaires pulmonaires exposerait l'interface séparant l'alvéole du capillaire à un stress. (Costello & al., 1992 ; Tsukimoto & al., 1991) L'insuffisance résultante fut alors définie par West comme étant une perturbation des différents niveaux de l'organisation anatomique de la barrière air-sang secondaire à une pression hydrostatique capillaire élevée. (Costello & al., 1992 ; Tsukimoto & al., 1991) Au niveau microscopique, l'interface démontrerait une multitude de ruptures physiques au niveau de l'endothélium capillaire, de l'épithélium alvéolaire, et même de la membrane basale. (Costello & al., 1992 ; Tsukimoto & al., 1991) Cette

atteinte résulterait en une altération de la perméabilité capillaire à l'eau et aux ions, mais aussi en une désorganisation de facteurs régulateurs locaux nécessaires à l'échange gazeux. (Guazzi, 2003) Ceci permettrait alors l'établissement de stimuli nécessaires aux processus de remodelage vasculaire et alvéolaire. (Guazzi, 2003) Ce dernier sera décrit de façon détaillée dans un prochaine sous-section de ce chapitre.

Différents autres facteurs pourraient contribuer parallèlement à l'altération fonctionnelle de l'interface séparant l'alvéole du capillaire, augmentant donc la perméabilité de celle-ci, ceci l'endommagement direct de l'épithélium et/ou la modification des mécanismes de transport de sels et la clairance active de liquide alvéolaire. Wang & al. ont en effet démontré le rôle de l'angiotensine II et de son précurseur l'angiotensinogène dans l'apoptose de cellules épithéliales alvéolaires. (Wang & al., 1999) De même, la norépinéphrine pourrait induire l'apoptose de pneumocytes via la synthèse *de novo* et la stimulation autocrine à l'angiotensine II, ceci suivant une double activation par les récepteurs alpha- et bêta-adrénergiques. (Dincer & al., 2001) Le TNF- α , cytokine retrouvée en quantité abondante au niveau sérique et pulmonaire lors d'insuffisance cardiaque (De Pasquale & al., 2003), pourrait aussi utiliser cette même voie (Wang & al., 2000) et pourrait même être directement impliquée dans l'induction de l'oedème pulmonaire. (Hocking & al., 1990)

1.2.2 Remodelage pulmonaire

Comment expliquer pourquoi un patient souffrant d'insuffisance cardiaque chronique et de pressions pulmonaires supérieures à 40 mmHg ne présente pas d'oedème pulmonaire alors que la même condition survenant de façon aiguë menace la vie d'un individu ? (Gehlbach & al., 2004) De même, pourquoi un patient ayant subi une transplantation cardiaque et démontrant une normalisation des facteurs hémodynamiques pulmonaires ne présente pas d'amélioration des propriétés spécifiques à l'échange gazeux au niveau alvéolaire ? (Hosenpud & al., 1990) Ces exemples reflèteraient la présence d'endommagement irréversible au niveau de l'interface séparant l'alvéole du capillaire. Plusieurs études ont en effet grossièrement démontré des modifications structurales de cette barrière air-sang, démontrant en effet une fibrose alvéolaire et un épaissement des membranes basales associées à l'épithélium alvéolaire et l'endothélium capillaire. (Heard & al., 1968 ; Kay & al., 1973 ; Tsukimoto & al., 1991)

Kapanci & al. furent les premiers à caractériser l'architecture cellulaire spécifique à ce remodelage pulmonaire. (Kapanci & al., 1990) Chez dix-sept patients souffrant hypertension pulmonaire post-capillaire (congestion pulmonaire chronique), dont dix souffrant d'insuffisance cardiaque chronique, le septum alvéolaire se révélerait comme étant épaissi et encombré. Ceci

semblerait résulter de la dilatation de capillaires alvéolaires mais aussi d'une augmentation de la composition cellulaire du tissu alvéolaire. (Kapanci & al., 1990) Par immunohistochimie, ces cellules seraient caractérisées par l'expression de l'isoforme α -SMA de l'actine. Ces altérations cytoarchitecturales ne seraient pas détectables au niveau du septum alvéolaire de poumons de patients souffrant d'hypertension pulmonaire pré-capillaire. (Kapanci & al., 1990)

Les propriétés immunoréactives de la population cellulaire spécifique à l'hypertension post-capillaire seraient comparables à celles observées par Mitchell & al. dans un modèle de fibrose pulmonaire induite à la bléomycine. (Mitchell & al., 1989) Ces cellules correspondraient ainsi à des myofibroblastes de type VA (Skalli & al., 1989), lignée cellulaire discutée amplement dans un prochain chapitre de cette introduction. La localisation de ces cellules et leur topographie au niveau du septum alvéolaire concorderaient aux myofibroblastes alvéolaires de type V retrouvés en conditions physiologiques. (Kapanci & al., 1990) Kapanci & al. proposèrent alors que la présence de myofibroblastes de type VA résulterait d'une prolifération et d'une différenciation de myofibroblastes alvéolaires de type V et que l'étirement mécanique secondaire à la congestion capillaire serait responsable de cette activation cellulaire. (Kapanci & al., 1990) Ceci concorderait avec l'étude de Lee, corrélant l'importance des changements ultrastructuraux observés chez le patient souffrant d'oedème et/ou de congestion pulmonaire à

la durée de l'insuffisance cardiaque et à la pression pulmonaire artérielle moyenne, indépendamment de l'étiologie de la maladie cardiaque et l'âge du patient. (Lee, 1979)

Des études au sein de notre laboratoire ont démontré précédemment chez le rat ayant souffert d'un infarctus du myocarde l'existence d'un remodelage pulmonaire important en absence d'oedème interstitiel. (Jasmin & al., 2003) Ce dernier serait caractérisé par un épaississement du septum alvéolaire associé à un élargissement segmental de la membrane basale alvéolaire et un dépôt excessif de collagène, d'élastine et de réticuline. (Jasmin & al., 2003) Ce remodelage structurel du poumon s'accompagnerait aussi d'une prolifération excessive de myofibroblastes au niveau du septum alvéolaire, ces cellules présentant en effet des processus cytoplasmiques pouvant s'apposer à la membrane basale capillaire et démontrant l'expression des protéines à propriétés contractiles α -SMA et desmine. (Jasmin & al., 2003) Ces résultats seraient compatibles avec ceux de Tomsley & al., démontrant un épaississement de l'interface séparant l'alvéole du capillaire secondaire à une déposition excessive de collagène de type IV chez un modèle canin d'insuffisance cardiaque induite à la marche. (Townsley & al., 1995) Kingsbury & al. ont aussi récemment rapporté des résultats comparables avec leur modèle de cobaye souffrant d'insuffisance cardiaque secondaire à un cerclage constrictif de l'aorte ascendante. (Kingsbury & al., 2003) Dans ce

modèle, l'importance du remodelage pulmonaire corrèlerait avec une diminution de la filtration capillaire pulmonaire. (Huang & al., 2001)

Les mécanismes moléculaires nécessaires à l'initiation des processus de remodelage pulmonaire ne seraient pas encore définis. Jasmin & al. ont récemment étudié le phénomène. (Jasmin & al., 2004) Chez le rat souffrant d'hypertension et de remodelage pulmonaires secondaires à l'infarctus du myocarde, l'expression pulmonaire des cavéolines-1/2, protéines structurales principales des membranes caveolaires, serait diminuée de façon significative. Ceci serait alors associé à l'hyperactivation du facteur de transcription STAT3 au niveau pulmonaire et à la surexpression tissulaire des cyclines-D1/D3. (Jasmin & al., 2004) Ces résultats seraient de plus confirmés par différents modèles de souris transgéniques knock-out pour les cavéolines-1/2. (Razani & al., 2001 ; Razani & al., 2002 ; Zhao & al., 2002) Le remodelage pulmonaire secondaire à l'infarctus du myocarde serait de plus caractérisé par la surexpression de facteurs mitogéniques. En effet, l'expression de collagène et de fibronectine serait associée à une augmentation pulmonaire du messenger des facteurs de croissance TGF- β 1/3. (Nguyen & al., 2000) L'hypertension et le remodelage pulmonaires observés dans ce modèle seraient de plus normalisés par l'irbesartan (Jasmin & al., 2003), antagoniste du récepteur AT1 de l'angiotensine II, mais non par le LU135252 (Nguyen & al., 2000), antagoniste du récepteur ETA de l'endothéline, démontrant ainsi une importance particulière du système rénine-angiotensine.

Le remodelage pulmonaire pourrait inhiber la formation d'oedème alvéolaire lors de congestion pulmonaire veineuse. La présence de myofibroblastes au niveau du septum alvéolaire pourrait former une barrière fonctionnelle, contrant ainsi la transsudation plasmatique. (Kingsbury & al., 2003) Le transport aqueux au niveau de l'endothélium microvasculaire pulmonaire utiliserait en effet principalement un mécanisme paracellulaire. (Clough & al., 1991) Ceci expliquerait ainsi la diminution du coefficient de filtration capillaire observée au niveau de poumons de cobayes souffrant d'insuffisance cardiaque. (Huang & al., 2001) L'augmentation de tissus conjonctifs interstitiels pourrait de plus jouer un rôle protecteur. (West, 2000 ; Townsley & al., 1995) Tel que proposé par Drake & al., les diverses composantes de la matrice extracellulaire pourraient absorber et retenir un transsudat au niveau de l'espace interstitiel, protégeant ainsi la fonction alvéolaire. (Drake & al., 2002) Une diminution de la perméabilité microvasculaire pulmonaire et un épaissement de la membrane basale capillaire, tels qu'observés chez le patient souffrant d'insuffisance cardiaque chronique, pourrait aussi limiter l'élaboration d'un transsudat. (Lee, 1979 ; Davies & al., 1992) Ces différents mécanismes expliqueraient ainsi le risque diminué d'oedème pulmonaire lors d'insuffisance ventriculaire gauche de longue durée.

À plus long terme, le remodelage pulmonaire pourrait devenir mal adapté et contribuer au développement d'hypertension pulmonaire, à la diminution de l'échange gazeux et à l'intolérance à l'exercice associées à l'insuffisance cardiaque chronique. La prolifération myofibroblastique au niveau du tissu alvéolaire pourrait prendre part au développement d'hypertension pulmonaire. Pouvant s'apposer à la membrane basale capillaire, le myofibroblaste pourrait participer aux processus de remodelage vasculaire associés à l'hypertension pulmonaire. (Jasmin & al., 2003) De plus, par leur activité contractile et par la sécrétion de peptides vasoactifs, ces cellules pourraient aussi activement moduler le tonus vasculaire. (Jasmin & al., 2003)

L'insuffisance cardiaque chronique limiterait l'efficacité respiratoire et l'échange gazeux. (Gehlbach & al., 2004) Une diminution des volumes pulmonaires associée à une diminution de la compliance pulmonaire semblerait en effet se développer de façon proportionnelle à la sévérité de la maladie cardiaque. (Ravenscraft & al., 1993 ; Dimopoulou & al., 1998 ; Mettauer & al., 1999 ; Al-Rawas & al., 2000) La capacité de diffusion du monoxyde de carbone, indice de la résistance globale pulmonaire à l'échange gazeux, serait aussi diminuée. (Puri & al., 1995 ; Mettauer & al., 1999) La diminution de la conductance membranaire pulmonaire serait en effet associée à l'intolérance à l'exercice chez le patient souffrant d'insuffisance cardiaque et serait un prédicteur important d'un mauvais pronostic. (Guazzi & al., 2001 ;

Guazzi & al., 2002 ; Agostoni & al., 2002) Ces exemples concorderaient avec une diminution de la perméabilité alvéolaire, possiblement secondaire à l'épaississement de l'interface séparant l'alvéole du capillaire. (Gehlbach & al., 2004) Une diminution de l'aire de surface entre l'alvéole et le capillaire et une augmentation de la distance de diffusion associées à l'épaississement du septum alvéolaire seraient ainsi probablement responsables de la diffusion pulmonaire entravée, telle qu'observée chez le patient souffrant d'insuffisance cardiaque au repos ou à l'exercice. (Puri & al., 1995 ; Smith & al., 1999 ; Guazzi, 2000 ; Kingsbury & al., 2003)

L'insuffisance cardiaque chronique modifie l'interface séparant l'alvéole du capillaire, ceci via l'augmentation excessive de pression et de volume au niveau du capillaire pulmonaire. Par des mécanismes encore inconnus, ces événements induiraient une prolifération myofibroblastique et un remodelage pulmonaire. Quoique ce phénomène représenterait initialement un mécanisme de défense contre l'oedème pulmonaire, le remodelage pulmonaire devient éventuellement délétère et contribue de façon significative à la limitation fonctionnelle des sujets atteints.

1.3 Le Myofibroblaste

Le myofibroblaste, cellule mésenchymateuse ubiquitaire et hétérogène, serait impliqué dans plusieurs processus physiologiques, dont la sécrétion de cytokines, la génération de la matrice extracellulaire et la contraction tissulaire. Ces propriétés seraient essentielles aux évènements associés au remodelage tissulaire, dont l'organogenèse et la régénération tissulaire. Quoique normalement transitoire, l'activation persistante du myofibroblaste pourrait être associée à diverses conditions pathologiques, telles la fibrose tissulaire ou la cicatrisation hypertrophique.

1.3.1 Généralités

Diverses lignées cellulaires démontreraient des propriétés associées au phénotype myofibroblastique. Ainsi, le péricyte vasculaire, la cellule mésangiale du rein, la cellule Ito hépatique, la cellule interstitielle de Cajal de l'intestin, l'astrocyte, la cellule stromale médullaire, le synoviocyte ou la cellule de Leydig se qualifieraient entre autres comme étant membre de la famille des myofibroblastes. (Powell & al., 1999) L'origine cellulaire du myofibroblaste n'est pas encore bien définie, mais cette cellule pourrait émaner possiblement du fibroblaste tissulaire, du fibrocyte circulant, du proto-myofibroblaste, du muscle lisse vasculaire ou même directement de la cellule

souche. (Powell & al., 1999) Indépendamment de la lignée et du précurseur cellulaires, ces différents sous-types présenteraient des caractéristiques phénotypiques similaires. Morphologiquement, le myofibroblaste présenterait une forme stellaire associée à de longues projections cellulaires et un appareil de Golgi et un réticulum endoplasmique rugueux bien définis. (Powell & al., 1999) Du point de vue structural, cette cellule démontrerait des caractéristiques spécifiques aux muscles lisses vasculaires et au fibroblastes. En effet, le myofibroblaste présenterait des faisceaux parallèles de filaments d'actine organisés le long du corps cellulaire. Ces derniers seraient formés de l'isoforme alpha spécifique à l'actine du muscle lisse (α -SMA) et prendraient l'apparence de fibres de stress fibroblastiques. (Gabbiani & al., 1973 ; Darby & al., 1990) Le système de filaments intermédiaires témoignerait aussi de la double nature du myofibroblaste, exprimant à la fois le marqueur fibroblastique vimentine et le marqueur musculaire desmine. (Powell & al., 1999) De même, la signalisation cellulaire serait influencée par cette dualité. L'activation cellulaire dépendrait ainsi de jonctions communicantes de type gap à phénotype plutôt musculaire et de signalisation autocrine et paracrine, propriété plutôt fibroblastique. (Powell & al., 1999)

Les myofibroblastes formeraient un groupe de cellules hétérogènes. Ces cellules démontreraient en effet une grande diversité dans leur profil d'expression de protéines cytosquelettiques. Une classification fut alors proposée dépendamment de la présence de vimentine, desmine, α -SMA ou de

la chaîne lourde de la myosine du muscle lisse. (Skalli & al., 1989) Le profil cytosquelettique varierait dépendamment du type tissulaire et du microenvironnement influençant la cellule. (Powell & al., 1999) La présence de α -SMA et de myosine serait dépendante des évènements tissulaires auxquels le myofibroblaste participerait, tels la régénération et le remodelage physiologique ou pathologique. (Schmitt-graff & al., 1994) Le proto-myofibroblaste, exprimant seulement la vimentine en la présence ou l'absence de desmine, serait considéré comme étant un précurseur. (Tomasek & al., 2002) Ce myofibroblaste de type V ou VD serait retrouvé au niveau de tissus spécialisés nécessitant la génération de force modérée, tel que l'intestin avec les cellules interstitielles de Cajal. (Torihashi & al., 1994) Les proto-myofibroblastes exprimeraient en effet des faisceaux de microfilaments et des points d'adhésion focaux partiellement développés, et n'exprimeraient pas l'isoforme α -SMA de l'actine. (Tomasek & al., 2002) Le myofibroblaste activé exprimerait la vimentine, l' α -SMA et/ou la desmine. Ce myofibroblaste de type VA ou VAD démontrerait ainsi des fibres de stress de microfilaments d'actine et des points d'adhésion focaux liant la matrice extracellulaire bien définis. (Powell & al., 1999) Cette cellule serait plutôt retrouvée lors de la régénération tissulaire, de l'organogenèse et de la fibrose pathologique. (Powell & al., 1999) Le myofibroblaste de type VADM exprimerait les quatre marqueurs cytosquelettiques présentés précédemment. Ce phénotype plutôt rare serait surtout retrouvé lors de la réponse tissulaire à une tumeur. (Chiavegato & al., 1995) D'autres marqueurs musculaires non nécessairement

associés aux fibres de stress de l'isoforme α -SMA de l'actine ont récemment été démontrés. (Mayer & al., 1997) Les myofibroblastes ventriculaires dans le modèle canin infarctus pourraient exprimer par exemple l'isoforme embryonnaire de la chaîne lourde de la myosine du muscle lisse. (Frangogiannis & al., 2000) Les myofibroblastes de poumon exprimeraient par contre les isoformes embryonnaire, Ila et IId de la chaîne lourde de la myosine du muscle squelettique et les facteurs myogéniques myf-5 et MEF2. (Rice & al., 2003) Rice & al. ont en effet démontré que l'expression de ces isoformes de myosines squelettiques serait essentielle au phénotype contractile spécifique du myofibroblaste pulmonaire. (Rice & al., 2003) L'expression différentielle de marqueurs cytosquelettiques et musculaires assurerait alors à ces cellules une fonction tissu-spécifique.

1.3.2 Fonctions du myofibroblaste

Étant impliquée dans les processus de régénération et de remodelage tissulaire, le myofibroblaste démontrerait diverses propriétés fonctionnelles spécifiques. Le myofibroblaste activé sécrèterait une multitude de facteurs de croissance, cytokines, chimiokines et médiateurs inflammatoires pouvant influencer l'activité cellulaire environnante. Tel qu'énoncé par Powell & al. (Powell & al., 1999), ces facteurs serviraient trois fonctions générales, soit la stimulation de la migration cellulaire, l'activation paracrine de la prolifération

cellulaire et l'induction de la différenciation terminale. Les médiateurs sécrétés par les myofibroblastes pourraient aussi activer de façon autocrine ces même cellules, induisant alors l'expression augmentée de récepteurs membranaire et de facteurs de croissance. (Powell & al., 1999) Différentes études ont démontré que les peptides libérés par les myofibroblastes, tels que EGF, TGF- α , IGF-I/II, HGF, FGFa/b, KGF et IL-11, seraient les médiateurs-clés nécessaires à l'activation paracrine de cellules épithéliales et parenchymateuses. (Powell & al., 1999) Ces différentes molécules pourraient ainsi agir seules ou en concert. Le facteur de croissance des kératinocytes pourrait par exemple induire par lui-même la prolifération et la différenciation de plusieurs types cellulaires variés. Ce facteur, initialement isolé de myofibroblastes pulmonaires, pourrait ainsi activer, à part les kératinocytes, les hépatocytes, les pneumocytes de type II et les cellules épithéliales de l'intestin. (Powell & al., 1999) Les facteurs de croissance d'origine myofibroblastique, tels que TGF- α/β , EGF et FGFa/b, agissant conjointement aux cytokines inflammatoires IL-1 β et INF- γ , pourraient induire la réépithélisation lors de processus cicatriciels. (Powell & al., 1999) De même, PDGF, GM-CSF et TGF- β favoriseraient l'inflammation (Powell & al., 1999), tandis que VEGF, FGFb et TGF- β induiraient l'angiogénèse. (Powell & al., 1999) Ces différents exemples illustreraient comment l'activation myofibroblastique pourrait induire un nombre élevé de réponses différentes, ceci dépendamment des facteurs libérés.

Les myofibroblastes synthétiseraient les diverses composantes structurales et régulatrices de la matrice extracellulaire, et participerait ainsi au remodelage tissulaire. L'entretien de cette matrice est essentiel, étant donné son rôle dans le support structural des tissus, la mise en réserve de facteurs de croissance et la protection physique que celle-ci confère aux tissus contre des forces compressives, tensiles et de cisaillement. Les collagènes de type I, III, IV et VIII seraient en effet synthétisés par les myofibroblastes. (Powell & al., 1999) De même, ces cellules exprimeraient des facteurs accessoires nécessaires à la formation de fibrilles, tels la 4-hydroxyprolylase et fibrilline, et pourraient sécréter des protéoglycans. (Powell & al., 1999) En plus de la production de collagène de type IV et de chondroïtine sulfate, les myofibroblastes participeraient à l'agencement de la membrane basale par leur sécrétion de laminines, telles la fibronectine et la tenascine. (Powell & al., 1999) Au niveau d'un tissu sain, la synthèse et la dégradation des différentes composantes de la matrice extracellulaire seraient en équilibre. Cette dernière et la membrane basale seraient dégradées par l'activité protéolytiques des métalloprotéinases matricielles Zn^{2+} -dépendantes, dont les trois premiers sous-types seraient sécrétés par les myofibroblastes. (Powell & al., 1999) MMP1 serait responsable de la dégradation des collagènes de type I-III, MMP2 digérerait le collagène de type IV et les collagènes de type I et III dénaturés, tandis que MMP3 pourrait dégrader entre autres les laminines et les protéoglycans. (Woessner, 1991) Un déséquilibre au niveau de la sécrétion myofibroblastique de protéines et de protéinases matricielles pourrait alors

résulter en un phénomène de fibrose pathologique. Les myofibroblastes seraient ainsi souvent impliqués dans de tels évènements, comme il peut être observé lors de cirrhose hépatique (Gressner, 1996), de fibrose pulmonaire idiopathique ou de sarcoïdose. (Sappino & al., 1990 ; Hogaboam & al., 1998 ; Ryu & al., 1998) L'observation d'une prolifération myofibroblastique au niveau du septum alvéolaire et d'un remodelage pulmonaire lors d'insuffisance cardiaque chronique ne serait pas ainsi inusitée.

Un évènement essentiel à la guérison d'une plaie serait la contraction du tissu de granulation sous-jacent, diminuant alors l'exposition de la surface dénudée du tissu lésé (Rungger-Brandle & al., 1983) Les myofibroblastes possèderaient la machinerie intracellulaire nécessaire à un tel processus. Les filaments de l'isoforme α -SMA seraient en effet contractiles et confèreraient au myofibroblaste la capacité d'exercer une force de tension sur le collagène extracellulaire et les fibrilles de fibronectines. Une telle contraction de la matrice extracellulaire dépendrait spécifiquement de l'expression myofibroblastique de points d'adhésion focaux. (Singer & al., 1985) Ces derniers formeraient un continuité entre le myofibroblaste et la matrice extracellulaire, ceci par l'intermédiaire d'un complexe d'intégrines $\alpha\beta$ transmembranaires reliant les fibres de stress myofibroblastiques à la fibronectine matricielle. (Racine-Samson & al., 1997) La formation de points d'adhésion focaux, de même que l'agencement de fibres de stress et le contrôle de la morphologie cellulaire, seraient régulés par Rho A, petite guanosine

triphosphatase de type RAS. (Aspenstrom & al., 1999 ; Yee, 1998) L'expression d'isoformes de la chaîne lourde de la myosine du muscle squelettique pourrait influencer le processus de contraction myofibroblastique. Certains myofibroblastes démontreraient en effet la capacité de modifier les concentrations intracellulaires de calcium, permettant ainsi une interaction actine/myosine. (Furuya & al., 1994) Les jonctions communicantes de type gap interconnectant les myofibroblastes au sein d'un tissu permettrait alors la transmission du flux ionique entre les cellules. (Sanders, 1996) L'utilisation d'un inhibiteur spécifique de l'isoforme de la chaîne lourde de la myosine du muscle squelettique diminuerait considérablement l'activité contractile de myofibroblastes pulmonaires *in vitro* (Rice & al., 2003), démontrant ainsi l'importance des voies calcium-dépendantes et des isoformes de myosines dans de tels évènements cellulaires.

Les diverses propriétés cellulaires présentées ci-dessus confèreraient aux myofibroblastes différentes fonctions au niveau tissulaire. Celles-ci se conformeraient spécifiquement au tissu dans lequel ces cellule seraient établies. (Gabbiani, 1999) Ainsi, les astrocytes, membres de la famille des myofibroblastes, seraient par exemple responsables de l'élaboration de la barrière hémato-encéphalique et sécrèteraient des facteurs mitogéniques neuronaux. (Powell & al., 1999) De même, les cellules interstitielles de Leydig au niveau testiculaire sécrèteraient spécifiquement des androgènes. (Powell & al., 1999) Dans un même tissu, différentes lignées

myofibroblastiques pourraient coexister, démontrant alors des fonctions divergentes dépendamment du contexte environnemental local. (Schmitt-graff & al., 1994) Dans le poumon, par exemple, deux classes de cellules contractiles sembleraient exister au niveau de l'espace interstitiel alvéolaire non-pathologique, soit le péricyte vasculaire (myofibroblaste de type VA) et la cellule contractile interstitielle (myofibroblaste de type V et/ou VD), aussi connu sous le nom de myofibroblaste alvéolaire. (Kapanci & al., 1992) Bien que fonctionnellement différents, ces deux types cellulaires démontreraient un phénotype myofibroblastique. Les péricytes seraient associés aux capillaires veineux et aux veinules post-capillaire. (Kapanci & al., 1992) Ces cellules seraient impliquées dans la constriction de micro-vaisseaux et sembleraient exercer un rôle dans la régulation du tonus vasculaire, ceci par la sécrétion d'agoniste vasoactif et d'éléments de la membrane basale et de la matrice extracellulaire. Les péricytes seraient aussi responsables de la régulation de la prolifération et la différenciation des cellules endothéliales. (Kapanci & al., 1990 ; Kapanci & al., 1992 ; Shepro & al., 1993) Enchâssées au niveau de la membrane basale alvéolaire, les cellules contractiles interstitielles seraient retrouvées autour de chaque saccule alvéolaire et seraient nombreuses le long de l'ouverture de l'alvéole au niveau des conduits alvéolaires. (Kapanci & al., 1990 ; Kapanci & al., 1992) Ces myofibroblastes alvéolaires seraient ainsi impliqués dans les processus d'expansion et d'affaissement essentiels à la respiration. (Kapanci & al., 1992) Il devient donc évident qu'une altération cytoarchitecturale de l'espace interstitiel alvéolaire, associée à une

prolifération myofibroblastique excessive, aura un effet néfaste chez le patient souffrant d'insuffisance cardiaque.

Indépendamment du tissu, les différents types de cellule myofibroblastiques partageraient des fonctions générales communes. Par la sécrétion de protéines matricielles, de peptides vasoactifs, de facteurs fibrogéniques et angiogéniques, et par l'élaboration de forces de tension, les myofibroblastes seraient essentiels au maintien de l'intégrité tissulaire et aux processus de remodelage et de régénération tissulaire. (Serini & al., 1999 ; Powell & al., 1999) Lors du développement, ces cellules pourraient aussi promouvoir l'organogenèse et la morphogenèse, soit par interaction épithélio-mésenchymateuse, contracture tissulaire et sécrétion de cytokines et protéines matricielles. (Powell & al., 1999) Au niveau pulmonaire, ces cellules seraient en effet responsable du développement alvéolaire, ceci par contracture de l'épithélium alvéolaire et déposition d'élastine, permettant alors la formation du septum alvéolaire nécessaire à l'échange gazeux. (Vaccaro & al., 1978 ; Leslie & al., 1990 ; Bostrom & al., 1996 ; Yamada & al., 2005) Hormis la capacité de contrôler localement le débit sanguin associée à l'activité des péricytes (Shepro & al., 1993), la fonction contractile des myofibroblastes pourrait aussi être impliquée dans la sécrétion des glandes gastriques et la motricité des villosités intestinales. (Powell & al., 1999b) Les myofibroblastes participeraient enfin à la réaction inflammatoire, ceci par la sécrétion de cytokines et chimiokines, la synthèse constitutive et inductible de

prostaglandines, et l'expression de molécules d'adhésion et d'intégrines. (Powell & al., 1999) Ces cellules pourraient ainsi moduler la réponse inflammatoire et assister à la formation d'un granulome. (Rungger-Brandle & al., 1983 ; Fujita & al., 2002)

1.3.3 Activation myofibroblastique

La prolifération et l'activation myofibroblastiques seraient soutenues par diverses cytokines (TNF- α , IL-1, -4, -6, -8), facteurs de croissance (PDGF, CTGF, TGF- α , EGF, FGFa/b, IGF-I/II), et peptides vasoactifs (angiotensine II, endothéline 1, aldostérone, thrombine). (Powell & al., 1999) Toutefois, TGF- β 1 semblerait être le facteur-clé nécessaire à l'expression de α -SMA et la synthèse de collagène par les myofibroblastes. (Gabbiani, 2003)

Le facteur de croissance TGF- β appartient à une famille de polypeptides homologues qui inclut trois isoformes de TGF- β , les facteurs BMPs, activines et inhibines. (Massague, 2000) TGF- β serait exprimé par différents lignées cellulaires, dont les plaquettes, les cellules endothéliales, les cellules du muscle lisse vasculaire, les fibroblastes et les macrophages. Ce facteur serait synthétisé et sécrété sous forme de zymogène, pouvant alors être clivé par activité protéolytique et générant ainsi le facteur de croissance actif et un peptide latent. L'homodimère actif de TGF- β pourrait se lier à deux

récepteurs cellulaires, TBR1 et TBR2, à activité sérine/thréonine kinase initiant alors la phosphorylation des facteurs de transcription cytoplasmiques Smads. (Attisano & al., 2002) TGF- β démontrerait des propriétés pléiotropiques, ceci dépendamment du tissu et des circonstances stimulant sa sécrétion. (Moustakas & al., 2002) Ce facteur de croissance inhiberait en effet la prolifération de cellules épithéliales et de leucocytes, tout en induisant la prolifération de fibroblastes et de cellules musculaires lisses. TGF- β démontrerait aussi des propriétés anti-inflammatoires et serait un puissant agent fibrogénique, en induisant le chimiotactisme fibroblastique, stimulant la production de protéines matricielles et inhibant la dégradation de celles-ci.

TGF- β serait essentiel aux processus de remodelage et de régénération tissulaires. Les leucocytes, les cellules épithéliales et le parenchyme sembleraient être la source primaire de TGF- β lors de l'initiation de tels événements tissulaires. (Border & al., 1994) Suite au développement fibrotique, les myofibroblastes exprimeraient ce peptide *de novo* (Campbell & al., 1997 ; Powell & al., 1999) et s'autostimuleraient de façon autocrine. (Gabbiani, 2003) En effet, ce facteur induirait directement chez le myofibroblaste la prolifération cellulaire, la synthèse de facteur de croissance et inhiberaient l'apoptose. (Zhang & al., 1999 ; Powell & al., 1999) Au niveau pulmonaire, TGF- β pourrait jouer un rôle dans la pathogénèse de diverses maladies. Les concentrations tissulaires de cette cytokine seraient en effet augmentées au niveau de sections de poumons isolés de patients souffrant de

fibrose pulmonaire idiopathique. (Khalil & al., 1991 ; Willis & al., 2005) *In vitro*, ce facteur de croissance induirait chez le fibroblaste pulmonaire la synthèse de procollagène et régulerait l'expression d'inhibiteurs des protéinases matricielles. (Eickelberg & al., 1999) L'utilisation d'anticorps dirigés spécifiquement contre ce peptide inhiberait *in vivo* le développement de fibrose pulmonaire. (Giri & al., 1993) TGF- β pourrait aussi être impliqué dans la modification pathologique du poumon associée à la sclérodermie (Mimura & al., 2005), la sarcoïdose (Fireman & al., 2004), l'asthme (Batra & al., 2004) ou l'irradiation (Nishioka & al., 2004), où une prolifération myofibroblastique serait observée. La quantification de l'expression du facteur de croissance TGF- β représenterait ainsi un excellent marqueur de remodelage tissulaire.

Le facteur de croissance TGF- β induirait directement l'expression de l'isoforme α -SMA nécessaire à la génération de fibres de stress chez le myofibroblaste. Diverses études sont présentement en cours pour élucider le mécanisme intracellulaire associé à ce phénomène, impliquant par exemple l'importance de Smad3 et de la voie sérine/thréonine kinase JNK-dépendante lors de l'activation myofibroblastique. (Hashimoto & al., 2001 ; Hu & al., 2003) Le domaine ED-A de la fibronectine (ED-A FN) serait nécessaire à l'élaboration du phénotype myofibroblastique par TGF- β 1. (Serini & al., 1998 ; Gabbiani, 2003) Ce peptide, libéré en premier lieu par l'endommagement de la matrice extracellulaire, serait exprimé dans un second temps par les proto-myofibroblastes activés par TGF- β 1, précédant leur expression de α -SMA.

(Serini & al., 1998 ; Hinz & al., 2001 ; Gabbiani, 2003) Le mécanisme pouvant expliquer le rôle de ED-A FN lors de l'expression myofibroblastique de α -SMA et la sécrétion de collagène serait à ce jour inconnu. De même, Thannicka & al. ont récemment démontré l'importance de l'adhésion cellulaire dans l'induction du phénotype myofibroblastique par TGF- β 1. (Thannickal & al., 2003) Ce mécanisme dépendrait de l'activation de FAK associée à la surexpression d'intégrines et de fibronectines, et serait retrouvé par exemple au niveau de myofibroblastes isolés de poumons de patients souffrant de sclérodémie. (Thannickal & al., 2003 ; Mimura & al., 2005) L'activation myofibroblastique nécessiterait enfin la présence obligatoire de stimuli mécaniques. (Squier, 1981) Arora & al. furent en effet les premiers à démontrer l'importance de la compliance du gel de collagène dans l'induction *in vitro* de α -SMA par TGF- β 1. (Arora & al., 1999) La mise en tension de fibroblastes en culture induirait l'élaboration de propriétés contractiles chez ces cellules, telles la formation de fibres de stress (Tomasek & al., 1992) et l'expression de α -SMA (Arora & al., 1999), tout en modifiant l'assemblage de fibres de fibronectines (Halliday & al., 1995) et les mécanismes de transduction impliqués dans la régulation de la contraction cellulaire. (Grinnell & al., 1999)

L'activation cellulaire par TGF- β 1 ne stimulerait pas directement la prolifération de myofibroblastes. Cette cytokine induirait en effet l'expression myofibroblastique des récepteurs de PDGF et/ou de la synthèse du facteur de

croissance CTGF. (Ichiki & al., 1995 ; Igarashi & al., 1993) Agissant ensemble, ces facteurs pourraient influencer l'adhésion et la migration cellulaire, tout en stimulant la sécrétion de composantes de la matrice extracellulaire. Ces derniers sembleraient être les facteurs principaux responsables de la prolifération des myofibroblastes. (Powell & al., 1999) PDGF serait d'une importance particulière au niveau pulmonaire. Ce facteur de croissance serait essentiel aux processus de morphogénèse alvéolaire. L'absence d'expression de PDGF-A chez la souris résulterait en effet en la mort de l'animal lors du développement embryonnaire, ceci dû à l'absence de myofibroblastes et de septums alvéolaires. (Bostrom & al., 1996) PDGF pourrait aussi être impliqué dans la pathogénèse de la fibrose pulmonaire, l'utilisation d'inhibiteurs de tyrosine kinase spécifiques aux récepteurs de PDGF supprimant en effet la prolifération myofibroblastique associée à cette pathologie. (Bonner & al., 1998 ; Rice & al., 1999)

Divers autres facteurs protéiques pourraient induire l'activation myofibroblastique. L'aldostérone, la thrombine et l'endothéline seraient en effet des facteurs solubles rapportés comme étant impliqués dans de tels événements cellulaires. (Neumann & al., 2002 ; Bogatkevich & al., 2003 ; Shi-Wen & al., 2004) L'octapeptide vasoactif angiotensine II démontrerait un rôle essentiel dans l'activation myofibroblastique lors de processus associés au remodelage tissulaire. (Campbell & al., 1997 ; Weber & al., 1997) Étant donné le nombre important d'études sur ce sujet, le myofibroblaste cicatriciel

ventriculaire post-infarctus sera utilisé à titre d'exemple. L'angiotensine II serait essentielle à la prolifération des myofibroblastes et à l'accumulation subséquente de collagène au site cicatriciel ventriculaire. Katwa & al. démontrèrent en effet que les myofibroblastes isolés de la cicatrice transmurale de rats infarctus exprimeraient toutes les composantes nécessaires à la génération *de novo* d'angiotensine II, supportant ainsi l'hypothèse d'une génération locale de ce peptide. (Katwa & al., 1997) Ces cellules seraient la source primaire de récepteurs AT1 dans le cœur en régénération (Sun & al., 1996), et la surexpression de ce récepteur et de l'enzyme de conversion de l'angiotensine au site de remodelage ventriculaire coïnciderait avec une accumulation de collagènes fibrillaires. (Sun & al., 1994) L'utilisation d'inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine ou d'antagonistes du récepteur AT1 chez le modèle canin réduirait de plus l'importance de l'infarctus et le remodelage ventriculaire, tout en diminuant les concentrations d'angiotensine II et de TGF- β ventriculaires. (Sun & al., 2000) L'angiotensine II induirait en effet l'expression et la synthèse de TGF- β 1 par les myofibroblastes cardiaques via le récepteur AT1. (Campbell & al., 1997) Cette hormone agirait de plus directement sur la voie de signalisation associée à TGF- β , augmentant possiblement l'expression des protéines Smad et induisant leur translocation vers le noyau. (Hao & al., 2000) Les différentes composantes de ces deux systèmes seraient colocalisées ensemble dans le cœur régénérant. (Sun & al., 1998) L'angiotensine II générée *de novo* stimulerait ainsi le développement cicatriciel en induisant l'expression et la sécrétion de

TGF- β 1 par les myofibroblastes, cette cytokine pouvant alors stimuler de façon autocrine/paracrine la prolifération cellulaire et l'expression de collagène fibrillaire. (Katwa & al., 1997 ; Campbell & al., 1997 ; Sun & al., 1998)

L'étude de l'activation tissulaire du système rénine-angiotensine associée à une prolifération myofibroblastique, telle que présentée dans ce présent manuscrit, ne serait pas ainsi inusitée.

1.4 Le Système Rénine-Angiotensine

Le système rénine-angiotensine (SRA) joue un rôle essentiel dans le maintien de la pression artérielle, régulant l'homéostasie natrémique et la volémie circulante. L'activation anormale de ce système est impliquée dans la pathogenèse de plusieurs maladies dont l'hypertension, l'insuffisance cardiaque et l'insuffisance rénale.

Le système rénine-angiotensine systémique dépend d'une cascade d'événements moléculaires impliquant la sécrétion et le clivage de diverses protéines et peptides plasmatiques. La rénine, enzyme-clef de ce système, est sécrétée par le rein et clive son seul substrat connu, l'angiotensinogène hépatique. Cette protéine globulaire permet alors la génération de l'angiotensine I, décapeptide correspondant à la région N-terminale du précurseur. L'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA) d'origine endothéliale est alors responsable du clivage de deux acides aminés en position C-terminale. L'octapeptide résultant, l'angiotensine II (AngII), est responsable des différents effets biologiques du système rénine-angiotensine, ceci par activation de récepteurs cellulaires spécifiques, AT1 et AT2. L'angiotensine II serait dégradée rapidement, les métabolites résultant pouvant aussi posséder certaines fonctions spécifiques. Les éléments nécessaires à la synthèse d'angiotensine II furent identifiés au niveau interstitiel et cellulaire de plusieurs organes et tissus, conférant alors à l'angiotensine une activité

autocrine, paracrine et intracrine, ceci indépendamment du système rénine-angiotensine systémique.

1.4.1 Système rénine-angiotensine systémique

1.4.1.1 La rénine

La rénine, aspartyle protéase de 40 kDa, démontre une fonction biologique bien définie, soit la protéolyse de son substrat spécifique l'angiotensinogène. (Don & al., 2001) Cette enzyme présente des caractéristiques particulières (Dzau & al., 1988). Son pH optimum est près de la neutralité, lui permettant ainsi d'être active au niveau plasmatique. Contrairement aux autres membres de la famille des aspartyle protéases, la rénine démontre de plus une haute sélectivité. L'angiotensinogène est en effet son seul et unique substrat. (Dzau & al., 1988)

La rénine est synthétisée sous forme de précurseur zymogène (Hsueh & al., 1991). La préprorénine est clivée en prorénine au niveau du réticulum endoplasmique, à son tour clivée en rénine au niveau de granules de sécrétions denses des cellules juxtaglomérulaires rénales. Ces dernières dériveraient de cellules musculaires lisses différenciées et seraient retrouvées au niveau de la média de l'artériole afférente rénale adjacente au gloméulus. (Keeton & al.,

1981) Les cellules juxtaglomérulaires sont ainsi considérées comme le site principal de synthèse, d'emménagement et de sécrétion de la rénine. (Keeton & al., 1981)

La sécrétion de rénine serait régulée par différents mécanismes. (Mitchell & al., 1989 ; Hackenthal & al., 1990) Une diminution en pression de perfusion au niveau de l'artériole afférente rénale activerait directement les cellules juxtaglomérulaires via la stimulation de barorécepteurs. (Mitchell & al., 1989 ; Hackenthal & al., 1990) De même, la libération de rénine pourrait être activée par la macula densa, cellules tubulaires spécialisées de la partie ascendante de l'Anse de Henle adjacentes aux cellules juxtaglomérulaires, ceci suivant une diminution de la concentration tubulaire en ions chlorure et sodium. (Mitchell & al., 1989 ; Hackenthal & al., 1990) Le système sympathique pourrait aussi directement stimuler les cellules juxtaglomérulaires via l'activation de récepteurs β_1 -adrénergiques. (Mitchell & al., 1989 ; Hackenthal & al., 1990) Différents médiateurs sont aujourd'hui considérés comme étant impliqués dans la sécrétion de la rénine. En effet, les prostaglandines PGE₂ et PGI₂, la bradykinine, le VIP et le CGRP stimuleraient la sécrétion de rénine, tandis que l'angiotensine II, l'hormone anti-diurétique, les peptides natriurétiques et l'endothéline inhiberaient sa libération. (Hackenthal & al., 1990)

La rénine active ne constitue que 10 à 25% du lot total de prorénine et de rénine circulantes. (Kim & al., 1991 ; Derkx & al., 1988) En effet, les cellules juxtaglomérulaires sécrèteraient aussi la prorénine, ceci en quantité dix fois supérieur à la rénine. Par contre, une fois libérée au niveau plasmatique, la prorénine ne serait jamais transformée en rénine. (Kim & al., 1991 ; Derkx & al., 1988) Ainsi, seule la rénine disposerait d'une activité enzymatique. Étant donné l'absence d'inhibiteur physiologique, lorsque sécrétée, la rénine serait constitutivement active. (Kim & al., 1991 ; Derkx & al., 1988)

1.4.1.2 L'angiotensinogène

L'angiotensinogène, α_2 -globuline de 60 kDa, est synthétisée de façon constitutive par le foie. (Don & al., 2001) Diverses études *in vitro* et *in vivo* ont démontrés le rôle de différents facteurs dans la régulation de la synthèse de cette protéine. Contrairement à la rénine, l'angiotensinogène serait induit par l'angiotensine II. De même, les glucocorticoïdes, les oestrogènes, les hormones thyroïdiennes et le TNF- α augmenteraient la synthèse de cette protéine. (Clauser & al., 1989 ; Brasier & al., 1996) À l'opposé, le glucagon, l'isoprotérénol et la forskoline pourraient en diminuer la synthèse. (Klett & al., 1990)

Le décapeptide angiotensine I correspond à la partie N-terminale de l'angiotensinogène et résulte du clivage de ce dernier par la rénine. (Don & al.,

2001) Cette réaction est particulièrement importante du point de vue cinétique enzymatique. Celle-ci est en effet la seule réaction limitante du système rénine-angiotensine. (Don & al., 2001) La constante d'affinité de la rénine serait comparable aux concentrations plasmatiques en angiotensinogène. (Don & al., 2001) Ainsi, la protéolyse de l'angiotensinogène serait rénine- et substrat-dépendante et l'augmentation de l'une ou l'autre de ses protéines serait suffisante à l'augmentation des concentrations en angiotensine I. (Don & al., 2001)

1.4.1.3 L'enzyme de conversion de l'angiotensine

L'enzyme de conversion de l'angiotensine, dipeptidyl carboxypeptidase de 140 kDa, est responsable de la conversion du décapeptide angiotensine I en l'octapeptide angiotensine II. (Don & al., 2001) Cette enzyme est exprimée ubiquitairement au niveau de l'endothélium vasculaire et peut être détectée au niveau épithélial et neuronal. (Skidgel & al., 1987) Celle-ci est retrouvée en plus grande quantité au niveau de la circulation de certains organes, dont les poumons, le cerveau et l'oeil. (Skidgel & al., 1987) Un seul passage de l'angiotensine I plasmatique à travers les poumons seraient suffisant à sa conversion en angiotensine II. Cette réaction serait en effet fonction de la surface vasculaire et du temps de transit du sang à travers les poumons. (Oparil & al., 1971)

L'enzyme de conversion de l'angiotensine fait partie de la classe des zinc métallopeptidases non-spécifiques, étant donné sa capacité de cliver la bradykinine, les enképhalines et la substance P. (Corvol & al., 1995) Cette enzyme serait ainsi impliquée dans l'augmentation de la pression artérielle via deux processus majeurs différents, soit par production du vasoconstricteur angiotensine II et par inactivation du vasodilatateur bradykinine.

Trois isoformes différentes de l'ECA sont retrouvées. Par contre, seulement un gène encoderait cette enzyme de conversion. (Soubrier & al., 1988) Les formes somatique et testiculaire dérivent de l'activation de deux promoteurs différents, induisant respectivement la transcription des exons 1 à 26 (excluant l'exon 13) et la transcription des exons 13 à 26. (Kumar & al., 1991) Ces deux dernières formes sont des ectoenzymes membranaires, ceci par l'intermédiaire d'un segment hydrophobe situé en C-terminal. La forme soluble de l'enzyme de conversion de l'angiotensine correspond au domaine extracellulaire de l'isoforme somatique ou testiculaire, ceci après libération par l'activité protéolytique de sécrétases à ce jour inconnues. (Beldent & al., 1993) L'isoforme soluble est retrouvé au niveau du plasma, de la lymphe, du liquide céphalo-rachidien et du liquide amniotique. (Erdos, 1990) Deux régions catalytiques en N- et C-terminal seraient indentifiables au niveau du domaine extracellulaire de la forme somatique, tandis que seulement un site en C-terminal serait présent dans l'isoforme testiculaire. (Kumar & al., 1989 ; Wei & al., 1991) La région catalytique en C-terminal démontrerait une spécificité

accrue pour l'angiotensine I et serait responsable de 75% de sa conversion alors que le site en N-terminal cliverait l'angiotensine I restante et divers autres peptides. (Wei & al., 1991 ; Ehlers & al., 1991)

Récemment, une nouvelle enzyme de conversion de l'angiotensine, ECA2, fut identifiée. Cette carboxypeptidase démontrerait 60% d'homologie avec l'ECA classique et posséderait seulement un site catalytique. (Tipnis & al., 2000) Celle-ci serait exprimée de façon moins importante que l'enzyme de conversion classique et serait plus retrouvée au niveau des reins, des testicules et du coeur. (Tipnis & al., 2000) De plus, une forme soluble a pu être démontrée *in vitro*. (Tipnis & al., 2000) Cette nouvelle enzyme dégraderait l'angiotensine II en Ang-(1-7), un métabolite vasodilatateur. ECA2 ferait aussi compétition avec l'ECA classique pour l'angiotensine I, générant alors le métabolite Ang-(1-9), ce dernier pouvant aussi être dégradé en Ang-(1-7) par l'enzyme de conversion classique. (Donoghue & al. 2000) Cette seconde enzyme de conversion pourrait ainsi jouer un rôle dans le contrôle d'une suractivation pathologique du système rénine-angiotensine.

1.4.1.4 Fonctions systémiques de l'angiotensine II

L'angiotensine II est considérée comme l'effecteur principal du système rénine-angiotensine. Ce peptide est responsable systématiquement de

plusieurs fonctions biologiques nécessaires au maintien de la pression sanguine et à la régulation de l'homéostasie. (Don & al., 2001)

L'angiotensine II démontrerait des effets immédiats nécessaires à la correction d'une chute importante de la pression sanguine. Ce peptide est en effet un puissant vasoconstricteur du muscle lisse vasculaire. (Oudart, 2005) Au niveau endothélial, l'angiotensine II peut aussi induire la libération du vasoconstricteur endothéline. (Rossi & al., 1999) Ces évènements augmenteraient ainsi rapidement la résistance vasculaire. L'angiotensine II peut de plus stimuler directement l'augmentation de la réabsorption de sodium au niveau du tubule contourné proximal rénal, entraînant alors une rétention osmotique d'eau. (Oudart, 2005) Ceci augmenterait ainsi aussi rapidement la volémie et la pression sanguine.

L'angiotensine II démontrerait aussi des effets hypertenseurs à plus long terme. Ces différents effets pourraient exercer un contrôle sur la volémie. En effet, l'angiotensine II induit au niveau de la zone glomérulée du cortex surrénalien la sécrétion d'aldostérone. Ce minéralocorticoïde induit une réabsorption de sodium associée à une excrétion de potassium et une rétention osmotique d'eau au niveau du tubule contourné distal du néphron. (Oudart, 2005) L'angiotensine II induit aussi la sécrétion de cortisol par la zone fasciculée du cortex surrénalien, facilitant alors la réabsorption de sodium au niveau du tubule contourné distal rénal. (Lees & al., 1993) La synthèse par les

noyaux magno-cellulaires de l'hypothalamus et la sécrétion par la neurohypophyse de l'hormone anti-diurétique seraient aussi activées par l'angiotensine II, augmentant alors la perméabilité de l'eau à l'épithélium tubulaire. (Oudart, 2005) Enfin, l'angiotensine II pourrait directement stimuler la soif et l'appétit pour le sel en agissant au niveau de l'organe subfornical du cerveau, tout en stimulant une absorption intestinale d'eau et de sels. (Levens, 1985 ; Culman & al., 2002)

L'angiotensine II pourrait modifier la fonction cardiaque. En effet, ce peptide démontre des effets directs inotropes et chronotropes positifs. (Lees & al., 1993) La médullosurrénale est aussi stimulée par ce peptide, induisant en effet la sécrétion de catécholamines. (Saxena, 1992) Ces dernières augmenteraient alors la force et la fréquence de contractions cardiaques, induiraient la vasoconstriction et faciliteraient la réabsorption rénale de sodium. Ces différents événements augmenteraient ainsi le débit cardiaque tout en augmentant la pression sanguine.

Le système rénine-angiotensine serait sous le contrôle de différentes boucles de rétroaction, dont les principales sont les suivantes. L'angiotensine II peut en effet stabiliser le messager de l'angiotensinogène hépatique (Klett & al., 1990) et activer directement le système nerveux autonome sympathique. Ce dernier pourrait alors amplifier la sécrétion et les effets de ce vasopeptide. (Saxena, 1992) L'angiotensine II peut par contre inhiber l'expression et la

sécrétion de la rénine au niveau des cellules juxtaglomérulaires (Johns & al., 1990), tout en inhibant l'expression de l'enzyme de conversion de l'angiotensine pulmonaire. (Schunkert & al., 1993)

Le système rénine-angiotensine présenterait aussi diverses autres fonctions non nécessairement associées à la régulation de la pression sanguine. Ce système pourrait en effet activer la glycolyse hépatique, stimuler l'agrégation plaquettaire, améliorer les mécanismes associés à l'apprentissage et la mémoire, et pourrait démontrer des propriétés proinflammatoires et athérogéniques (Re, 2004). Au niveau cellulaire, l'angiotensine II pourrait aussi activer la prolifération, induire l'apoptose, stimuler la synthèse de collagène et altérer la conductivité intercellulaire. (Re, 2004)

1.4.1.5 Récepteurs de l'angiotensine II

L'angiotensine II exerce divers effets biologiques via la liaison à des récepteurs cellulaires différents. Deux sous-types principaux, AT1 et AT2, furent démontrées après le développement des antagonistes non-peptidiques Losartan et PD123177. (Chiu & al., 1989 ; Whitebread & al., 1989) Ces récepteurs furent subséquentement caractérisés par isolation de l'ADNc, clonage, expression et séquençage des produits protéiques résultants. (de Gasparo & al., 2000) Les angiotensines II et III lieraient en effet les récepteurs AT1 et AT2, avec l'angiotensine II démontrant une affinité particulière pour le

récepteur AT1. (de Gasparo & al., 2000) L'existence du récepteur AT3 et du récepteur du métabolite angiotensine-(1-7) seraient aujourd'hui postulés et soutenus par des études d'affinité et de sélectivité de liaison et des études de transduction. (de Gasparo & al., 2000) La présence d'un récepteur AT4 serait supportée à l'aide de critères pharmacologiques, réfutés par les récentes études de Albiston & al. identifiant ce récepteur comme étant la protéine IRAP, aminopeptidase membranaire sous la régulation de l'insuline. (Albiston & al., 2001) Il a été postulé que les angiotensines III et IV démontreraient une affinité élevée pour ce récepteur AT4. (de Gasparo & al., 2000)

Le récepteur AT1 est associé aux principales fonctions cardiovasculaires du système rénine-angiotensine. Ce récepteur est en effet directement responsable de la régulation de la pression sanguine et du maintien de l'homéostasie via les différents mécanismes présentés précédemment. (de Gasparo & al., 2000) Le récepteur AT1 est aussi associé à la croissance et la prolifération cellulaire. Celui-ci peut ainsi jouer un rôle dans l'hypertrophie cardiaque et vasculaire. (Chung & al., 1996)

Le récepteur AT1 est membre de la famille des récepteurs à sept domaines transmembranaires couplés à une protéine G. Cette glycoprotéine, démontrant un poids moléculaire théorique de 41kDa, présente trois résidus asparagine pouvant se faire glycosyler. (Lanctot & al., 1999 ; Jayadev & al., 1999 ; Deslauriers & al., 1999) Le niveau de N-glycosylation en résultant

varierait en fonction du tissu et de l'espèce animale. Le poids moléculaire apparent en serait ainsi grandement affecté. (Lanctot & al., 1999 ; Jayadev & al., 1999 ; Deslauriers & al., 1999) Contrairement à l'humain, les rongeurs exprimeraient deux sous-types du récepteur AT1 (AT1A et AT1B), démontrant chacun 96% d'homologie. (de Gasparo & al., 2000) Dans tous les cas, le récepteur AT1 serait fortement exprimé au niveau des surrénales, du rein, du coeur, de l'aorte, du poumon, du foie, des testicules, de l'hypophyse et du cerveau. (de Gasparo & al., 2000) L'expression de ce récepteur serait alors sous le contrôle de différents médiateurs, dont les glucocorticoïdes, les mineralocorticoïdes, l'estradiol, l'insuline, l'IGF-1 et le NO. (de Gasparo & al., 2000)

Le récepteur AT1 activerait diverses cascades de signalisation intracellulaire. Les voies principales seront brièvement présentées. Les voies de signalisation débutant par l'activation des protéines Gq/11 et/ou G12/13 seraient bien définies. Celles-ci seraient caractérisées par une activation des phospholipidases C bêta et gamma, une production de diacylglycérol et d'inositol triphosphate, permettant alors une mobilisation de calcium et une activation de différentes protéines kinases, dont PKC et CAMKII. (Touyz & al., 2002) L'activation de la protéine Gi par AT1 résulterait plutôt en une diminution de production d'adénosine monophosphate cyclique intracellulaire et une inhibition de protéines kinases spécifiques. (Touyz & al., 2002) Ces deux dernières voies de signalisation réguleraient ainsi les fonctions de

contraction, prolifération et différenciation cellulaire associées au récepteur AT1. (Touyz & al., 2002) L'activation parallèle de petites protéines G par AT1 induirait l'activation de Raf et de la voie des sérines/thréonines kinases, contrôlant alors la transcription génique via l'expression des gènes de réponses précoces c-fos, c-jun et c-myc. (Touyz & al., 2002) Le récepteur AT1 activerait aussi les voies tyrosines kinases Src et JAK-STAT, ceci indépendamment de l'activation de protéines G. Ces voies seraient responsables des mêmes fonctions cellulaires ci-dessus présentées. (Touyz & al., 2002) Enfin, AT1 induirait aussi l'autophosphorylation de FAK, permettant alors la translocation et phosphorylation des protéines paxilline et taline, contrôlant ainsi la morphologie et la migration cellulaire. (Touyz & al., 2002)

Le récepteur AT2 est aussi un récepteur à sept domaines transmembranaires couplé à une protéine G. Celui-ci démontrerait 32% d'homologie avec le récepteur AT1. (de Gasparo & al., 2000) À l'opposé de ce dernier, le récepteur AT2 serait exprimé ubiquitairement de façon abondante lors du développement embryonnaire et diminuerait rapidement en post-partum. (de Gasparo & al., 2000) Dans certains tissus, dont les surrénales, le cœur, le cerveau et le myomètre utérin, l'expression persisterait à l'âge adulte. (de Gasparo & al., 2000) Tout comme le récepteur AT1, différents facteurs intra- et extracellulaires réguleraient l'expression d'AT2. Ainsi, l'angiotensine II, l'IGF-1 et les oestrogènes induiraient l'expression de

ce récepteur, tandis que l'aldostérone, le bFGF, le TGF- β et l'AMPc en diminueraient la synthèse. (Li & al., 1999 ; Gallinat & al., 2000)

Les cascades de signalisation et les effets physiologiques associés au récepteur AT2 ne seraient pas encore bien définis. Au niveau du coeur, AT2 démontreraient des fonctions contradictoires, jouant ainsi un rôle protecteur au niveau du myocarde (Adachi & al., 2003) et prévenant la fibrose périvasculaire (Kurisu & al., 2003), tout en étant impliqué dans le développement d'hypertrophie cardiaque (Senbonmatsu & al., 2000 ; Ichihara & al., 2001) et de cardiomyopathie dilatée. (Yan & al., 2003) Au niveau central, le récepteur AT2 serait impliqué dans le développement du cerveau et des fonctions cognitives. (Li & al., 2003) Ce récepteur serait aussi impliqué dans la régulation du comportement exploratoire (Ichiki & al., 1995) et du seuil de la douleur. (Sakagawa & al., 2000) L'expression du récepteur AT2 serait augmentée lors de lésions cardiovasculaires, d'insuffisance rénale et de régénération tissulaire, lui conférant ainsi un possible rôle dans le développement et le remodelage tissulaire. (Gallinat & al., 2000)

Au niveau cellulaire, le récepteur AT2 s'opposerait aux effets du récepteur AT1. AT2 activerait en effet de nombreuses phosphatases cellulaires comme MKP-1 et PP2A via l'activation d'une protéine Gi. Ces dernières permettraient alors l'hyperpolarisation cellulaire secondaire à l'inhibition de canaux calciques et l'augmentation de courant potassiques (Gallinat & al.,

2000 ; Nouet & al., 2000). Ces phosphatases permettraient aussi l'inhibition de la voie des sérines/thréonines kinases et de la prolifération cellulaire. (Gallinat & al., 2000 ; Nouet & al., 2000) Le récepteur AT2 serait associé à la modulation de voies de signalisation lipidiques. Celui-ci augmenterait en effet l'activité de la phospholipidase A2, modifiant alors les eicosanoïdes cellulaires et l'importance de courants potassiques. (Gallinat & al., 2000 ; Nouet & al., 2000) AT2 serait aussi impliqué dans l'induction de l'apoptose, ceci par augmentation des concentrations intracellulaires en céramides, inactivation de Bcl-2 anti-apoptotique et activation de Bax pro-apoptotique. (Gallinat & al., 2000 ; Nouet & al., 2000) Le récepteur AT2 pourrait augmenter la libération de bradykinine, NO et GMPc, impliquant alors ce récepteur dans la vasodilatation et la natriurèse. (Gallinat & al., 2000 ; Nouet & al., 2000) AT2 inhiberait les effets du récepteur AT1 par d'autres mécanismes que la modification de cascade de transduction cellulaire. Ce récepteur pourrait en effet inhiber directement AT1 par hétérodimérisation avec celui-ci (AbdAlla & al., 2001) et par diminution de l'expression de ce dernier. (Su & al., 2002)

1.4.2 Système rénine-angiotensine pulmonaire

Les différentes composantes du système rénine-angiotensine, telles la rénine, l'angiotensinogène et les récepteurs de l'angiotensine II, seraient exprimées au niveau de multiples tissus. (Field & al., 1984 ; Campbell & al.,

1986 ; Deschepper & al., 1986) La présence d'un système rénine-angiotensine locale démontrant une activité autocrine et paracrine serait en effet un fait aujourd'hui accepté par la communauté scientifique. (Re, 2004) Il est par contre difficile de discerner les fonctions spécifiques associées à un tel système tissulaire. (Re, 2004) Les effets de l'angiotensine II systémique et locale seraient en effet sensiblement les mêmes. Étant donné le rôle de ce peptide dans l'activation de cellules mésenchymateuses, la production local d'angiotensine II pourrait contribuer aux processus de régénération et de remodelage tissulaire. (Weber, 1997) Ce système pourrait ainsi contribuer aux effets physiologiques du système rénine-angiotensine systémique et au développement de processus pathologiques tels l'hypertrophie cardiaque et vasculaire. Différents arguments confirmeraient la présence et l'importance fonctionnelle d'un tel système rénine-angiotensine tissulaire, dont la possibilité de captation tissulaire de la rénine circulante, l'existence de voies alternatives rénine- et/ou ECA- indépendantes, la détection tissulaire d'un système rénine-angiotensine en présence d'une barrière hémato-tissulaire, la présence au niveau tissulaire de mécanismes de régulation indépendants, l'observation de niveaux d'angiotensine II supérieurs aux valeurs théoriques considérant la vitesse de synthèse et de dégradation de ce peptide, la détection d'angiotensine II tissulaire à des concentrations supérieures à celles au niveau plasmatique et l'observation d'effets bénéfiques secondaires à l'utilisation d'un inhibiteur de ECA ou d'un antagoniste de récepteurs de l'angiotensine II non-associés à

l'activité du système rénine-angiotensine systémique. (Danser, 2003 ; Re, 2004)

Jusqu'à récemment, aucune étude n'a examiné l'existence d'un système rénine-angiotensine pulmonaire. La génération pulmonaire d'angiotensine II ne pouvait être qu'indirectement supposée. (Marshall, 2003) Pourtant, de nombreux groupes de recherche ont démontré le rôle des diverses composantes du système rénine-angiotensine dans la pathogenèse de différentes maladies pulmonaires.

La présence d'angiotensine II et de ses précurseurs fut démontrée dans le poumon et cet organe serait le site de synthèse primaire de ce vaso-peptide. Des concentrations élevées d'angiotensine II sont en effet détectées au niveau de poumons de rats non-pathologiques. (Campbell & al., 1995) Ces niveaux sont de plus augmentés de plusieurs fois lors de fibrose pulmonaire secondaire à l'irradiation ou suivant un traitement à la bléomycine. (Song & al., 1998 ; Marshall & al., 2004) La synthèse locale de ce peptide nécessiterait donc la présence des différentes composantes du système rénine-angiotensine dans les poumons, ces derniers pouvant être à leur tour associés au développement de maladies pulmonaires.

L'angiotensinogène est exprimé au niveau pulmonaire. L'expression de ce peptide démontrerait une régulation indépendante. Campbell a en effet

démontré qu'en condition physiologique, les niveaux pulmonaires de messagers codants l'angiotensinogène seraient proche de la limite de détection. (Campbell & al., 1986) Suivant un traitement au dexaméthasone, à l'éthynylestradiol ou à la triiodothyronine, l'expression de ce précurseur serait augmentée *in vivo* et le messenger pourrait alors être détecté par hybridation *in situ* au niveau de tissus adipeux brun de l'hile pulmonaire et de cellules à propriétés fibroblastiques périsvasculaires et péribronchiques. L'angiotensinogène ne serait par contre pas exprimé au niveau du parenchyme, des bronches et des vaisseaux pulmonaires. (Campbell & al., 1986 ; Campbell & al., 1989) Récemment, le groupe de recherche de Uhal a démontré que des cultures primaires de pneumocytes de type II de rat exprimeraient aussi l'angiotensinogène, ceci suivant induction au TNF- α ou à la bléomycine. Ce phénomène pourrait alors être impliqué dans la pathogenèse de la fibrose pulmonaire. (Wang & al., 2000 ; Li & al., 2003)

La rénine est exprimée à de très faibles niveaux dans les poumons. (Samani & al., 1987 ; Phillips & al., 1993) Chez les souris DBA/2, un faible signal est en effet détecté, démontrant l'expression seule du gène Ren-1 avec absence d'expression du gène Ren-2. Étant donné cette faible expression, les auteurs de cette étude déclarèrent même qu'il serait impossible de vérifier la source cellulaire de cette enzyme. (Ekker & al., 1989) Les niveaux de rénine sont seulement augmentés au niveau pulmonaire lors du développement foetal, démontrant alors une immunoréactivité au niveau de vaisseaux

mésenchymateux (Taylor & al., 1988), ou lors de certaines conditions pathologiques, telles l'hypertension maligne secondaire à un leiomyosarcome ou un carcinome pulmonaire. (Genest & al., 1975 ; Kawai & al., 1991) La synthèse d'angiotensine II pulmonaire pourrait alors dépendre de l'activité enzymatique de voies alternatives locales. L'expression de la cathepsine D peut par exemple être détectée par immunohistochimie et immunofluorescence au niveau de macrophages alvéolaires, de cellules épithéliales bronchiques et de pneumocytes de type I/II. (Kasper & al., 1996) La cathepsine D épithéliale peut synthétiser l'angiotensine II directement à partir de l'angiotensinogène *in vitro* (Li & al., 2004), lui conférant alors un possible rôle dans les processus de remodelage pulmonaire lors de la fibrogenèse. (Kasper & al., 1996 ; Li & al., 2004)

L'enzyme de conversion de l'angiotensine est exprimée de façon prédominante au niveau de l'endothélium vasculaire de la circulation pulmonaire. Celle-ci est en effet principalement responsable de la conversion systémique de l'angiotensine I en angiotensine II. (Oparil & al., 1971) L'expression de cette enzyme est aussi retrouvée au niveau de cellules épithéliales bronchiques (Muns & al., 1993 ; Takimoto & al., 1999) et de macrophages alvéolaires, ces derniers étant impliqués dans la pathogenèse de la maladie interstitielle pulmonaire diffuse. (Perez-Arellano & al., 1996) Une augmentation en concentration d'enzyme de conversion de l'angiotensine au niveau du liquide de lavage bronchoalvéolaire et/ou plasmatique est en effet

décrite dans plusieurs maladies pulmonaires humaines, dont la fibrose idiopathique pulmonaire (Specks & al., 1990), le syndrome de détresse respiratoire aigu (Idell & al., 1987), l'amiantose (Gronhagen-Riska & al., 1978), la silicose (Gronhagen-Riska & al., 1978) et la sarcoïdose (Lieberman, 1975 ; Perrin-Fayolle & al., 1981 ; Mordelet-Dambrine & al., 1982). Dans ce dernier cas, l'enzyme de conversion dérivée de macrophages alvéolaires contribuerait spécifiquement à l'ECA plasmatique et semblerait corrélérer avec la perméabilité endothéliale. (Eklund & al., 1986)

Entzeroth & al. furent les premiers à démontrer l'expression spécifique du récepteur AT1 au niveau pulmonaire. (Entzeroth & al., 1991) Ce récepteur serait en effet la forme prédominante dans le poumon de rat. (Entzeroth & al., 1991 ; Cassis & al., 1997) Contrairement au récepteur AT2, exprimé transitoirement au niveau de la trachée et des bronches et non au niveau du parenchyme lors du développement foetal (Shanmugam & al., 1996), AT1 est détectable de façon permanente au niveau pulmonaire. (Gasc & al., 1994 ; Llorens-Cortes & al., 1994) Le groupe de Gasparo a étudié la localisation cellulaire des récepteurs de l'angiotensine II dans le poumon adulte humain. Le récepteur AT1 est ainsi retrouvé au niveau de cellules interstitielles pulmonaires, de cellules musculaires lisses vasculaires et de macrophages alvéolaires, mais non au niveau de l'épithélium alvéolaire. (Bullock & al., 2001) Le récepteur AT2 est plutôt amplement exprimé au niveau de la bordure en brosse de petites voies respiratoires, mais aussi de

façon moins importante au niveau de cellules endothéliales vasculaires, de fibroblastes pulmonaires, de chondrocytes, de macrophages et de glandes à sécrétions muqueuses. (Bullock & al., 2001) AT1 pourrait ainsi être responsable du contrôle de la perfusion et de la résistance pulmonaire, tandis que le récepteur AT2 serait associé aux glandes de sécrétions et pourrait jouer un rôle dans le dégagement des voies respiratoires. (Bullock & al., 2001) Ces récepteurs pourraient alors être impliqués dans la pathogenèse de différentes maladies. Lors de broncho-pneumopathie chronique obstructive, le ratio d'expression AT1/AT2 est augmenté par exemple de cinq à six fois dans les régions marquées de fibrose, corrélant alors avec la diminution des fonctions pulmonaires. (Bullock & al., 2001) De même, dans un modèle de fibrose pulmonaire induite à la bléomycine, le récepteur AT1 est aussi surexprimé au niveau de cellules inflammatoires, de pneumocytes de type II et de fibroblastes interstitiels. (Otsuka & al., 2004)

Comme il peut en être déduit des différents exemples présentés ci-dessus, l'activation d'un système rénine-angiotensine pulmonaire pourrait influencer le développement de processus pathologiques locaux. Ceci se présenterait alors sous forme de trois mécanismes cellulaires principaux. L'angiotensine II, vasoconstricteur puissant produit localement au niveau de l'endothélium pulmonaire, pourrait modifier le tonus vasculaire. Ce peptide peut induire l'influx de calcium et la contraction de cellules musculaires lisses vasculaires, tout en stimulant l'hypertrophie et en augmentant leur capacité de

synthèse matricielle. (Koibuchi & al., 1993 ; Itoh & al., 1993 ; Ford & al., 1999 ; Morrell & al., 1999 ; Touyz & al., 2001) L'angiotensine II pourrait ainsi jouer un rôle par exemple dans la pathogenèse précoce de l'hypertension pulmonaire secondaire à l'hypoxie. Une augmentation transitoire des récepteurs de l'angiotensine II a en effet été rapportée durant le développement et la régression de cette condition. (Chassagne & al., 2000) De même, ECA est surexprimée au niveau de la paroi de petites artères nouvellement muscularisées. (Morrell & al., 1995) En concordance avec ces résultats, l'utilisation d'inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine ou d'antagonistes du récepteur AT1 inhiberait le développement d'hypertension pulmonaire secondaire à l'hypoxie et le remodelage vasculaire associé. (Morrell & al., 1995 ; Zhao & al., 1996)

L'atteinte de l'épithélium alvéolaire serait une conséquence précoce de l'endommagement pulmonaire. Le système rénine-angiotensine pulmonaire jouerait un rôle central dans l'induction de processus apoptotiques au niveau des cellules épithéliales alvéolaires. (Wang & al., 1999 ; Wang & al., 1999b ; Wang & al., 1999c) *In vitro*, l'angiotensine II induit en effet dans ces cellules l'apoptose de façon dose-dépendante. (Wang & al., 1999c) L'activation du récepteur pro-apoptotique Fas des cellules épithéliales alvéolaires résulterait de plus en l'expression de l'angiotensinogène et la sécrétion augmentée d'angiotensine II. (Wang & al., 1999b) L'apoptose résultante pourrait par contre être inhibée par utilisation de l'inhibiteur de l'enzyme de conversion de

l'angiotensine lisinopril ou par expression d'oligonucléotides anti-sens dirigés contre le messenger de l'angiotensinogène. (Wang & al., 1999b) De même, l'apoptose épithéliale secondaire au traitement à l'agent fibrogénique bléomycine serait inhibée par l'utilisation de losartan, antagoniste spécifique du récepteur AT1. (Li & al., 2003) L'atteinte épithéliale secondaire à la génération *de novo* d'angiotensine II se présenterait ainsi comme un second mécanisme d'endommagement pulmonaire.

Le système rénine-angiotensine pulmonaire pourrait enfin moduler directement l'activité des fibroblastes interstitiels. L'angiotensine II stimulerait *in vitro* la prolifération cellulaire et la synthèse de procollagène dans les fibroblastes pulmonaires foetaux et adultes humains. (Marshall & al., 2000) Ces événements cellulaires surviendraient suite à l'activation par le récepteur AT1 et impliquerait l'activité autocrine du facteur de croissance TGF- β . (Marshall & al., 2000) Dans un modèle de fibrose pulmonaire induite à la bléomycine, la quantité de collagènes fibrillaires au niveau pulmonaire serait augmentée, ceci suivant l'augmentation locale d'angiotensine II. (Marshall & al., 2004) De même, l'expression pulmonaire de l'enzyme de conversion de l'angiotensine, du récepteur AT1 et du facteur TGF- β seraient parallèlement augmentées. (Marshall, 2003 ; Marshall & al., 2004 ; Otsuka & al., 2004) Ces phénomènes ne seraient pas observables suivant l'utilisation d'un antagoniste du récepteur AT1 et/ou d'un inhibiteur de ECA . (Marshall, 2003 ; Marshall & al., 2004 ; Otsuka & al., 2004) En tenant compte de

l'observation que les fibroblastes isolés de poumons de patients souffrant de fibrose idiopathique pulmonaire pourraient générer de l'angiotensine II *de novo* (Wang & al., 1999), ce peptide synthétisée localement pourrait ainsi jouer un rôle dans la réponse fibrotique suivant l'endommagement pulmonaire.

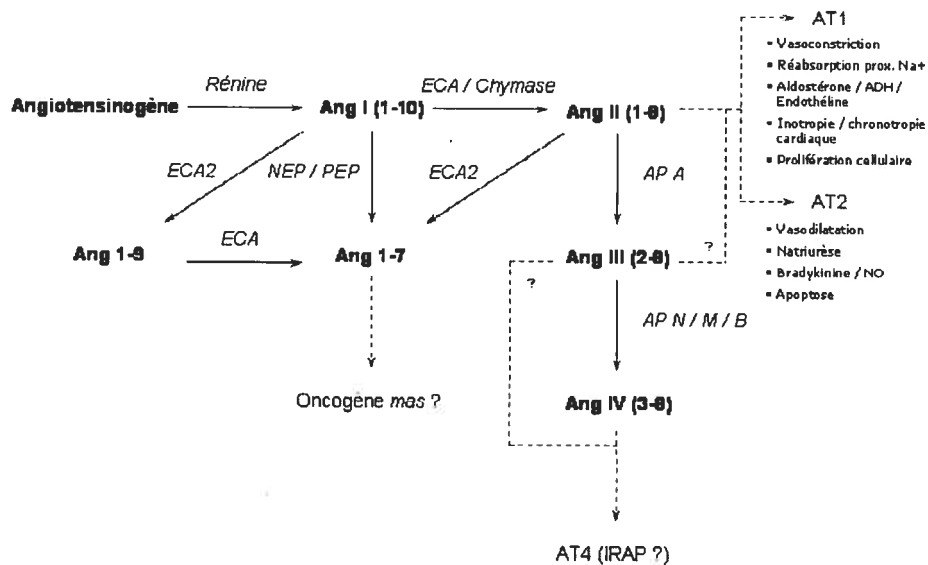


Figure 1 *Le Système Rénine-Angiotensine*

Ang, angiotensine ; AP, aminopeptidase ; AT, récepteur de l'angiotensine ; ECA, enzyme de conversion de l'angiotensine ; IRAP, aminopeptidase régulée par l'insuline ; NEP, endopeptidase neutre ; PEP, endopeptidase prolyl.

(Reudelhuber, 2005 ; de Gasparo & al., 2000)

2 HYPOTHÈSE ET OBJECTIFS

2.1 Hypothèse

- Le système rénine-angiotensine pulmonaire est activé dans l'insuffisance cardiaque et pourrait contribuer au remodelage pulmonaire associé à cette condition

2.2 Objectifs

- Déterminer les concentrations pulmonaires d'angiotensine II post-infarctus
- Évaluer l'expression et la localisation des récepteurs de l'angiotensine II au niveau du tissu pulmonaire post-infarctus
- Déterminer l'impact fonctionnel d'une augmentation isolée des concentrations plasmatiques d'angiotensine II au niveau pulmonaire

3 RÉSULTATS

Les résultats de ce mémoire seront présentés sous forme d'article scientifique tel que soumis pour publication scientifique.

**Activation of the Pulmonary Renin-angiotensin System
and Lung Structural Remodelling
in Congestive Heart Failure**

**Frederic Lefebvre, Angelino Calderone, PhD; Alexandre Caron, MSc;
Jean-François Jasmin, PhD; Louis Villeneuve, MSc; and
Jocelyn Dupuis, MD, PhD**

From the Department of Medicine, Montreal Heart Institute and Department of Physiology, University of Montreal, Montreal, Quebec, Canada

Correspondence to: Jocelyn Dupuis, MD, PhD Department of Medicine, Montreal Heart Institute, 5000 Belanger Street, Montreal, Quebec HIT 1C8, Canada

Tel: 514-376-3330 ext. 3542; Fax: 514-376-1355; E-mail address:

[REDACTED]
This work was performed at Montreal Heart Institute and University of Montreal, Montreal, Quebec, Canada.

This work was supported by the Canadian Institutes for Health Research and the "Fondation de l'Institut de Cardiologie de Montreal". Drs Jocelyn Dupuis and Angelino Calderone are senior scholars from the "Fonds de la Recherche en Santé du Québec".

ABSTRACT

Introduction: Lung structural remodelling, characterized by myofibroblast proliferation and collagen deposition, contributes to impaired functional capacity in congestive heart failure (CHF). The lung being a primary site for the formation of angiotensin II, local activation of this system could contribute to lung remodelling.

Methods and Results: Rats with CHF induced by two weeks coronary artery ligation were compared to sham operated controls. The CHF group developed lung remodelling confirmed by morphometric measurements and immunohistochemistry. Pulmonary angiotensin II concentrations increased more than six-fold ($p < 0.01$, $n= 6$) and AT1 receptors expression was elevated three-fold ($p < 0.01$, $n= 7$) with evidence of distribution in myofibroblasts. AT2 receptors as well as TGF- β expressions were unchanged. In normal rats, chronic 28 days intravenous infusion of angiotensin II (0.5 mg/kg/d) increased mean arterial pressure ($p < 0.05$, $n= 9$), without pulmonary hypertension nor lung remodelling or change in AT1 receptor expression.

Conclusion: There is activation of the pulmonary renin-angiotensin system in CHF with increased angiotensin II levels and AT1 receptor expressed on myofibroblasts. Although this may contribute to lung remodelling, the lack of effect of higher plasma angiotensin II levels alone suggest the importance of local pulmonary activation combined with the effect of other factors activated in CHF.

KEY WORDS

Pulmonary circulation; congestive heart failure; pulmonary hypertension;
pulmonary fibrosis; angiotensin enzyme inhibitor

ABBREVIATIONS LIST

Ang II = angiotensin II

ACE = angiotensin converting enzyme

ARB = angiotensin II receptor blocker

CHF = congestive heart failure

DIC = differential interference contrast

HPS = hematoxylin phloxin safran

LV = left ventricle

MI = myocardial infarction

MLE = maximum likelihood estimation

NDS = normal donkey serum

PBS = phosphate buffered saline

PH = pulmonary hypertension

RV = right ventricle

RVH = right ventricular hypertension

RVSP = right ventricular systolic pressure

INTRODUCTION

Congestive heart failure (CHF) can lead to pulmonary venous hypertension. The subsequent pulmonary manifestations of CHF can substantially contribute to the functional limitation of affected subjects by reducing lung volumes and compliance as well as lung diffusing capacity.¹ Morphological modifications of both the pulmonary circulation (vascular remodelling) and the alveolar walls (structural remodelling) can contribute to these changes. Our laboratory has previously demonstrated important pulmonary structural remodelling following myocardial infarction in a rat model.² Two weeks after myocardial infarction, this structural remodelling of the lungs is characterized by abundant proliferation of myofibroblasts with excess collagen and reticulin deposition in the alveolar septa. Kingsbury et al. have reported similar results in a guinea pig model of CHF by banding of the ascending aorta, demonstrating a wider interstitium with thickening of both the alveolar and capillary basal lamina, also characterized by myofibroblastic infiltration.³

This phenomenon is not restricted to rodent models. In human post-capillary pulmonary hypertension (PH), Kapanci et al. previously demonstrated alveolar septal proliferation of myofibroblast, non-observable in precapillary pulmonary hypertension (PH).⁴ They hypothesized that mechanical stretch due to chronic capillary congestion might be responsible for

this specific cellular proliferation.⁴ By acting as a functional barrier, pulmonary structural remodelling could reduce capillary permeability and thus prevent the risk of pulmonary oedema associated with CHF. Alveolar septa thickening is however also likely responsible for the impaired pulmonary gas diffusion capacity seen in subjects with CHF, both at rest and during exercise.^{5,6}

The pathophysiologic determinants leading to lung structural remodelling and myofibroblastic proliferation in CHF have not been studied. We hypothesized that the renin-angiotensin system, a hallmark of the neurohumoral activation found in CHF, could substantially contribute to lung myofibroblast proliferation. The lungs being the primary site for angiotensin-converting enzyme activity may possibly provide for increased local concentration of angiotensin II (Ang II) that could in turn promote myofibroblastic proliferation. The objectives of this study were therefore to determine lung Ang II tissue levels as well as the expression of Ang II receptors in lung tissue and lung myofibroblasts from CHF rats. Additionally, to determine the functional importance of isolated increased Ang II plasma levels on pulmonary pressure and lung structural remodelling, we evaluated the effects of chronic infusion of Ang II using osmotic mini-pumps.

MATERIALS AND METHODS

The study protocol was approved by the animal ethics and research committee of the Montreal Heart Institute and conducted according to guidelines from the Canadian council for the care of laboratory animals.

Myocardial Infarction

Myocardial infarction (MI) was induced in male Wistar rats (Charles River) weighing between 200 to 250 g as previously described in details.⁷ The Sham group was subjected to the same procedure except for the ligation of the coronary artery. Animals were studied 2 weeks following the surgical procedure. Only the animals demonstrating significant PH, as defined by a right ventricular systolic pressure (RVSP) superior to 40 mm Hg at time of sacrifice, were used in this study.

Chronic Pulmonary Angiotensin II Infusion

Rats were anesthetized with halothane, the left jugular vein was exposed and a subcutaneous pouch was formed. A polyethylene catheter connected to a mini-osmotic pump (Alzet, Cupertino, CA, USA) was inserted and tied in place to the jugular vein. Control animals were subjected to the same procedure except for the insertion of the pumps. The mini-osmotic pump delivered an aqueous solution of Ang II (Sigma, St. Louis, MO, USA) at a rate of 0.5 mg/kg/day for a period of 28 days.

In Vivo Hemodynamic Measurements

After anesthesia with xylazine (10 mg/kg) and ketamine (50 mg/kg), the right jugular vein and carotid artery were isolated, incised and high fidelity pressure catheters (Millar Instruments) were advanced in the right and left ventricles (RV and LV). RV and LV pressures were measured and recorded using a polygraph (Gould TA 4000).

Morphometric Measurements

Right lung and heart were removed and dissected. Right ventricular hypertension (RVH) was assessed by the RV/total heart weights ratio. Afterwards, the right lower lobe wet lung weight was immediately measured and the lobe was put aside to dry. Lung weight was evaluated daily to determine dry lung weight, usually attained after 72 h. The presence of pulmonary edema was evaluated by measuring the ratio of dry/wet lung weights. For MI rats, the LV scar was dissected and weighed and its surface area determined by planimetry.

Plasma and Pulmonary Angiotensin II Concentrations

Samples were purified on Sep-Pak C₁₈ columns (Waters, Milford, MA, USA). Briefly, 150 mg lung sample was homogenized in cold 4M Guanidine Thiocyanate and 1% TFA. Plasma samples were put directly onto columns without any processing. After activation of column with MeOH

100%, samples were loaded and extracted with EtOH 90% following repeated washing with nanopure water. Samples were then evaporated on speedvac overnight at 56°C. Ang II levels were determined by ELISA according to the manufacturer's instructions (SPI-BIO, Massy Cedex, France). The assay had a limit of detection of 2 pg/ml and a cross-reactivity with Ang II of 100%, angiotensin I of 4%, angiotensin III of 36%, angiotensin 3-8 of 33% and angiotensin 1-7 of less than 0.01%. Tissue protein content was determined with the Bio-Rad Protein Assay (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA).

Light Microscopy

A barium-gelatin mixture (60°C) was perfused in the left pulmonary artery at a pressure of 50 cm H₂O for 2 min. This was followed by perfusion of the airways with formaline fixative solution (Sigma) at a pressure of 36 cm H₂O for 2 min. The lung was immersed *in toto* in formaline for 24 to 48 h. Three transverse sections at three different levels were obtained and embedded with paraffin. Sections of 5 µm were cut for staining with Hematoxylin Phloxin Safran (HPS).

Immunofluorescence Confocal Analyses

Lung transverse sections were obtained and embedded with paraffin. Paraffin from 4 µm thick sections was removed with xylene and these sections were rehydrated with graded alcohol to water. A boiling citrate buffer (0.01M, pH; 6.0) was then used for an antigen retrieval method and the sections were

blocked with 2% normal donkey serum (NDS) in 0.5% triton X-100 for 1 hour. Double labeling with an α -smooth muscle actin mouse monoclonal antibody (1:200) (Sigma) and either an Ang II type I receptor rabbit polyclonal antibody (1:200) (Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, USA) or an Ang II type II receptor goat polyclonal antibody (1:200) (Santa Cruz Biotechnology) diluted in 1% NDS 0.1% triton X-100 was performed. The antibodies were applied and incubated overnight at 4°C. After washes in phosphate buffered saline (PBS), the sections were incubated for 1 hour at room temperature with an Alexa647 anti-mouse (donkey) antibody (1:600) (Molecular Probes, Eugene, OR, USA) and either an Alexa555 anti-rabbit (donkey) antibody (1:600) (Molecular Probes) or an Alexa546 anti-goat (donkey) antibody (1:600) (Molecular Probes) diluted in 1% NDS 0.1% triton X-100. Counterstaining with propidium iodide 500 nM (Calbiochem, San Diego, CA, USA) for 5 min was performed following RNase A 1 μ M incubation for 30 min at 37°C. After lavage, the sections were mounted in 1,4 diazabicyclo (2.2.2) octane (DABCO, Sigma) 0.2% diluted in glycerol (1 in 5) and examined with a Zeiss Axiovert 100M microscope equipped with the LSM 510 confocal imaging system (Zeiss, Oberkochen, Germany). To determine nonspecific binding, control experiments with secondary antibody without primary antibody were also performed.

Images were collected with a Plan-Apochromat 63x/1.4 oil differential interference contrast (DIC) objective (Zeiss). HeNe1 (543 nm) and

HeNe2 (633 nm) lasers were used for excitation of the anti-rabbit Alexa 555 and anti-mouse Alexa 647 antibody, respectively. Propidium iodide was visualized using the Argon (488 nm) laser. Z stacks of each tissue were performed, and images were taken at every 0.16 μm (top to bottom) to respect the Nyquist criteria in Z-sampling. The Z stacks were then deconvolved using the Maximum Likelihood Estimation (MLE) algorithm of the Huygens Pro software (version 2.6.2; Scientific Volume Imaging, Alexanderlaan, The Netherlands) running on a AZ-10 computer (Azuris Canada, Montreal, Quebec, Canada). The deconvolutions were processed using point spread functions (PSFs) derived from 15 latex fluorescent beads of 170 nm in diameter (Molecular Probes, Eugene, OR, USA). Transparent projections (in face view) were applied to each Z stack using the projection tool of the LSM 510 software.

Western Blot Analysis

Western blot analysis was performed as previously described.⁸ Briefly, lungs from sham and MI rats were homogenized in a buffer containing 20 mM Hepes, 5 mM EDTA, 5 mM EGTA, 20 mM NaF, 20 mM β -glycerol-phosphate, 0.5 mM phenylmethylsulfonyl fluoride and 1 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ of leupeptin and aprotinin. The homogenate was then centrifuged and the resulting supernatant was quantified for protein content with the Bio-Rad Protein Assay (Bio-Rad Laboratories). Following overnight acetone precipitation, 50 μg of pulmonary lysate was subjected to SDS-polyacrylamide gel (10%)

electrophoresis and was then transferred to polynimylidene difluoride membrane (PerkinElmer Life Sciences, Boston, MA, USA). Equal loading of the samples was confirmed by Ponceau 0.2x staining. Membranes were blocked in PBS-T (137 mM NaCl, 2.70 mM KCl, 4.30 mM Na₂HPO₄, 1.40 mM KH₂PO₄, 0.1% Tween (v/v)) containing 5% skim milk for 1 hour at room temperature, and subsequently incubated overnight with PBS-T containing 5% bovine serum albumin at 4°C with either an AT1 rabbit polyclonal antibody (1:500) (Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, USA), AT2 goat polyclonal antibody (1:500) (Santa Cruz Biotechnology), or a TGF-β rabbit polyclonal antibody (1:1000) (Santa Cruz Biotechnology). After adequate washing with PBS-T, the membrane was reprobbed with an anti-rabbit or an anti-goat conjugated horseradish peroxidase antibody in PBS-T containing 5% skim milk (1:20,000) (Jackson ImmunoResearch Laboratories, West Grove, PA, USA) for 1 hour at room temperature. The membranes were once more washed with PBS-T, and the bands were subsequently detected by autoradiography utilizing the ECL™ enhanced chemiluminescence detection kit (Amersham Biosciences, Baie d'Urfe, Quebec, Canada).

Statistical Analysis

All values are expressed as mean ± SEM. Differences between groups were evaluated two-tailed Student t test. Statistical significance was assumed when $p < 0.05$.

RESULTS

Myocardial Infarction and Lung Structural Remodelling

Hemodynamic parameters are presented in Table 1. Two weeks after MI, rats developed CHF with a marked increase of LV end-diastolic pressure with concomitant important reductions in indices of LV contractility and relaxation. Infarcted animals also developed moderate PH with elevation of RV systolic pressure to 49.6 ± 2.0 mmHg ($p < 0.001$) and RV end-diastolic pressure to 5.9 ± 0.8 mmHg ($p < 0.05$). PH induced a significant rise in indices of RV contractility and relaxation.

Heart and lungs gravimetric parameters are also assembled in Table 1. As shown by the RV/total heart weights ratio, RV hypertrophy was induced in the MI group with a ratio of $25.82 \pm 1.12\%$ compared to $21.07 \pm 0.58\%$ in the sham group ($p < 0.05$). Pulmonary remodelling was confirmed and characterized in the two-week MI group. Gravimetric measurements revealed a significant 54% rise in wet lung weight in infarcted ($0.177 \pm 0.015\%$) as compared to sham animals ($0.115 \pm 0.007\%$). Relative dry lung weight similarly increased in the MI group ($0.035 \pm 0.002\%$) compared to the sham group ($0.023 \pm 0.001\%$). There was however no evidence of significant pulmonary edema with identical dry/wet lung weight ratio in both groups, demonstrating, with the hemodynamic parameters, the compensated state of these animals.

As previously demonstrated,² we confirmed microscopic evidence of lung structural remodelling after MI with thickening of the alveolar septa characterized by cellular proliferation and interstitial collagen deposition [Fig. 1]. Immunofluorescence labeling of the alpha-smooth muscle actin isoform and counterstaining of the nucleus with propidium iodide confirmed myofibroblasts proliferation (data not shown). None of these characteristics were observable in sham animals.

Angiotensin II Concentrations and AT1/AT2 Receptors Expression

Plasma and pulmonary Ang II concentrations are presented in [Fig. 2]. Arterial and venous Ang II concentrations respectively increased from 60.7 ± 9.1 and 65.1 ± 11.4 pg/ml in control animals to 114.7 ± 26.7 and 107.6 ± 28.2 pg/ml post-MI, these values however did not reach statistical significance. There was no significant arterio-venous Ang II gradient in both controls and MI rats. Pulmonary Ang II concentrations markedly augmented more than 6-fold post MI, reaching concentrations of 154.5 ± 49.0 pg/mg compared to 22.9 ± 2.4 pg/mg in control lungs ($p < 0.01$).

Pulmonary AT1 receptor expression was evaluated by immunoblot and immunofluorescence assays. Electrophoresis in denaturing conditions established the presence of the putative receptor band at 41 kDa which was not changed in MI rats [Fig. 3]. We also observed a higher 85 kDa band, possibly

representing a dimer or a different N-glycosylation state, displaying a 3-fold increase in expression in MI rats (1.059 ± 0.162 vs 0.35 ± 0.12 , $p < 0.01$). Immunofluorescence study of lungs sections established abundant AT1 receptor expression with evidence of activity on pulmonary myofibroblast, as demonstrated by co-localization with alpha-SMA positive cells in the alveolar septa [Fig. 4]. The pattern of expression for AT1 receptors was cytoplasmic and vesicular.

Two bands for the AT2 receptor at 62 kDa and 48 kDa were distinguishable by SDS-Page separation [Fig. 3]. No difference was observed for the putative receptor at the lower molecular weight band. The higher molecular weight band displayed great variability of expression with a non-significant elevation in the MI group (1.16 ± 0.33 vs 0.68 ± 0.13 , $p = 0.22$). Immunofluorescence studies also demonstrated the presence of AT2 receptors that co-localized with alpha-SMA positive cells (myofibroblasts) in the alveolar wall of MI rats [Fig. 5].

Transforming Growth Factor Beta Expression

Total lung TGF- β protein expression was determined by immunoblot assay. A 48 kDa band representing the latent form of TGF- β was detected by SDS-Page electrophoresis [Fig. 6]. No significant changes were seen between sham (1.05 ± 0.28) and MI animals (1.06 ± 0.26) for this specific growth factor.

Pulmonary Angiotensin II Infusion

Chronic Ang II infusion for 28 days resulted in an increase in lung tissue Ang II levels from 22.9 ± 2.4 pg/mg in controls ($n = 8$) to 31.9 ± 3.2 pg/mg ($n = 8$, $p < 0.01$) [Fig. 7]. The infusion resulted in elevation of mean arterial pressure from 80 ± 4 mmHg in shams to 92 ± 3 mmHg in treated rats ($p < 0.05$). The infusion however did not affect RVSP (sham, 22.7 ± 1.0 mmHg; treated, 22.4 ± 0.9 mmHg) nor relative right ventricular weight (sham, $18.86 \pm 0.82\%$; treated, $20.52 \pm 0.86\%$). The Ang II infusion did not cause any modification of lung gravimetric measurements with no discernable microscopic remodelling at lung histology (data not shown).

The infusion also did not modify the immunoblot expression of the AT1 receptor for both the 85 kDa isoform (sham, 1.43 ± 0.22 ; treated, 1.24 ± 0.15) as well as for the 41 kDa isoform (sham, 1.11 ± 0.20 ; treated, 1.49 ± 0.19).

DISCUSSION

We explored the possible association between activation of the renin-angiotensin system found in CHF and lung structural remodelling characterized by myofibroblastic proliferation. Our major findings were that a doubling of plasma Ang II levels was accompanied by a marked 6-fold increase of lung tissue levels of this peptide and a threefold increase in lung AT1 receptor protein expression. Using confocal microscopy we found evidence that AT1 and AT2 receptors were distributed in the alveolar septa and expressed in lung myofibroblasts. Chronic one-month infusion of Ang II in control animals however failed to induce any pulmonary hemodynamic or structural changes.

Modification of the Pulmonary Renin-angiotensin System in Congestive Heart Failure

The increase in lung Ang II levels after MI is in agreement with a previous study in the same model reporting an elevation as early as the third day after MI.⁹ Lung ACE activity and expression are however consistently reduced after MI,¹⁰ the increased plasma ACE activity possibly representing a shedding from the pulmonary vascular endothelium.¹¹ This apparent inconsistency between higher tissue Ang II levels but lower ACE activity may reside in the predominant distribution of lung ACE, an ectoenzyme distributed at the luminal surface of the endothelium for conversion of circulating Ang I.

Our data would therefore suggest that lung tissue ACE in other cell types or local increase in angiotensinogen would explain the findings. Ang II could be synthesized by lung myofibroblasts since angiotensinogen is indeed expressed in these cells.¹² In the heart, myofibroblasts isolated from transmural scar of MI rats have also recently been shown to express all components necessary for Ang II generation.¹³ Activation of the local pulmonary renin-angiotensin contributes to the observed lung structural remodelling in various pathologic conditions¹⁴ such as radiation induced fibrosis and bleomycin injury.^{15,16} Although the local increase in lung AngII levels cannot be assumed to represent a cause to effect relationship, our data suggest that local activation of the pulmonary angiotensin system could contribute to the pulmonary manifestations of heart disease and warrants further investigation.

Potential Pathophysiologic Impact of the Pulmonary Renin-Angiotensin System in Congestive Heart Failure

The increased pulmonary concentrations of Ang II could adversely affect the pulmonary circulation and contribute to lung structural remodelling. Ang II is a potent pulmonary vasoconstrictor and smooth muscle mitogen and could therefore contribute to the development of secondary PH. This study more specifically focused the potential link between the renin-angiotensin system and lung myofibroblastic proliferation.

Ang II cellular transduction is mediated via its G-protein coupled receptors AT1 and AT2. Pulmonary expression of the AT1 receptor was evaluated by Western blot assay. The biology of AT receptors is quite complex as it has previously been demonstrated that these receptors can form dimers¹⁷ and also display various molecular weights depending of the N-glycosylation state.¹⁸ This specific post-translational modification seems necessary for the receptor's adequate delivery to plasma membrane and does not affect its pharmacologic properties.¹⁹ We found that pulmonary expression of the 85 kDa AT1 receptor band was markedly increased more than 3-fold following MI while the 41 kDa band remained unchanged. We however found no significant modification in the expression of the AT2 receptor. Pulmonary expression of AT1 is also upregulated in bleomycin-induced pulmonary fibrosis and reduced by the angiotensin receptor antagonist candesartan, suggesting that this contributes to the pathogenic process.¹⁵ Using confocal microscopy, we observed abundant expression of AT1 receptors in cells of the alveolar septa with evidence of expression pulmonary myofibroblasts. Ang II is a demonstrated mitogenic factor for human lung fibroblasts via stimulation of the AT1 receptor.²⁰ Taken together, our results therefore support a role of Ang II in pulmonary remodelling induction via alveolar myofibroblastic activation.

We also explored the possible role of TGF- β since this growth factor has been implicated as a key mediator of pulmonary fibrosis²¹ and is a potent

stimulator of procollagen synthesis by fibroblasts *in vitro*.²² Human lung fibroblast proliferation through the AT1 receptor is modulated by the action of TGF- β .²⁰ Surprisingly, we found no differences between sham and infarcted animals. A significant increase was originally expected in accordance with the role of this growth factor in tissue regeneration and myofibroblast proliferation. Indeed, pulmonary TGF- β 1 expression is upregulated in a lamb model of congenital heart disease and PH²³ as well as in bleomycin-induced pulmonary fibrosis and reduced by an AT1 antagonist or by an ACE inhibitor.²⁴ This would suggest that other mediators would play a more important role in our model, although we cannot exclude the significance of the time course of growth factor expression and of isoform variability, nor the presence of specific high-concentration micro-domains, which would be undetectable by western blot following homogenization of lung and total protein extraction.

Relevance of These Findings to Human Disease

Pulmonary Ang II infusion for a duration of 1 month in control animals did not alter interstitial alveolar morphology of the lungs. AT1 expression was also unaltered by this procedure, demonstrating the relationship between upregulation of this receptor and pulmonary remodelling. This finding not only suggests the importance of local pulmonary activation of this system, but also that the presence of other factors associated with CHF are needed for structural remodelling to occur. In a human pathologic study,

Kapanci et al. have proposed the importance of mechanical stretch secondary to capillary congestion in post-capillary PH in the induction of the pathological alveolar myofibroblast phenotype.⁴ This statement is further appreciated when taking into account the fact that certain cell types, including some of myofibroblastic lineage, undergo upregulation of certain RAS components, such as the AT1 receptor, following mechanical stretch stimulation. Although alveolar myofibroblasts proliferation with interstitial collagen deposition and alveolar wall thickening may protect from the development of pulmonary oedema, the reduction of pulmonary capillary permeability comes at the expense of a simultaneous reduction of gas diffusing capacity. Consequent ventilation abnormalities in patients with CHF are decreased lung volumes and compliance as well as reduced lung diffusing capacity for carbon monoxide.¹ The lack of improvement of lung diffusing capacity after fluid removal by ultrafiltration in patients with CHF suggests that this abnormality is fluid independent and related to alveolar structural remodelling.²⁷ Ang II may play a significant role in this remodelling in humans since the ACE inhibitor enalapril can improve lung diffusing capacity in CHF.²⁸ This concept is further supported by the demonstration that the angiotensin-converting enzyme genotype modulates pulmonary function and exercise capacity in congestive heart failure: subjects with the DD genotype being more severely affected.²⁹ Although we believe that our findings have relevance to human CHF, it remains to be established in which proportion and what severity of CHF and PH the abnormality could play a clinically significant role. Furthermore, the

use of an ARB associated with an ACEI in our rat model might prove to be clinically pertinent to human pathophysiology.

CONCLUSION

There is activation of pulmonary renin-angiotensin system in CHF characterized by increased tissue Ang II levels and increased expression of the AT1 receptor present on lung myofibroblasts. This may contribute to the adverse lung structural remodelling associated with CHF and to the pulmonary manifestations of heart disease. The demonstrated functional benefit of pharmacological blockade of the angiotensin system in CHF may be partly attributable to local pulmonary effects.

REFERENCES

1. Gehlbach BK, Geppert E. The pulmonary manifestations of left heart failure. *Chest* 2004; 125: 669-682
2. Jasmin JF, Calderone A, Leung TK, et al. Lung structural remodeling and pulmonary hypertension after myocardial infarction: complete reversal with irbesartan. *Cardiovasc Res* 2003; 58: 621-631
3. Kingsbury MP, Huang W, Donnelly JL, et al. Structural remodelling of lungs in chronic heart failure. *Basic Res Cardiol* 2003; 98: 295-303
4. Kapanci Y, Burgan S, Pietra GG, et al. Modulation of actin isoform expression in alveolar myofibroblasts (contractile interstitial cells) during pulmonary hypertension. *Am J Pathol* 1990; 136: 881-889
5. Puri S, Baker BL, Dutka DP, et al. Reduced alveolar-capillary membrane diffusing capacity in chronic heart failure. Its pathophysiological relevance and relationship to exercise performance. *Circulation* 1995; 91: 2769-2774
6. Smith AA, Cowburn PJ, Parker ME, et al. Impaired pulmonary diffusion during exercise in patients with chronic heart failure. *Circulation* 1999; 100: 1406-1410
7. Nguyen QT, Colombo F, Rouleau JL, et al. LU135252, an endothelin(A) receptor antagonist did not prevent pulmonary vascular remodelling or lung fibrosis in a rat model of myocardial infarction. *Br J Pharmacol* 2000; 130: 1525-1530
8. Nguyen QT, Colombo F, Clement R, et al. AT1 receptor antagonist therapy preferentially ameliorated right ventricular function and phenotype during the early phase of remodeling post-MI. *Br J Pharmacol* 2003; 138: 1485-1494
9. Duncan AM, Burrell LM, Kladis A, et al. Angiotensin and bradykinin peptides in rats with myocardial infarction. *J Card Fail* 1997; 3: 41-52
10. Huang H, Arnal JF, Llorens-Cortes C, et al. Discrepancy between plasma and lung angiotensin-converting enzyme activity in experimental congestive heart failure. A novel aspect of endothelium dysfunction. *Circ Res* 1994; 75: 454-461
11. Gaertner R, Prunier F, Philippe M, et al. Scar and pulmonary expression and shedding of ACE in rat myocardial infarction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002; 283: H156-H164
12. Campbell DJ, Habener JF. Hybridization in situ studies of angiotensinogen gene expression in rat adrenal and lung. *Endocrinology* 1989; 124: 218-222
13. Katwa LC, Campbell SE, Tyagi SC, et al. Cultured myofibroblasts generate angiotensin peptides de novo. *J Mol Cell Cardiol* 1997; 29: 1375-1386
14. Marshall RP. The pulmonary renin-angiotensin system. *Curr Pharm Des* 2003; 9: 715-722

15. Otsuka M, Takahashi H, Shiratori M, et al. Reduction of bleomycin induced lung fibrosis by candesartan cilexetil, an angiotensin II type 1 receptor antagonist. *Thorax* 2004; 59: 31-38
16. Song L, Wang D, Cui X, et al. Kinetic alterations of angiotensin-II and nitric oxide in radiation pulmonary fibrosis. *J Environ Pathol Toxicol Oncol* 1998; 17: 141-150
17. AbdAlla S, Lothar H, Abdel-Tawab AM, et al. The angiotensin II AT2 receptor is an AT1 receptor antagonist. *J Biol Chem* 2001; 276: 39721-39726
18. Lanctot PM, Leclerc PC, Escher E, et al. Role of N-glycosylation in the expression and functional properties of human AT1 receptor. *Biochemistry* 1999; 38: 8621-8627
19. Deslauriers B, Ponce C, Lombard C, et al. N-glycosylation requirements for the AT1a angiotensin II receptor delivery to the plasma membrane. *Biochem J* 1999; 339 (Pt 2): 397-405
20. Marshall RP, McAnulty RJ, Laurent GJ. Angiotensin II is mitogenic for human lung fibroblasts via activation of the type 1 receptor. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: 1999-2004
21. Coker RK, Laurent GJ, Shahzeidi S, et al. Transforming growth factors-beta 1, -beta 2, and -beta 3 stimulate fibroblast procollagen production in vitro but are differentially expressed during bleomycin-induced lung fibrosis. *Am J Pathol* 1997; 150: 981-991
22. Roberts AB, Sporn MB, Assoian RK. et al. Transforming growth factor type beta: rapid induction of fibrosis and angiogenesis in vivo and stimulation of collagen formation in vitro. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83: 4167-4171
23. Mata-Greenwood E, Meyrick B, Steinhorn RH, et al. Alterations in TGF-beta1 expression in lambs with increased pulmonary blood flow and pulmonary hypertension. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2003; 285: L209-L221
24. Marshall RP, Gohlke P, Chambers RC, et al. Angiotensin II and the fibroproliferative response to acute lung injury. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2004; 286: L156-L164
25. Malhotra R, Sadoshima J, Brosius FC 3rd, et al. Mechanical stretch and angiotensin II differentially upregulate the renin-angiotensin system in cardiac myocytes In vitro. *Circ Res.* 1999; 85: 137-46
26. Gruden G, Thomas S, Burt D, et al. Interaction of angiotensin II and mechanical stretch on vascular endothelial growth factor production by human mesangial cells. *J Am Soc Nephrol.* 1999; 10: 730-7
27. Agostoni PG, Guazzi M, Bussotti M, et al. Lack of improvement of lung diffusing capacity following fluid withdrawal by ultrafiltration in chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2000; 36: 1600-1604
28. Guazzi M, Agostoni P. Angiotensin-converting enzyme inhibition restores the diffusing capacity for carbon monoxide in patients with chronic heart failure by improving the molecular diffusion across the alveolar capillary membrane. *Clin Sci (Lond)* 1999; 96: 17-22

29. Abraham MR, Olson LJ, Joyner MJ, et al. Angiotensin-converting enzyme genotype modulates pulmonary function and exercise capacity in treated patients with congestive stable heart failure. *Circulation* 2002; 106: 1794-1799

FIGURE LEGENDS

- Figure 1. Histologic lung section with HPS staining from a sham rat (A) and from a rat with CHF (B). CHF caused important structural remodelling with thickening of alveolar septa, cellular proliferation and collagen deposition.
- Figure 2. Arterial and venous plasma Ang II levels and lung tissue Ang II levels in sham rats (open bars, n = 6) and in rats with CHF (filled bars, n = 8). ** p < 0.01 vs sham.
- Figure 3. Expression of AT1 and AT2 receptors by western blot in sham rats and in animals with CHF induced by MI. ** p < 0.01 vs sham.
- Figure 4. Immunofluorescent expression of staining of pulmonary AT1 receptors from sham rats (upper panels) and CHF rats (lower panels). Nuclear staining with propidium iodide is shown in blue (A), smooth muscle alpha actin (SMA) in green (B) and AT1 receptor in red (C). Bar=10 μ m.
- Figure 5. Immunofluorescent expression of staining of pulmonary AT2 receptors from sham rats (upper panels) and CHF rats (lower

panels). Nuclear staining with propidium iodide is shown in blue (A), smooth muscle alpha actin (SMA) in green (B) and AT2 receptor in red (C). Bar=10 μ m.

Figure 6. Expression of TGF- β in lungs from sham rats and in animals with CHF induced by MI.

Figure 7. Effect of chronic (28 days) intravenous infusion Ang II on lung tissue Ang II levels. * $p < 0.05$ vs control.

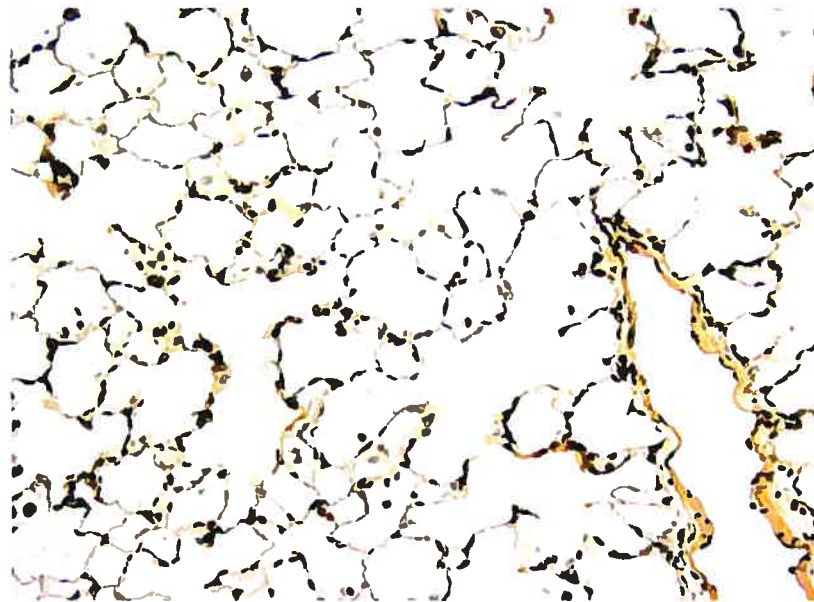
Table I – Hemodynamic and Morphometric Parameters

Hemodynamic parameters	Sham (n = 7)	MI (n = 16)
HR (bpm)	254 ± 11	286 ± 7*
MAP (mmHg)	108 ± 8	103 ± 4
LVEDP (mmHg)	3.5 ± 1.7	22.8 ± 2.7†
RVSP (mmHg)	27.6 ± 1.7	49.6 ± 2.0†
RVEDP (mmHg)	2.8±0.9	5.9±0.8 *
CVP (mmHg)	2.3 ± 0.7	3.8 ± 0.6
RV dP/dt+ (mmHg/s)	1742 ± 124	2644 ± 113†
RV dP/dt- (mmHg/s)	1532 ± 100	2195 ± 154*
LV dP/dt+ (mmHg/s)	8696 ± 435	6237± 750*
LV dP/dt- (mmHg/s)	7357 ± 576	4812 ± 590*
Morphometric parameters		
Body weight (g)	380 ± 5	349 ± 4†
Wet Lung / Body weight (%)	0.115 ± 0.007	0.177 ± 0.015*
Dry Lung / Wet Lung (%)	20.13 ± 0.80	20.05 ± 0.63
Dry Lung / Body weight (%)	0.023 ± 0.001	0.035 ± 0.002 *
RV / Body weight (%)	0.051 ± 0.002	0.070 ± 0.004 *
LV + septum / Body weight (%)	0.192 ± 0.003	0.201 ± 0.005
RV / Heart weight (%)	21.08 ± 0.58	25.83 ± 1.12 *
Scar surface (mm ²)	N/A	118 ± 8
Scar weight / Body weight (%)	N/A	0.032 ± 0.002

HR = heart rate; MAP = mean arterial pressure; LVEDP = left ventricular end diastolic pressure; RVSP = right ventricular systolic pressure; RVEDP = right ventricular end diastolic pressure; CVP = central venous pressure; RV = right ventricle; LV = left ventricle; * $p < 0.05$; † $p < 0.001$. Lung weights were measured from the right lower lobe.

A

Figure 1



B

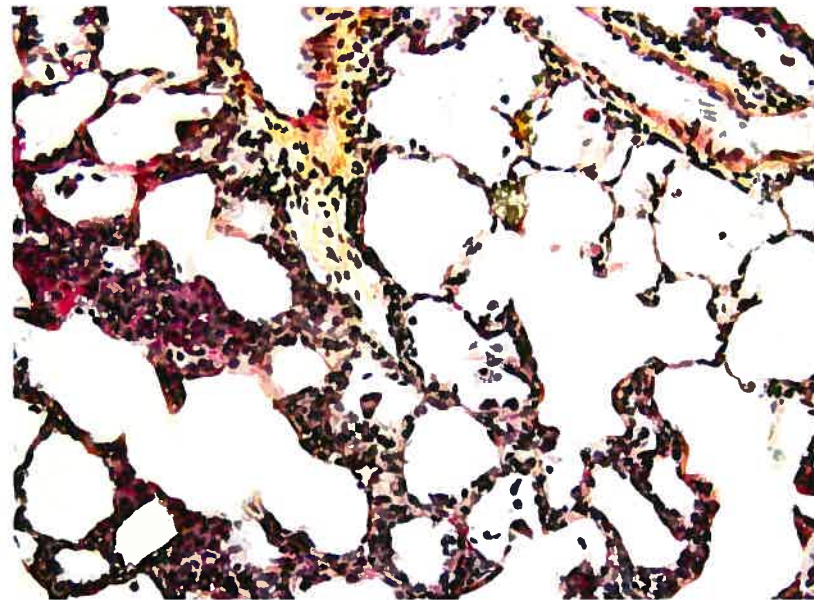


Figure 2

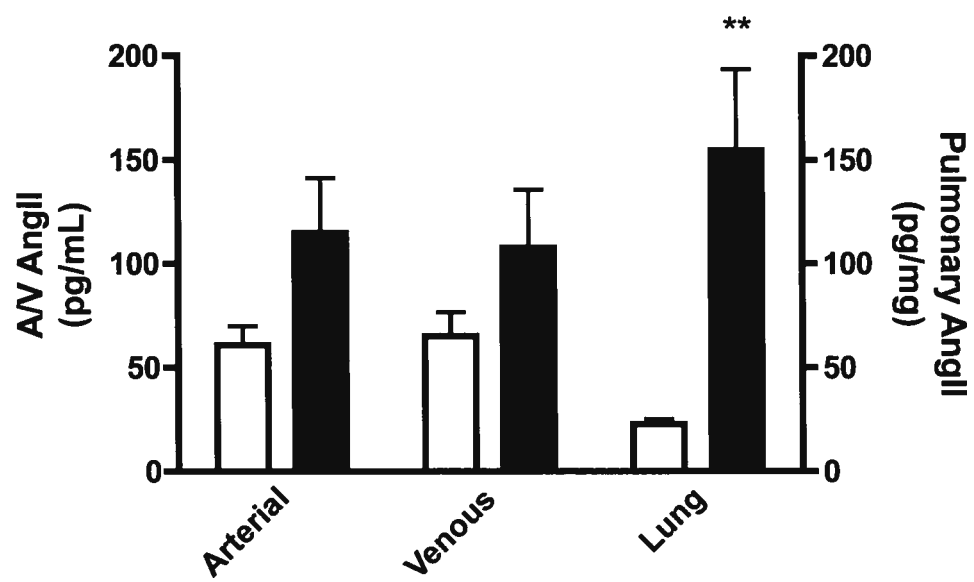
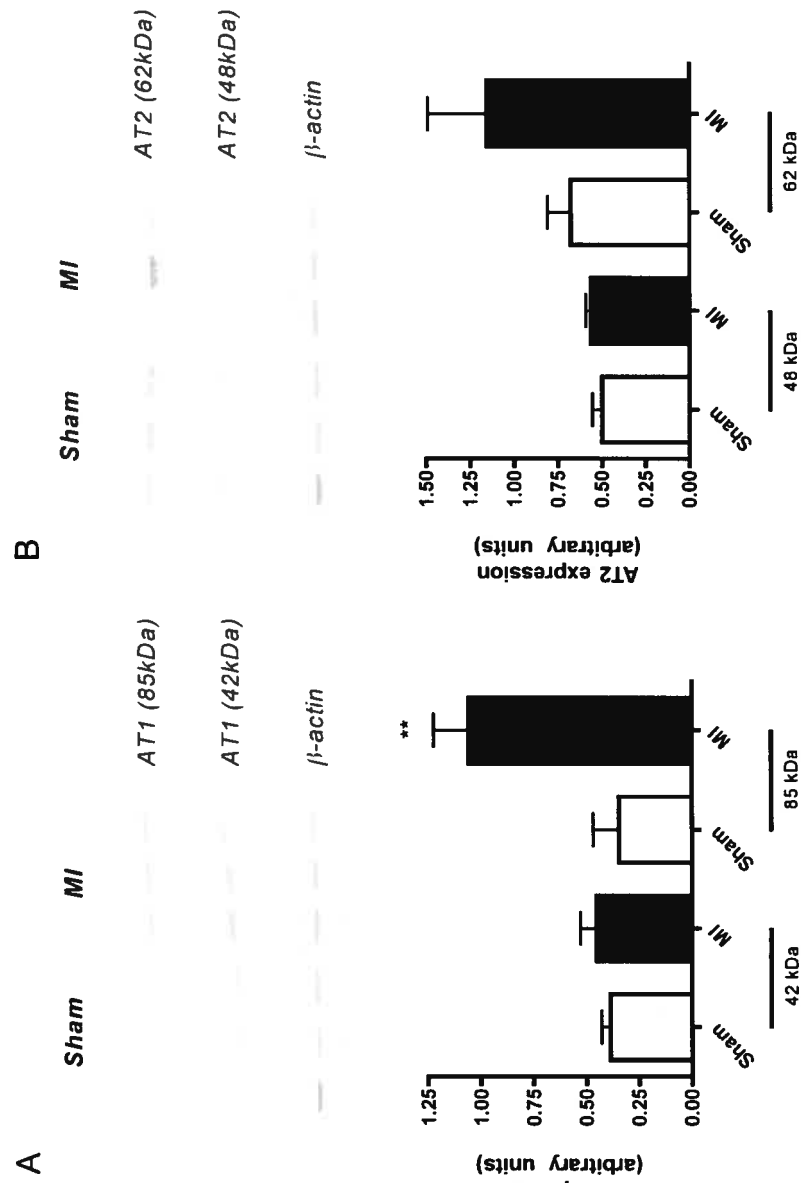


Figure 3



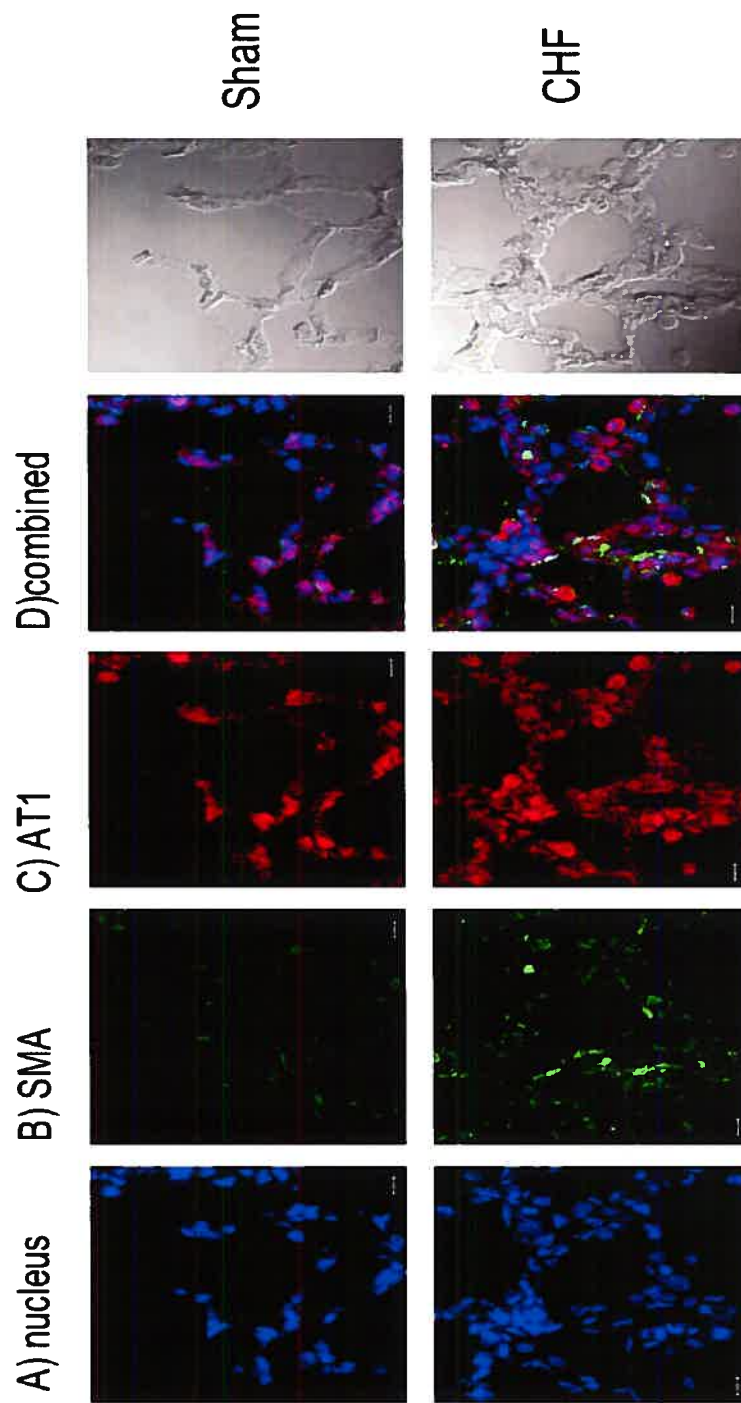


Figure 4

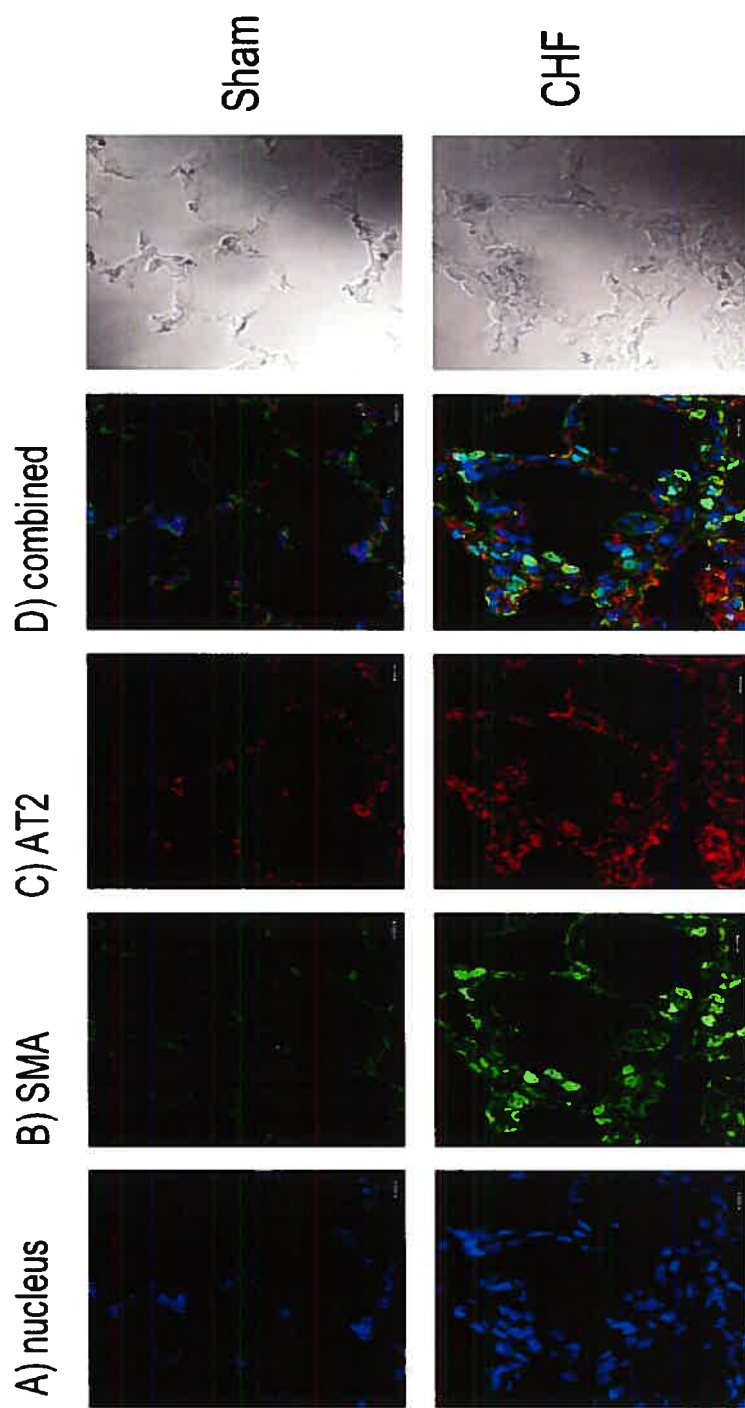


Figure 5

Figure 6

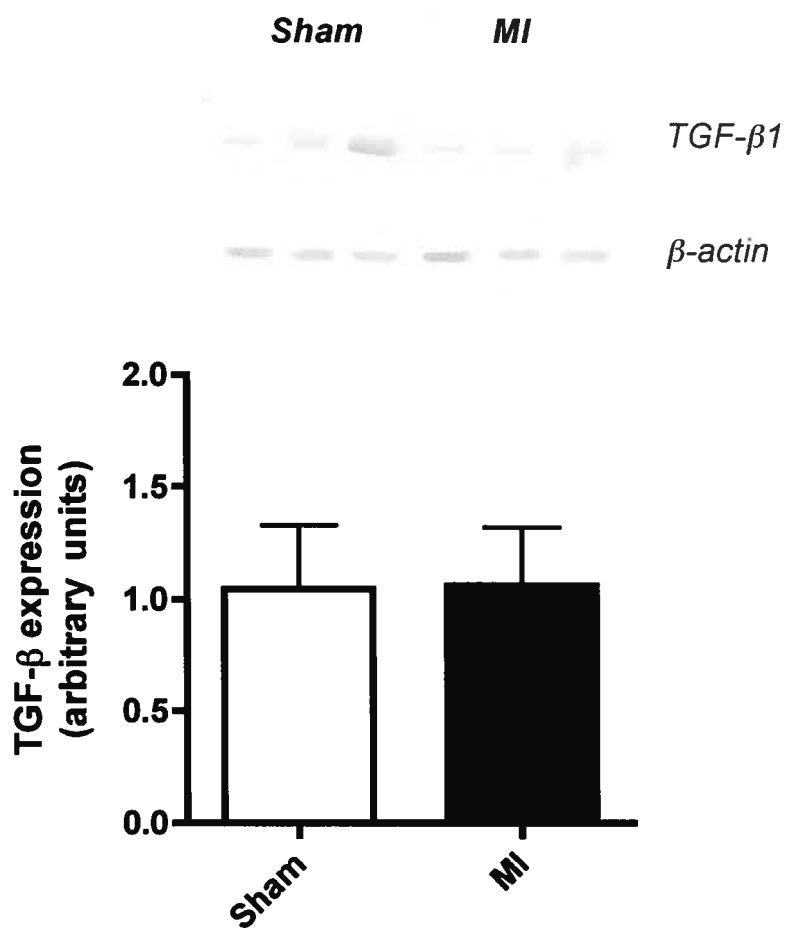
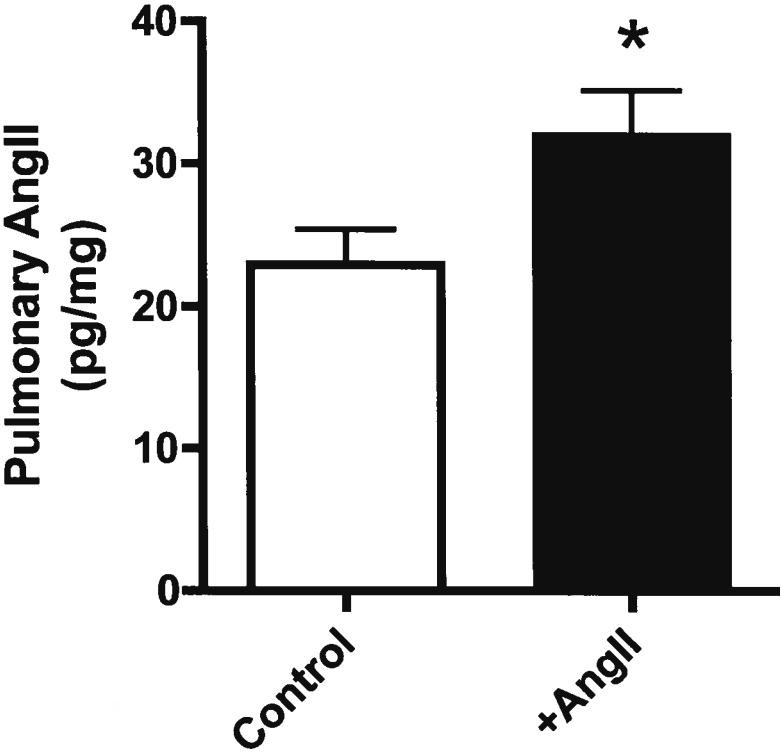


Figure 7



4 DISCUSSION

L'importance du système rénine-angiotensine pulmonaire dans le remodelage structurel du poumon secondaire à l'infarctus du myocarde fut étudiée. Les résultats principaux de cette étude sont les suivants. L'augmentation des concentrations plasmatiques d'angiotensine II serait associée à une surexpression pulmonaire de ce peptide et de son récepteur AT1. Par microscopie confocale, les récepteurs AT1 et AT2 seraient distribués au niveau du septum alvéolaire et seraient exprimés par des myofibroblastes pulmonaires. Cependant, l'infusion chronique d'angiotensine II chez des animaux non-pathologiques semblerait ne pas pouvoir induire directement des modifications au niveau hémodynamique ou structurel.

Les concentrations plasmatiques d'angiotensine II furent évaluées chez le rat après infarctus myocardique. Celles-ci furent démontrées comme étant augmentées. Cette cardiomyopathie ischémique serait en effet associée à une activation transitoire systémique du système rénine-angiotensine. Plusieurs études ont démontré une augmentation plasmatique de la rénine (Kelly & al., 1997) et de l'enzyme de conversion de l'angiotensine post-infarctus (Huang & al., 1994 ; Duncan & al., 1997 ; Gaertner & al., 2002), associées à des concentrations d'angiotensinogène diminuées ou inaltérées. (Duncan & al., 1997 ; Kelly & al., 1997)

Au niveau du tissu pulmonaire, les concentrations d'angiotensine II furent aussi démontrées comme étant augmentées de six fois. Ces résultats seraient comparables à ceux de l'étude de Duncan & al. Dans ce papier, les concentrations pulmonaires d'angiotensine II étaient augmentées de façon significative à partir du troisième jour suivant l'infarctus du myocarde et resteraient non-significativement élevées jusqu'au premier mois post-infarctus. (Duncan & al., 1997) Ces résultats concorderaient aussi à différents modèles de remodelage pulmonaire. De hauts niveaux d'angiotensine II pulmonaire sont en effet observés lors de fibrose pulmonaire induite à l'irradiation. (Song & al., 1998) De même, une augmentation de 80% est observée quatorze jours après l'administration de bléomycine chez un modèle de lésion pulmonaire aigue. (Marshall & al., 2004)

Gaertner & al. ont spécifiquement démontré une diminution de l'expression pulmonaire de l'enzyme de conversion de l'angiotensine post-infarctus. Ceci résulterait apparemment d'une dysfonction de l'endothélium pulmonaire secondaire à l'augmentation de la pression diastolique ventriculaire gauche et d'une diminution des forces de cisaillement, et serait proportionnelle à la sévérité de l'insuffisance cardiaque résultante. (Gaertner & al., 2002) Comme il fut mentionné précédemment, les concentrations plasmatiques d'angiotensinogène ne seraient pas augmentées post-infarctus. (Duncan & al., 1997 ; Kelly & al., 1997) En tenant compte de ces précédents résultats, il peut

être supposé que la surexpression d'angiotensine II au niveau pulmonaire serait spécifique à une production locale, ceci secondaire à une augmentation d'angiotensinogène pulmonaire ou de l'expression pulmonaire d'enzymes de conversion, non étudiées dans cette présente étude, caractéristiques au remodelage pulmonaire.

L'angiotensine II pourrait être synthétisée par les myofibroblastes pulmonaires. Les myofibroblastes cardiaques isolés de la cicatrice ventriculaire de rats ayant souffert d'un infarctus du myocarde ont effectivement été démontrés comme pouvant exprimer toutes les composantes nécessaires à la génération d'angiotensine II (Katwa & al., 1997), supportant l'observation d'une augmentation locale de ce peptide au niveau du tissu myocardique post-infarctus. (Yamagishi & al., 1993) De plus, dans la fibrose interstitielle pulmonaire humaine, des fibroblastes α -SMA⁺ isolés de loci fibrotiques ont aussi été démontrés comme pouvant exprimer l'angiotensinogène. (Wang & al., 1999) Ces précédents exemples sont donc compatibles avec un lien direct entre l'augmentation d'angiotensine II pulmonaire et le remodelage pulmonaire suivant l'infarctus du myocarde.

L'augmentation des concentrations d'angiotensine II aurait une incidence néfaste sur la circulation pulmonaire et pourrait contribuer au remodelage structurel du poumon. L'angiotensine II serait en effet un puissant vasoconstricteur et serait associée à l'hypertrophie du muscle lisse vasculaire.

La génération myofibroblastique de ce peptide pourrait donc contribuer directement au développement d'hypertension pulmonaire. Bien que fort intéressante, cette étude ciblait plutôt le rôle du système rénine-angiotensine pulmonaire dans l'activation des processus associés au remodelage pulmonaire.

L'angiotensine II produite localement pourrait spécifiquement soutenir le remodelage pulmonaire post-infarctus. L'angiotensine II induirait en effet la prolifération, la migration et l'expression de collagène mésenchymateuses. (Marshall & al., 2000 ; Nadal & al., 2002 ; Marshall & al., 2004) Par ailleurs, l'administration d'irbesartan, antagoniste du récepteur AT1, inhiberait le remodelage structurel du poumon post-infarctus chez le rat. (Jasmin & al., 2003) Cependant, il semblerait que l'angiotensine II serait incapable d'induire directement le remodelage pulmonaire. L'infusion pulmonaire d'angiotensine II ne semblerait pas modifier la morphologie interstitielle alvéolaire de poumons non-pathologiques. L'expression du récepteur AT1 ne serait pas non plus altérée par cette procédure, témoignant ainsi du lien entre la surexpression de ce récepteur et le remodelage pulmonaire. Ce phénomène pourrait être expliqué par la nécessité d'autres facteurs spécifiques à la pathogenèse de l'hypertension pulmonaire secondaire à l'infarctus du myocarde, ou alternativement, démontrerait que l'angiotensine II ait la capacité d'induire des changements morphologiques uniquement en présence d'une augmentation de la concentration de ses récepteurs. Kapanci &

al. ont proposé l'importance de l'étirement mécanique secondaire à la congestion veineuse lors d'hypertension pulmonaire post-capillaire dans l'induction du phénotype myofibroblastique alvéolaire pathologique. (Kapanci & al., 1990) Cette hypothèse serait de plus soutenue par diverses études démontrant l'importance de stimuli mécaniques lors de l'activation myofibroblastique. (Hinz & al., 2001 ; Wang & al., 2003) Il est intéressant de noter que l'étirement mécanique a été démontré comme pouvant induire l'expression des diverses composantes du système rénine-angiotensine au niveau cellulaire. (Tamura & al., 1998 ; Malhotra & al., 1999) Le récepteur AT1 serait par exemple surexprimé par un tel stimulus *in vitro* dans les cellules mésangiales humaines (Gruden & al., 1999) ou dans des cardiomyocytes de rats néonataux, la réponse de ce récepteur à l'angiotensine II étant augmentée dans ce dernier modèle. (Kijima & al., 1996) D'autres médiateurs neuro-humoraux, dont l'endothéline, pourraient jouer un rôle primordial lors de l'induction des processus associés au remodelage pulmonaire. Les concentrations d'endothéline seraient en effet augmentées lors de la régénération tissulaire. (Shao & al., 2003) De même, de hauts niveaux d'endothéline seraient détectables chez les poumons de patients souffrant d'insuffisance cardiaque chronique. (Dupuis, 2004) Les myofibroblastes isolés de la cicatrice ventriculaire de rats infarctus exprimeraient de plus ce peptide *de novo*. (Katwa, 2003) L'endothéline a été démontrée comme pouvant favoriser l'induction myofibroblastique (Katwa, 2003 ; Shi-Wen & al., 2004) et participerait dans des processus pathologiques pulmonaires aussi variés que

le bronchoconstriction lors de l'asthme (Sun & al., 1997) ou la fibrose pulmonaire associée à la sclérodemie (Shi-Wen & al., 2004), impliquant donc possiblement ce peptide dans le remodelage pulmonaire post-infarctus.

Lors de telles conditions pathologiques, l'angiotensine II pourrait aussi jouer le rôle de médiateur pro-inflammatoire. En effet, ce peptide a été démontré comme pouvant induire de façon dose-dépendante une surexpression endothéliale de E-sélectine, favorisant ainsi l'adhésion leucocytaire. (Grafe & al., 1997) Chez le rat spontanément hypertensif, la surexpression de Mac-1 et ICAM-1 serait normalisées par l'administration de l'antagoniste de AT1 TCV-116 ou de l'inhibiteur de ECA captopril. (Takemori & al., 2000) Alvarez & al. ont récemment démontré que l'angiotensine II à des doses physiologiques pouvait stimuler *in vivo* l'adhésion leucocytaire à l'endothélium artériel. (Alvarez & al., 2004) Enfin, l'angiotensine II a aussi été démontré comme pouvant stimuler l'activation de macrophages (Rodgers & al., 2000) et induire la migration et le recrutement de neutrophiles. (Elferink & al., 1997 ; Nabah & al., 2004) L'induction de processus inflammatoires par l'augmentation locale des concentrations d'angiotensine II pourrait donc s'avérer être important. Cette hypothèse serait supportée par l'observation que les poumons de rats après un infarctus myocardique démontreraient une présence marquée de sidérophages caractéristiques au remodelage pulmonaire. (Jasmin & al., 2003 ; Kingsbury & al., 2003) Les facteurs et médiateurs libérés par les cellules inflammatoires sont en effet essentiels lors des processus de remodelage

tissulaire. La formation de la cicatrice ventriculaire post-infarctus serait un exemple approprié. La sécrétion de cytokines, telles TGF- β , TNF- α et FGFb, et l'expression de métalloprotéinases matricielles par les macrophages et les mastocytes infiltrants contrôleraient spécifiquement le métabolisme de la matrice extracellulaire, l'angiogénèse et particulièrement la prolifération de myofibroblastes cicatriciels. (Frangogiannis & al., 2002) De tels événements cellulaires sont aussi observés lors des processus fibrotiques de divers affections pulmonaires, dont la fibrose pulmonaire idiopathique et la sarcoïdose. (Chapman, 2004) L'angiotensine II pourrait donc aussi contribuer au remodelage structurel du poumon post-infarctus via l'induction de processus inflammatoires.

L'angiotensine II produite localement pourrait directement avoir un effet néfaste sur le poumon. Wang & al. ont récemment démontré le rôle de ce peptide et de son précurseur angiotensinogène dans l'apoptose de cellules épithéliales alvéolaires. Dans leur modèle de fibrose interstitielle pulmonaire humaine, l'angiotensine II serait en effet synthétisée par des fibroblastes α -SMA⁺ pathologiques. (Wang & al., 1999) Deux conséquences pourraient alors être déduites de cette activité apoptotique particulière. L'endommagement de l'épithélium alvéolaire pourrait résulter en une fonction pulmonaire diminuée, ceci concernant la synthèse de surfactant, la diffusion de liquide et l'échange gazeux. De plus, une réépithélisation retardée de la surface alvéolaire a été démontrée comme pouvant favoriser la fibrogénèse (Adamson & al., 1988 ;

Witschi, 1990), et pourrait donc jouer un rôle lors du remodelage pulmonaire. L'angiotensine II pourrait donc être impliquée directement via l'endommagement épithélial alvéolaire dans les modifications fonctionnelles et morphologiques pulmonaires, telles qu'observées chez le patient souffrant d'insuffisance cardiaque sévère. (Kapanci & al., 1990 ; Puri & al., 1995 ; Smith & al., 1999 ; Guazzi & al., 2000)

L'angiotensine II induirait ses effets biologiques via la liaison à ses récepteurs à sept domaines transmembranaires AT1 et AT2. L'importance de ces récepteurs dans le remodelage pulmonaire fut donc aussi évaluée. L'expression myofibroblastique pulmonaire du récepteur AT1 fut démontrée par immunofluorescence. Ce résultat ne serait pas inattendu étant donné que la majorité des cellules mésenchymateuses, dont les cellules du muscle lisse vasculaire (Kohno & al., 1997) et les fibroblastes cardiaques (Graf & al., 2000) et pulmonaires (Marshall & al., 2000 ; Marshall & al., 2004), serait activée par l'angiotensine II via le récepteur AT1. Les myofibroblastes cicatriciels cardiaques pourraient une fois de plus être utilisés comme exemple. Au niveau du coeur en régénération, ces cellules seraient la source primaire du récepteur AT1. (Sun & al., 1996) La surexpression post-infarctus de ce récepteur au site de remodelage ventriculaire concorderait avec une accumulation de collagènes fibrillaires. (Sun & al., 1994) L'angiotensine II pourrait donc contribuer au remodelage pulmonaire post-infarctus via l'activation de myofibroblastes alvéolaires.

L'expression pulmonaire du récepteur AT1 fut aussi évaluée par immunobuvardage. Deux isoformes furent observées. La biologie des récepteurs de l'angiotensine II étant complexe, l'isoforme de plus haut poids moléculaire pourrait correspondre à un dimère (AbdAlla & al., 2000 ; AbdAlla & al., 2001 ; Barki-Harrington & al., 2003 ; Zeng & al., 2003 ; AbdAlla & al., 2004) ou à un état de N-glycosylation, cette dernière étant nécessaire au ciblage approprié du récepteur à la membrane cytoplasmique mais ne modifiant pas ses propriétés pharmacologiques. (Deslauriers & al., 1999 ; Jayadev & al., 1999 ; Lanctot & al., 1999) L'expression pulmonaire de l'isoforme de 85kDa du récepteur AT1 fut démontrée comme étant sensiblement augmentée suivant l'infarctus du myocarde. L'expression de l'isoforme de 41kDa serait inaltérée post-infarctus. Il est commun de retrouver dans un tel modèle pathologique une surexpression du récepteur AT1, ceci dû l'étroit lien entre l'angiotensine II et la régénération tissulaire. (Weber, 1997 ; Weber & al., 1997) Le récepteur AT1 est en effet surexprimé lors de fibrose induite à la bléomycine. (Otsuka & al., 2004) À l'opposé de nos résultats, seulement la forme de plus faible poids moléculaire serait augmentée dans ce précédent exemple. Cette différence pourrait être expliquée par deux phénomènes. Dans un tel modèle, les fibroblastes seraient la lignée cellulaire dominante à subir une hyperplasie. Cette population cellulaire, distincte des myofibroblastes, pourrait exprimer le récepteur AT1 avec des modifications post-traductionnelles particulières. De plus, la technique d'immunobuvardage

utilisée au cours de cette étude quantifierait l'expression du récepteur AT1 au niveau du poumon total. Il est donc possible que la surexpression du récepteur observée chez notre modèle infarctus résulterait de la combinaison de plusieurs modifications pathologiques au niveau pulmonaire. En effet, il est connu que les petits vaisseaux sanguins pulmonaires subiraient une hypertrophie du muscle lisse lors d'hypertension pulmonaire. (Nguyen & al., 2000) Comme il a été mentionné précédemment, le remodelage pulmonaire secondaire à l'infarctus du myocarde serait aussi caractérisé par une infiltration de sidérophages. (Jasmin & al., 2003 ; Kingsbury & al., 2003) Ces différents évènements pourraient donc affecter la quantification du récepteur AT1.

L'expression du récepteur AT2 fut aussi évaluée. Par immunofluorescence, AT2 semblerait aussi être exprimé au niveau de myofibroblastes pulmonaires. Une fois de plus, deux isoformes pouvaient être distingués par immunobuvardage. À l'opposé du récepteur AT1, la glycosylation du récepteur AT2 ne serait apparemment pas essentielle à son expression membranaire, mais semblerait jouer un rôle mineur dans son affinité pour son ligand. (Servant & al., 1996) Seulement l'isoforme de 68kDa démontra une tendance non significative à augmenter suivant l'infarctus du myocarde. La présence et la variation possible du récepteur AT2 seraient d'une certaine importance, ceci étant donné que le ratio des récepteurs AT1/AT2 serait un facteur pouvant contrôler la prolifération cellulaire et donc le remodelage tissulaire. (Bullock & al., 2001) AT2 pourrait en effet agir, dans

certaines circonstances, comme antagoniste spécifique du récepteur AT1. (AbdAlla & al., 2001) Ce récepteur peut inhiber la prolifération de cellules du muscle lisse vasculaire (Brogelli & al., 2002), stimuler l'apoptose de fibroblastes R3T3 (Yamada & al., 1996) et bloquer la synthèse de collagène de fibroblastes cardiaques lors de fibrose du myocarde. (Ohkubo & al., 1997) Le récepteur AT2 pourrait être soumis à une expression différentielle lors de l'évolution du remodelage structurel du poumon. Lors du développement et de la régression de l'hypertension pulmonaire hypoxique, Chassagne & al. ont en effet confirmé la modulation transitoire des récepteurs de l'angiotensine II associée à la muscularisation distale secondaire à l'hypoxie chronique. (Chassagne & al., 2000) Il est connu que le récepteur AT2 serait surexprimé lors de conditions pathologiques associées à une augmentation des concentrations d'angiotensine II. (Tsutsumi & al., 1998) De plus, l'expression de AT2 serait induite par l'angiotensine II via le récepteur AT1 chez les cellules du muscle lisse vasculaire coronarien (Zahradka & al., 1998) et les cellules endothéliales de l'aorte. (De Paolis & al., 1999) L'expression myofibroblastique pulmonaire du récepteur AT2 pourrait donc être dépendante d'une augmentation supplémentaire des concentrations d'angiotensine II pulmonaire associée au remodelage structurel, contrôlant ainsi la prolifération cellulaire. Il serait donc intéressant d'étudier le ratio AT1/AT2 lors de l'évolution du remodelage pulmonaire et de vérifier plus tardivement la présence ou l'absence d'une augmentation significative du récepteur AT2. Il est toutefois important de noter la possibilité que l'échantillonnage utilisé n'ait

pas été suffisant pour quantifier une augmentation du récepteur AT2, ceci dû à la présence d'une variabilité du signal par immunobuvardage. En effet, par immunofluorescence, contrairement au récepteur AT1, l'augmentation de l'immunoréactivité semblerait plus importante pour AT2. De même, la nature du signal semblerait aussi entrer en compte. Une augmentation de la concentration du récepteur AT2 de façon homogène au niveau du tissu pulmonaire serait observée, suggérant ainsi une induction de l'expression de ce récepteur au niveau cellulaire, ceci à l'opposé du récepteur AT1, plutôt associé à une augmentation du nombre de myofibroblastes interstitiels. La tendance non-significative démontrant une augmentation du récepteur AT2 pulmonaire post-infarctus pourrait ainsi être confirmée simplement par un échantillonnage plus important.

L'expression pulmonaire de TGF- β 1 fut aussi évaluée par immunobuvardage. L'immunodétection était en accord avec l'étude de Dubois & al. (Dubois & al., 1995) Étonnamment, aucune différence ne fut observée entre les animaux sham et infarctus. Une augmentation significative était originalement attendue étant donné le rôle connu de ce peptide dans la régénération tissulaire et la prolifération myofibroblastique. (Powell & al., 1999) En effet, TGF- β 1 pulmonaire serait surexprimé dans un modèle d'agneau souffrant de cardiopathie congénitale et d'hypertension pulmonaire. (Mata-Greenwood & al., 2003) De plus, lors de fibrose pulmonaire induite à la bléomycine, cette toxine augmenterait significativement l'expression

pulmonaire de TGF- β , cette surexpression étant bloquée par un antagoniste du récepteur AT1 (Otsuka & al., 2004) ou un inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine. (Marshall & al., 2004) L'absence apparente de réponse chez notre modèle pourrait être expliquée par différents phénomènes. Il se pourrait que la prolifération myofibroblastique associée au remodelage pulmonaire secondaire à l'infarctus du myocarde serait dépendante d'autres facteurs de croissance spécifiques. CTGF, un nouveau facteur pro-fibrotique impliqué dans la prolifération fibroblastique, la synthèse de constituants de la matrice extracellulaire, l'adhésion cellulaire et l'angiogénèse, serait un candidat possible. Celui-ci pourrait en effet être associé à la pathogenèse de la fibrose pulmonaire (Lasky & al., 1998) et semblerait être responsable de la fibrose cardiaque et rénale induites à l'angiotensine II *in vivo*. (Finckenberg & al., 2003 ; Ruperez & al., 2003) Le facteur de croissance PDGF, étant impliqué dans l'élaboration du phénotype myofibroblastique alvéolaire lors de l'organogénèse (Bostrom & al., 1996), pourrait aussi être un candidat intéressant à étudier. Celui-ci serait en effet associé à l'activation du système rénine-angiotensine intrarénal et l'activation myofibroblastique lors de néphropathie membraneuse idiopathique. (Mezzano & al., 2003) Le décours temporel et la variabilité d'expression en isoformes devraient aussi être considérés comme facteurs pouvant expliquer l'absence d'augmentation de TGF- β 1 pulmonaire post-infarctus. L'expression de facteurs de croissance, tel TGF- β , pourrait en effet varier selon l'évolution des changements pathologiques associés. Un tel phénomène serait retrouvé, par exemple, lors

de fibrose pulmonaire secondaire à l'irradiation (Rube & al., 2000) ou lors de la cicatrisation ventriculaire post-infarctus (Deten & al., 2001). Dans ce dernier modèle, une régulation temporelle des différents isoformes de TGF- β serait aussi observée (Deten & al., 2001), démontrant ainsi l'aspect dynamique du profil d'expression d'un tel facteur de croissance. Enfin, la sensibilité de la méthode utilisée pourrait une fois de plus être en jeu. En effet, la stimulation par voies autocrine/paracrine utiliserait des micro-domaines spécifiques à hautes concentrations de facteurs de croissance. Ces derniers seraient indétectables par immunobuvardage suivant l'homogénéisation du poumon et l'extraction totale des protéines.

Les résultats et les conclusions apportés par cette étude seraient pertinents à la maladie humaine. Bien qu'un épaissement du septum alvéolaire associé à une prolifération myofibroblastique et un dépôt excessif de composantes de la matrice extracellulaire pourrait empêcher le développement d'un oedème pulmonaire, la diminution de la perméabilité capillaire résultante modifierait aussi la capacité d'échange gazeux. (Huang & al., 2001 ; Kingsbury & al., 2003) Les anomalies respiratoires ainsi retrouvées chez le patient souffrant d'insuffisance cardiaque chronique comprendraient une diminution des volumes et de la compliance pulmonaires associées à une diminution de la capacité de diffusion du monoxyde de carbone. (Gehlbach & al., 2004) L'absence d'une amélioration des propriétés spécifiques à l'échange gazeux au niveau alvéolaire suivant une transplantation cardiaque et une

normalisation des facteurs hémodynamiques pulmonaires suggérerait en effet la présence de remodelage pulmonaire chez le patient souffrant d'insuffisance cardiaque chronique. (Hosenpud & al., 1990) L'angiotensine II pourrait jouer un rôle dans la pathogenèse de tels processus tissulaires chez l'humain. Les effets favorables d'un traitement aux inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine sur la conductance membranaire alvéolaire chez le patient insuffisant ont en effet été rapportés. (Guazzi & al., 1997 ; Guazzi & al., 1999 ; Guazzi & al., 1999b ; Guazzi & al., 2001) Le mécanisme utilisé ne semblerait pas de plus être relié à la simple diminution des pressions capillaires. (Guazzi & al., 1997 ; Guazzi & al., 1999b) Guazzi proposa même que celui-ci serait dépendant en partie de la modulation de la synthèse de la matrice extracellulaire et du renouvellement du collagène. (Guazzi, 2003) Nous voudrions donc élaborer plus amplement sur cette hypothèse, impliquant ainsi l'inhibition de la prolifération myofibroblastique secondaire à une diminution des concentrations d'angiotensine II suivant l'utilisation d'un inhibiteur de l'enzyme de conversion. Ce concept serait de plus soutenu par l'observation récente d'une relation entre le génotype de ECA, la capacité d'échange gazeux et l'intolérance à l'exercice chez le patient souffrant d'insuffisance cardiaque. (Abraham & al., 2002)

5 CONCLUSION

Suivant un infarctus du myocarde, une activation du système rénine-angiotensine pulmonaire est observée chez le rat. Celle-ci se caractérise par une augmentation des concentrations locales d'angiotensine II et une surexpression du récepteur AT1. L'expression du récepteur AT2, de même que celle du facteur de croissance TGF- β 1, ne sont cependant pas altérées. Les myofibroblastes, observés au niveau du septum alvéolaire, expriment abondamment les récepteurs de l'angiotensine II. Une infusion chronique de ce peptide chez des rats non-pathologiques ne résulte pas en l'induction des processus pathologiques nécessaires au remodelage pulmonaire, suggérant ainsi la nécessité d'autres facteurs présents lors d'insuffisance cardiaque. Ces derniers pourraient ainsi correspondre à l'activation d'autres médiateurs neuro-humoraux et/ou l'augmentation des pression capillaires pulmonaires subséquente à la congestion pulmonaire. Nos résultats démontrent donc que le système rénine-angiotensine pulmonaire pourrait contribuer au remodelage structurel du poumon post-infarctus de concert avec d'autres altérations pathologiques de la circulation pulmonaire. Ce système pourrait ainsi contribuer aux manifestations pulmonaires de l'insuffisance cardiaque.

6 RÉFÉRENCES

AbdAlla S, Lothar H, Quitterer U. AT1-receptor heterodimers show enhanced G-protein activation and altered receptor sequestration. *Nature*. 2000 Sep 7;407(6800):94-8.

AbdAlla S, Lothar H, Abdel-tawab AM, Quitterer U. The angiotensin II AT2 receptor is an AT1 receptor antagonist. *J Biol Chem*. 2001 Oct 26;276(43):39721-6.

AbdAlla S, Lothar H, Langer A, el Faramawy Y, Quitterer U. Factor XIIIa transglutaminase crosslinks AT1 receptor dimers of monocytes at the onset of atherosclerosis. *Cell*. 2004 Oct 29;119(3):343-54.

Abraham MR, Olson LJ, Joyner MJ, Turner ST, Beck KC, Johnson BD. Angiotensin-converting enzyme genotype modulates pulmonary function and exercise capacity in treated patients with congestive stable heart failure. *Circulation*. 2002 Oct 1;106(14):1794-9.

Adachi Y, Saito Y, Kishimoto I, Harada M, Kuwahara K, Takahashi N, Kawakami R, Nakanishi M, Nakagawa Y, Tanimoto K, Saitoh Y, Yasuno S, Usami S, Iwai M, Horiuchi M, Nakao K. Angiotensin II type 2 receptor deficiency exacerbates heart failure and reduces survival after acute myocardial infarction in mice. *Circulation*. 2003 May 20;107(19):2406-8.

Adamson IY, Young L, Bowden DH. Relationship of alveolar epithelial injury and repair to the induction of pulmonary fibrosis. *Am J Pathol*. 1988 Feb;130(2):377-83.

Agostoni PG, Bussotti M, Palermo P, Guazzi M. Does lung diffusion impairment affect exercise capacity in patients with heart failure? *Heart*. 2002 Nov;88(5):453-9.

Albiston AL, McDowall SG, Matsacos D, Sim P, Clune E, Mustafa T, Lee J, Mendelsohn FA, Simpson RJ, Connolly LM, Chai SY. Evidence that the angiotensin IV (AT(4)) receptor is the enzyme insulin-regulated aminopeptidase. *J Biol Chem*. 2001 Dec 28;276(52):48623-6.

Al-Rawas OA, Carter R, Stevenson RD, Naik SK, Wheatley DJ. The alveolar-capillary membrane diffusing capacity and the pulmonary capillary blood volume in heart transplant candidates. *Heart*. 2000 Feb;83(2):156-60.

Alvarez A, Cerda-Nicolas M, Naim Abu Nabah Y, Mata M, Issekutz AC, Panes J, Lobb RR, Sanz MJ. Direct evidence of leukocyte adhesion in arterioles by angiotensin II. *Blood*. 2004 Jul 15;104(2):402-8.

Anversa P, Nadal-Ginard B. Myocyte renewal and ventricular remodelling. *Nature*. 2002 Jan 10;415(6868):240-3. Review.

Arora PD, Narani N, McCulloch CA. The compliance of collagen gels regulates transforming growth factor-beta induction of alpha-smooth muscle actin in fibroblasts. *Am J Pathol*. 1999 Mar;154(3):871-82.

Aspenstrom P. The Rho GTPases have multiple effects on the actin cytoskeleton. *Exp Cell Res*. 1999 Jan 10;246(1):20-5. Review.

Attisano L, Wrana JL. Signal transduction by the TGF-beta superfamily. *Science*. 2002 May 31;296(5573):1646-7. Review.

Baker KM, Chernin MI, Wixson SK, Aceto JF. Renin-angiotensin system involvement in pressure-overload cardiac hypertrophy in rats. *Am J Physiol*. 1990 Aug;259(2 Pt 2):H324-32.

Barki-Harrington L, Luttrell LM, Rockman HA. Dual inhibition of beta-adrenergic and angiotensin II receptors by a single antagonist: a functional role for receptor-receptor interaction in vivo. *Circulation*. 2003 Sep 30;108(13):1611-8.

Batra V, Musani AI, Hastie AT, Khurana S, Carpenter KA, Zangrilli JG, Peters SP. Bronchoalveolar lavage fluid concentrations of transforming growth factor (TGF)-beta1, TGF-beta2, interleukin (IL)-4 and IL-13 after segmental allergen challenge and their effects on alpha-smooth muscle actin and collagen III synthesis by primary human lung fibroblasts. *Clin Exp Allergy*. 2004 Mar;34(3):437-44.

Beldent V, Michaud A, Wei L, Chauvet MT, Corvol P. Proteolytic release of human angiotensin-converting enzyme. Localization of the cleavage site. *J Biol Chem*. 1993 Dec 15;268(35):26428-34.

Bogatkevich GS, Tourkina E, Abrams CS, Harley RA, Silver RM, Ludwicka-Bradley A. Contractile activity and smooth muscle alpha-actin organization in thrombin-induced human lung myofibroblasts. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2003 Aug;285(2):L334-43.

Bonner JC, Lindroos PM, Rice AB, Moomaw CR, Morgan DL. Induction of PDGF receptor-alpha in rat myofibroblasts during pulmonary fibrogenesis in vivo. *Am J Physiol*. 1998 Jan;274(1 Pt 1):L72-80.

Border WA, Noble NA. Transforming growth factor beta in tissue fibrosis. *N Engl J Med*. 1994 Nov 10;331(19):1286-92. Review.

Bostrom H, Willetts K, Pekny M, Leveen P, Lindahl P, Hedstrand H, Pekna M, Hellstrom M, Gebre-Medhin S, Schalling M, Nilsson M, Kurland S, Tornell J, Heath JK, Betsholtz C. PDGF-A signaling is a critical event in lung alveolar myofibroblaste development and alveogenesis. *Cell*. 1996 Jun 14;85(6):863-73.

Brasier AR, Li J. Mechanisms for inducible control of angiotensinogen gene transcription. *Hypertension*. 1996 Mar;27(3 Pt 2):465-75. Review.

Broaddus VC, Wiener-Kronish JP, Staub NC. Clearance of lung edema into the pleural space of volume-loaded anesthetized sheep. *J Appl Physiol*. 1990 Jun;68(6):2623-30.

Brogelli L, Parenti A, Ledda F. Inhibition of vascular smooth muscle cell growth by angiotensin type 2 receptor stimulation for in vitro organ culture model. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2002 May;39(5):739-45.

Budhiraja R, Tuder RM, Hassoun PM. Endothelial dysfunction in pulmonary hypertension. *Circulation*. 2004 Jan 20;109(2):159-65. Review.

Bullock GR, Steyaert I, Bilbe G, Carey RM, Kips J, De Paepe B, Pauwels R, Praet M, Siragy HM, de Gasparo M. Distribution of type-1 and type-2 angiotensin receptors in the normal human lung and in lungs from patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Histochem Cell Biol*. 2001 Feb;115(2):117-24.

Campbell DJ, Habener JF. Angiotensinogen gene is expressed and differentially regulated in multiple tissues of the rat. *J Clin Invest*. 1986 Jul;78(1):31-9.

Campbell DJ, Habener JF. Hybridization in situ studies of angiotensinogen gene expression in rat adrenal and lung. *Endocrinology*. 1989 Jan;124(1):218-22.

Campbell DJ, Kladis A, Valentijn AJ. Effects of losartan on angiotensin and bradykinin peptides and angiotensin-converting enzyme. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1995 Aug;26(2):233-40.

Campbell SE, Katwa LC. Angiotensin II stimulated expression of transforming growth factor-beta1 in cardiac fibroblasts and myofibroblasts. *J Mol Cell Cardiol*. 1997 Jul;29(7):1947-58.

Cassis L, Shenoy U, Lipke D, Baughn J, Fetting M, Gillespie M. Lung angiotensin receptor binding characteristics during the development of monocrotaline-induced pulmonary hypertension. *Biochem Pharmacol.* 1997 Jul 1;54(1):27-31.

Chapman HA. Disorders of lung matrix remodeling. *J Clin Invest.* 2004 Jan;113(2):148-57. Review.

Chassagne C, Eddahibi S, Adamy C, Rideau D, Marotte F, Dubois-Rande JL, Adnot S, Samuel JL, Teiger E. Modulation of angiotensin II receptor expression during development and regression of hypoxic pulmonary hypertension. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2000 Mar;22(3):323-32.

Chiavegato A, Bochaton-Piallat ML, D'Amore E, Sartore S, Gabbiani G. Expression of myosin heavy chain isoforms in mammary epithelial cells and in myofibroblasts from different fibrotic settings during neoplasia. *Virchows Arch.* 1995;426(1):77-86.

Chiu AT, Herblin WF, McCall DE, Ardecky RJ, Carini DJ, Duncia JV, Pease LJ, Wong PC, Wexler RR, Johnson AL, et al. Identification of angiotensin II receptor subtypes. *Biochem Biophys Res Commun.* 1989 Nov 30;165(1):196-203.

Chung O, Stoll M, Unger T. Physiologic and pharmacologic implications of AT1 versus AT2 receptors. *Blood Press Suppl.* 1996;2:47-52. Review.

Clauser E, Gaillard I, Wei L, Corvol P. Regulation of angiotensinogen gene. *Am J Hypertens.* 1989 May;2(5 Pt 1):403-10. Review.

Clerici C, Matthay MA. Hypoxia regulates gene expression of alveolar epithelial transport proteins. *J Appl Physiol.* 2000 May;88(5):1890-6. Review.

Clough G. Relationship between microvascular permeability and ultrastructure. *Prog Biophys Mol Biol.* 1991;55(1):47-69. Review.

Cohn JN, Levine TB, Olivari MT, Garberg V, Lura D, Francis GS, Simon AB, Rector T. Plasma norepinephrine as a guide to prognosis in patients with chronic congestive heart failure. *N Engl J Med.* 1984 Sep 27;311(13):819-23.

Colucci WS, Elkayam U, Horton DP, Abraham WT, Bourge RC, Johnson AD, Wagoner LE, Givertz MM, Liang CS, Neibaur M, Haught WH, LeJemtel TH. Intravenous nesiritide, a natriuretic peptide, in the treatment of decompensated congestive heart failure. Nesiritide Study Group. *N Engl J Med.* 2000 Jul 27;343(4):246-53.

Corvol P, Williams TA, Soubrier F. Peptidyl dipeptidase A: angiotensin I-converting enzyme. *Methods Enzymol.* 1995;248:283-305. Review.

Costello ML, Mathieu-Costello O, West JB. Stress failure of alveolar epithelial cells studied by scanning electron microscopy. *Am Rev Respir Dis.* 1992 Jun;145(6):1446-55.

Culman J, Blume A, Gohlke P, Unger T. The renin-angiotensin system in the brain: possible therapeutic implications for AT(1)-receptor blockers. *J Hum Hypertens.* 2002 Aug;16 Suppl 3:S64-70. Review.

Cutaia M, Rounds S. Hypoxic pulmonary vasoconstriction. Physiologic significance, mechanism, and clinical relevance. *Chest.* 1990 Mar;97(3):706-18. Review.

Danser AH. Local renin-angiotensin systems: the unanswered questions. *Int J Biochem Cell Biol.* 2003 Jun;35(6):759-68. Review.

Darby I, Skalli O, Gabbiani G. Alpha-smooth muscle actin is transiently expressed by myofibroblasts during experimental wound healing. *Lab Invest.* 1990 Jul;63(1):21-9.

Dargie H. Heart failure post-myocardial infarction: a review of the issues. *Heart.* 2005 May;91 Suppl 2:ii3-6; discussion ii31, ii43-8. Review.

Davies SW, Bailey J, Keegan J, Balcon R, Rudd RM, Lipkin DP. Reduced pulmonary microvascular permeability in severe chronic left heart failure. *Am Heart J.* 1992 Jul;124(1):137-42.

de Gasparo M, Whitebread S, Mele M, Motani AS, Whitcombe PJ, Ramjouw HP, Kamber B. Biochemical characterization of two angiotensin II receptor subtypes in the rat. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1990;16 Suppl 4:S31-5.

de Gasparo M, Catt KJ, Inagami T, Wright JW, Unger T. International union of pharmacology. XXIII. The angiotensin II receptors. *Pharmacol Rev.* 2000 Sep;52(3):415-72. Review.

De Paolis P, Porcellini A, Gigante B, Giliberti R, Lombardi A, Savoia C, Rubattu S, Volpe M. Modulation of the AT2 subtype receptor gene activation and expression by the AT1 receptor in endothelial cells. *J Hypertens.* 1999 Dec;17(12 Pt 2):1873-7

De Pasquale CG, Arnolda LF, Doyle IR, Grant RL, Aylward PE, Bersten AD. Prolonged alveolocapillary barrier damage after acute cardiogenic pulmonary edema. *Crit Care Med.* 2003 Apr;31(4):1060-7.

Derkx FH, Schalekamp MA. Human prorenin: pathophysiology and clinical implications. *Clin Exp Hypertens A*. 1988;10(6):1213-25. Review.

Deschepper CF, Mellon SH, Cumin F, Baxter JD, Ganong WF. Analysis by immunocytochemistry and in situ hybridization of renin and its mRNA in kidney, testis, adrenal, and pituitary of the rat. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1986 Oct;83(19):7552-6.

Deslauriers B, Ponce C, Lombard C, Languier R, Bonnafous JC, Marie J. N-glycosylation requirements for the AT1a angiotensin II receptor delivery to the plasma membrane. *Biochem J*. 1999 Apr 15;339 (Pt 2):397-405.

Deten A, Holzl A, Leicht M, Barth W, Zimmer HG. Changes in extracellular matrix and in transforming growth factor beta isoforms after coronary artery ligation in rats. *J Mol Cell Cardiol*. 2001 Jun;33(6):1191-207.

Dimopoulou I, Daganou M, Tsintzas OK, Tzelepis GE. Effects of severity of long standing congestive heart failure on pulmonary function. *Respir Med*. 1998 Dec;92(12):1321-5.

Dincer HE, Gangopadhyay N, Wang R, Uhal BD. Norepinephrine induces alveolar epithelial apoptosis mediated by alpha-, beta-, and angiotensin receptor activation. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2001 Sep;281(3):L624-30.

Don BR, Schambelan M. Endocrine Hypertension. In: Greenspan FS, Gardner DG. *Basic & Clinical Endocrinology*. Lange Medical Books/McGraw-Hill Medical Publishing Division, New York, 2001, 6^{ième} éd.

Donoghue M, Hsieh F, Baronas E, Godbout K, Gosselin M, Stagliano N, Donovan M, Woolf B, Robison K, Jeyaseelan R, Breitbart RE, Acton S. A novel angiotensin-converting enzyme-related carboxypeptidase (ACE2) converts angiotensin I to angiotensin 1-9. *Circ Res*. 2000 Sep 1;87(5):E1-9.

Drake RE, Doursout MF. Pulmonary edema and elevated left atrial pressure: four hours and beyond. *News Physiol Sci*. 2002 Dec;17:223-6. Review.

Dubois CM, Laprise MH, Blanchette F, Gentry LE, Leduc R. Processing of transforming growth factor beta 1 precursor by human furin convertase. *J Biol Chem*. 1995 May 5;270(18):10618-24.

Duncan AM, Burrell LM, Kladis A, Campbell DJ. Angiotensin and bradykinin peptides in rats with myocardial infarction. *J Card Fail*. 1997 Mar;3(1):41-52.

Dupuis J. Increased endothelin levels in congestive heart failure: does it come from the lungs? Does it matter? *Cardiovasc Res.* 2004 Jul 1;63(1):5-7.

Dyer GSM, Fifer MA. Heart Failure. In: Lilly LS. Pathophysiology of heart disease. Lippincott William & Wilkins, Baltimore, 2003, 3^{ième} éd.

Dzau VJ, Burt DW, Pratt RE. Molecular biology of the renin-angiotensin system. *Am J Physiol.* 1988 Oct;255(4 Pt 2):F563-73. Review.

Dzau VJ. Tissue renin-angiotensin system in myocardial hypertrophy and failure. *Arch Intern Med.* 1993 Apr 26;153(8):937-42. Review.

Ehlers MR, Riordan JF. Angiotensin-converting enzyme: zinc- and inhibitor-binding stoichiometries of the somatic and testis isozymes. *Biochemistry.* 1991 Jul 23;30(29):7118-26.

Eickelberg O, Kohler E, Reichenberger F, Bertschin S, Woodtli T, Erne P, Perruchoud AP, Roth M. Extracellular matrix deposition by primary human lung fibroblasts in response to TGF-beta1 and TGF-beta3. *Am J Physiol.* 1999 May;276(5 Pt 1):L814-24.

Ekker M, Tronik D, Rougeon F. Extra-renal transcription of the renin genes in multiple tissues of mice and rats. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1989 Jul;86(13):5155-8.

Eklund A, Blaschke E. Relationship between changed alveolar-capillary permeability and angiotensin converting enzyme activity in serum in sarcoidosis. *Thorax.* 1986 Aug;41(8):629-34.

Elferink JG, de Koster BM. The stimulation of human neutrophil migration by angiotensin IL: its dependence on Ca²⁺ and the involvement of cyclic GMP. *Br J Pharmacol.* 1997 Jun;121(4):643-8.

Entzeroth M, Hadamovsky S. Angiotensin II receptors in the rat lung are of the AII-1 subtype. *Eur J Pharmacol.* 1991 Mar 25;206(3):237-41.

Erdos EG. Angiotensin I converting enzyme and the changes in our concepts through the years. Lewis K. Dahl memorial lecture Hypertension. 1990 Oct;16(4):363-70. Review

Field LJ, McGowan RA, Dickinson DP, Gross KW. Tissue and gene specificity of mouse renin expression. *Hypertension.* 1984 Jul-Aug;6(4):597-603.

Finckenberg P, Inkinen K, Ahonen J, Merasto S, Louhelainen M, Vapaatalo H, Muller D, Ganten D, Luft F, Mervaala E. Angiotensin II induces connective

tissue growth factor gene expression via calcineurin-dependent pathways. *Am J Pathol.* 2003 Jul;163(1):355-66.

Fireman E, Schwartz Y, Mann A, Greif J. Effect of montelukast, a cysteinyl receptor antagonist, on myofibroblasts in interstitial lung disease. *J Clin Immunol.* 2004 Jul;24(4):418-25.

Ford CM, Li S, Pickering JG. Angiotensin II stimulates collagen synthesis in human vascular smooth muscle cells. Involvement of the AT(1) receptor, transforming growth factor-beta, and tyrosine phosphorylation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1999 Aug;19(8):1843-51.

Francis GS, Benedict C, Johnstone DE, Kirlin PC, Nicklas J, Liang CS, Kubo SH, Rudin-Toretsky E, Yusuf S. Comparison of neuroendocrine activation in patients with left ventricular dysfunction with and without congestive heart failure. A substudy of the Studies of Left Ventricular Dysfunction (SOLVD). *Circulation.* 1990 Nov;82(5):1724-9.

Frangogiannis NG, Michael LH, Entman ML. Myofibroblasts in reperfused myocardial infarcts express the embryonic form of smooth muscle myosin heavy chain (SMemb). *Cardiovasc Res.* 2000 Oct;48(1):89-100.

Frangogiannis NG, Smith CW, Entman ML. The inflammatory response in myocardial infarction. *Cardiovasc Res.* 2002 Jan;53(1):31-47. Review.

Fujita J, Ohtsuki Y, Suemitsu I, Yamadori I, Shigeto E, Shiode M, Nishimura K, Hirayama T, Matsushima T, Ishida T. Immunohistochemical distribution of epithelioid cell, myofibroblast, and transforming growth factor-beta1 in the granuloma caused by *Mycobacterium avium* intracellulare complex pulmonary infection. *Microbiol Immunol.* 2002;46(2):67-74.

Furuya K, Furuya S, Yamagishi S. Intracellular calcium responses and shape conversions induced by endothelin in cultured subepithelial fibroblasts of rat duodenal villi. *Pflugers Arch.* 1994 Sep;428(2):97-104.

Gabbiani G, Ryan GB, Lamelin JP, Vassalli P, Majno G, Bouvier CA, Cruchaud A, Luscher EF. Human smooth muscle autoantibody. Its identification as antiactin antibody and a study of its binding to "nonmuscular" cells. *Am J Pathol.* 1973 Sep;72(3):473-88.

Gabbiani G. Some historical and philosophical reflections on the myofibroblast concept. *Curr Top Pathol.* 1999;93:1-5. Review.

Gabbiani G. The myofibroblast in wound healing and fibrocontractive diseases. *J Pathol.* 2003 Jul;200(4):500-3. Review.

Gaertner R, Prunier F, Philippe M, Louedec L, Mercadier JJ, Michel JB. Scar and pulmonary expression and shedding of ACE in rat myocardial infarction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2002 Jul;283(1):H156-64.

Gallinat S, Busche S, Raizada MK, Summers C. The angiotensin II type 2 receptor: an enigma with multiple variations. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2000 Mar;278(3):E357-74. Review.

Gasc JM, Shanmugam S, Sibony M, Corvol P. Tissue-specific expression of type 1 angiotensin II receptor subtypes. An in situ hybridization study. *Hypertension*. 1994 Nov;24(5):531-7.

Gehlbach BK, Geppert E. The pulmonary manifestations of left heart failure. *Chest*. 2004 Feb;125(2):669-82. Review.

Genest J, Rojo-Ortega JM, Kuchel O, Boucher R, Nowaczynski W, Lefebvre R, Chretien M, Cantin J, Granger P. Malignant hypertension with hypokalemia in a patient with renin-producing pulmonary carcinoma. *Trans Assoc Am Physicians*. 1975;88:192-201.

Ghio S, Gavazzi A, Campana C, Inserra C, Klersy C, Sebastiani R, Arbustini E, Recusani F, Tavazzi L. Independent and additive prognostic value of right ventricular systolic function and pulmonary artery pressure in patients with chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol*. 2001 Jan;37(1):183-8.

Giri SN, Hyde DM, Hollinger MA. Effect of antibody to transforming growth factor beta on bleomycin induced accumulation of lung collagen in mice. *Thorax*. 1993 Oct;48(10):959-66.

Glazier JB, Hughes JM, Maloney JE, West JB. Measurements of capillary dimensions and blood volume in rapidly frozen lungs. *J Appl Physiol*. 1969 Jan;26(1):65-76.

Graf K, Neuss M, Stawowy P, Hsueh WA, Fleck E, Law RE. Angiotensin II and alpha(v)beta(3) integrin expression in rat neonatal cardiac fibroblasts. *Hypertension*. 2000 Apr;35(4):978-84.

Grafe M, Auch-Schwelk W, Zakrzewicz A, Regitz-Zagrosek V, Bartsch P, Graf K, Loebe M, Gaehtgens P, Fleck E. Angiotensin II-induced leukocyte adhesion on human coronary endothelial cells is mediated by E-selectin. *Circ Res*. 1997 Nov;81(5):804-11.

Gressner AM. Transdifferentiation of hepatic stellate cells (Ito cells) to myofibroblasts: a key event in hepatic fibrogenesis. *Kidney Int Suppl*. 1996 May;54:S39-45. Review.

Grinnell F, Ho CH, Lin YC, Skuta G. Differences in the regulation of fibroblast contraction of floating versus stressed collagen matrices. *J Biol Chem*. 1999 Jan 8;274(2):918-23.

Gronhagen-Riska C, Kurppa K, Fyhrquist F, Selroos O. Angiotensin-converting enzyme and lysozyme in silicosis and asbestosis. *Scand J Respir Dis*. 1978 Aug;59(4):228-31.

Gruden G, Thomas S, Burt D, Zhou W, Chusney G, Gnudi L, Viberti G. Interaction of angiotensin II and mechanical stretch on vascular endothelial growth factor production by human mesangial cells. *J Am Soc Nephrol*. 1999 Apr;10(4):730-7.

Guazzi M. Alveolar-capillary membrane dysfunction in chronic heart failure: pathophysiology and therapeutic implications. *Clin Sci (Lond)*. 2000 Jun;98(6):633-41. Review.

Guazzi M. Alveolar-capillary membrane dysfunction in heart failure: evidence of a pathophysiologic role. *Chest*. 2003 Sep;124(3):1090-102. Review.

Guazzi M, Marenzi G, Alimento M, Contini M, Agostoni P. Improvement of alveolar-capillary membrane diffusing capacity with enalapril in chronic heart failure and counteracting effect of aspirin. *Circulation*. 1997 Apr 1;95(7):1930-6.

Guazzi M, Melzi G, Marenzi GC, Agostoni P. Angiotensin-converting enzyme inhibition facilitates alveolar-capillary gas transfer and improves ventilation-perfusion coupling in patients with left ventricular dysfunction. *Clin Pharmacol Ther*. 1999 Mar;65(3):319-27.

Guazzi M, Agostoni P. Angiotensin-converting enzyme inhibition restores the diffusing capacity for carbon monoxide in patients with chronic heart failure by improving the molecular diffusion across the alveolar capillary membrane. *Clin Sci (Lond)*. 1999b Jan;96(1):17-22.

Guazzi M, Agostoni P, Guazzi MD. Modulation of alveolar-capillary sodium handling as a mechanism of protection of gas transfer by enalapril, and not by losartan, in chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol*. 2001 Feb;37(2):398-406.

Guazzi M, Agostoni P, Guazzi MD. Alveolar-capillary gas exchange and exercise performance in heart failure. *Am J Cardiol*. 2001 Aug 15;88(4):452-7.

Guazzi M, Pontone G, Brambilla R, Agostoni P, Reina G. Alveolar-capillary membrane gas conductance: a novel prognostic indicator in chronic heart failure. *Eur Heart J*. 2002 Mar;23(6):467-76.

Guyton AC, Hall JE. Cardiac Failure. In: Guyton AC, Hall JE. Textbook of Medical Physiology. W.B. Saunders Company, Philadelphia, 2000, 10^{ième} éd.

Guyton AC, Hall JE. Pulmonary Circulation; Pulmonary Edema; Pleural Fluid. In: Guyton AC, Hall JE. Textbook of Medical Physiology. W.B. Saunders Company, Philadelphia, 2000b, 10^{ième} éd.

Hackenthal E, Paul M, Ganten D, Taugner R. Morphology, physiology, and molecular biology of renin secretion. *Physiol Rev.* 1990 Oct;70(4):1067-116. Review.

Halliday NL, Tomasek JJ. Mechanical properties of the extracellular matrix influence fibronectin fibril assembly in vitro. *Exp Cell Res.* 1995 Mar;217(1):109-17.

Hao J, Wang B, Jones SC, Jassal DS, Dixon IM. Interaction between angiotensin II and Smad proteins in fibroblasts in failing heart and in vitro. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2000 Dec;279(6):H3020-30.

Hardiman KM, Matalon S. Modification of sodium transport and alveolar fluid clearance by hypoxia: mechanisms and physiological implications. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2001 Nov;25(5):538-41. Review.

Hashimoto S, Gon Y, Takeshita I, Matsumoto K, Maruoka S, Horie T. Transforming growth Factor-beta1 induces phenotypic modulation of human lung fibroblasts to myofibroblast through a c-Jun-NH2-terminal kinase-dependent pathway. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001 Jan;163(1):152-7.

Heard BE, Steiner RE, Herdan A, Gleason D. Oedema and fibrosis of the lungs in left ventricular failure. *Br J Radiol.* 1968 Mar;41(483):161-71.

Heitsch H. The therapeutic potential of bradykinin B2 receptor agonists in the treatment of cardiovascular disease. *Expert Opin Investig Drugs.* 2003 May;12(5):759-70. Review.

Hinz B, Mastrangelo D, Iselin CE, Chaponnier C, Gabbiani G. Mechanical tension controls granulation tissue contractile activity and myofibroblast differentiation. *Am J Pathol.* 2001 Sep;159(3):1009-20.

Hocking DC, Phillips PG, Ferro TJ, Johnson A. Mechanisms of pulmonary edema induced by tumor necrosis factor-alpha. *Circ Res.* 1990 Jul;67(1):68-77.

Hogaboam CM, Smith RE, Kunkel SL. Dynamic interactions between lung fibroblasts and leukocytes: implications for fibrotic lung disease. *Proc Assoc Am Physicians.* 1998 Jul-Aug;110(4):313-20. Review.

Hosenpud JD, Stibolt TA, Atwal K, Shelley D. Abnormal pulmonary function specifically related to congestive heart failure: comparison of patients before and after cardiac transplantation. *Am J Med.* 1990 May;88(5):493-6.

Hsueh WA, Baxter JD. Human prorenin. *Hypertension.* 1991 Apr;17(4):469-77. Review.

Hu B, Wu Z, Phan SH. Smad3 mediates transforming growth factor-beta-induced alpha-smooth muscle actin expression. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2003 Sep;29(3 Pt 1):397-404.

Huang H, Arnal JF, Llorens-Cortes C, Challah M, Alhenc-Gelas F, Corvol P, Michel JB. Discrepancy between plasma and lung angiotensin-converting enzyme activity in experimental congestive heart failure. A novel aspect of endothelium dysfunction. *Circ Res.* 1994 Sep;75(3):454-61.

Huang W, Kingsbury MP, Turner MA, Donnelly JL, Flores NA, Sheridan DJ. Capillary filtration is reduced in lungs adapted to chronic heart failure: morphological and haemodynamic correlates. *Cardiovasc Res.* 2001 Jan;49(1):207-17.

Huber K, Maurer G. Thrombolytic therapy in acute myocardial infarction. *Semin Thromb Hemost.* 1996;22(1):15-26. Review.

Husain AN, Kumar V. The Lung. In: Kumar B, Abbas AK, Fausto N. *Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease.* Elsevier Saunders, Philadelphia, 2005, 7^{ème} éd.

Ichihara S, Senbonmatsu T, Price E Jr, Ichiki T, Gaffney FA, Inagami T. Angiotensin II type 2 receptor is essential for left ventricular hypertrophy and cardiac fibrosis in chronic angiotensin II-induced hypertension. *Circulation.* 2001 Jul 17;104(3):346-51.

Ichiki T, Labosky PA, Shiota C, Okuyama S, Imagawa Y, Fogo A, Niimura F, Ichikawa I, Hogan BL, Inagami T. Effects on blood pressure and exploratory behaviour of mice lacking angiotensin II type-2 receptor. *Nature.* 1995 Oct 26;377(6551):748-50.

Ichiki Y, Smith E, LeRoy EC, Trojanowska M. Different effects of basic fibroblast growth factor and transforming growth factor-beta on the two platelet-derived growth factor receptors' expression in scleroderma and healthy human dermal fibroblasts. *J Invest Dermatol.* 1995 Jan;104(1):124-7.

Idell S, Kueppers F, Lippmann M, Rosen H, Niederman M, Fein A. Angiotensin converting enzyme in bronchoalveolar lavage in ARDS. *Chest.* 1987 Jan;91(1):52-6.

Igarashi A, Okochi H, Bradham DM, Grotendorst GR. Regulation of connective tissue growth factor gene expression in human skin fibroblasts and during wound repair. *Mol Biol Cell*. 1993 Jun;4(6):637-45.

Itoh H, Mukoyama M, Pratt RE, Gibbons GH, Dzau VJ. Multiple autocrine growth factors modulate vascular smooth muscle cell growth response to angiotensin II. *J Clin Invest*. 1993 May;91(5):2268-74.

Jasmin JF, Calderone A, Leung TK, Villeneuve L, Dupuis J. Lung structural remodeling and pulmonary hypertension after myocardial infarction: complete reversal with irbesartan. *Cardiovasc Res*. 2003 Jun 1;58(3):621-31.

Jasmin JF, Mercier I, Hnasko R, Cheung MW, Tanowitz HB, Dupuis J, Lisanti MP. Lung remodeling and pulmonary hypertension after myocardial infarction: pathogenic role of reduced caveolin expression. *Cardiovasc Res*. 2004 Sep 1;63(4):747-55.

Jayadev S, Smith RD, Jagadeesh G, Baukal AJ, Hunyady L, Catt KJ. N-linked glycosylation is required for optimal AT1a angiotensin receptor expression in COS-7 cells. *Endocrinology*. 1999 May;140(5):2010-7.

Jeffery TK, Morrell NW. Molecular and cellular basis of pulmonary vascular remodeling in pulmonary hypertension. *Prog Cardiovasc Dis*. 2002 Nov-Dec;45(3):173-202. Review.

Johns DW, Peach MJ, Gomez RA, Inagami T, Carey RM. Angiotensin II regulates renin gene expression. *Am J Physiol*. 1990 Dec;259(6 Pt 2):F882-7.

Kapanci Y, Burgan S, Pietra GG, Conne B, Gabbiani G. Modulation of actin isoform expression in alveolar myofibroblasts (contractile interstitial cells) during pulmonary hypertension. *Am J Pathol*. 1990 Apr;136(4):881-9.

Kapanci Y, Ribaux C, Chaponnier C, Gabbiani G. Cytoskeletal features of alveolar myofibroblasts and pericytes in normal human and rat lung. *J Histochem Cytochem*. 1992 Dec;40(12):1955-63.

Kasper M, Lackie P, Haase M, Schuh D, Muller M. Immunolocalization of cathepsin D in pneumocytes of normal human lung and in pulmonary fibrosis. *Virchows Arch*. 1996 Jul;428(4-5):207-15.

Katwa LC, Campbell SE, Tyagi SC, Lee SJ, Cicila GT, Weber KT. Cultured myofibroblasts generate angiotensin peptides de novo. *J Mol Cell Cardiol*. 1997 May;29(5):1375-86.

- Katwa LC. Cardiac myofibroblasts isolated from the site of myocardial infarction express endothelin de novo. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2003 Sep;285(3):H1132-9.
- Kawai K, Fukamizu A, Kawakami Y, Matsumura M, Mitsui K, Murakami K, Yamashita K. A case of renin producing leiomyosarcoma originating in the lung. *Endocrinol Jpn*. 1991 Dec;38(6):603-9.
- Kay JM, Edwards FR. Ultrastructure of the alveolar-capillary wall in mitral stenosis. *J Pathol*. 1973 Dec;111(4):239-45.
- Keeton TK, Campbell WB. The pharmacologic alteration of renin release. *Pharmacol Rev*. 1980 Jun;32(2):81-227. Review.
- Kelly MP, Kahr O, Aalkjaer C, Cumin F, Samani NJ. Tissue expression of components of the renin-angiotensin system in experimental post-infarction heart failure in rats: effects of heart failure and angiotensin-converting enzyme inhibitor treatment. *Clin Sci (Lond)*. 1997 May;92(5):455-65.
- Khalil N, O'Connor RN, Unruh HW, Warren PW, Flanders KC, Kemp A, Berezney OH, Greenberg AH. Increased production and immunohistochemical localization of transforming growth factor-beta in idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 1991 Aug;5(2):155-62.
- Kijima K, Matsubara H, Murasawa S, Maruyama K, Mori Y, Ohkubo N, Komuro I, Yazaki Y, Iwasaka T, Inada M. Mechanical stretch induces enhanced expression of angiotensin II receptor subtypes in neonatal rat cardiac myocytes. *Circ Res*. 1996 Oct;79(4):887-97.
- Kim S, Hosoi M, Nakajima K, Yamamoto K. Immunological evidence that kidney is primary source of circulating inactive prorenin in rats. *Am J Physiol*. 1991 Apr;260(4 Pt 1):E526-36.
- Kingsbury MP, Huang W, Donnelly JL, Jackson E, Needham E, Turner MA, Sheridan DJ. Structural remodelling of lungs in chronic heart failure. *Basic Res Cardiol*. 2003 Sep;98(5):295-303.
- Klett C, Muller F, Gierschik P, Hackenthal E. Angiotensin II stimulates angiotensinogen synthesis in hepatocytes by a pertussis toxin-sensitive mechanism. *FEBS Lett*. 1990 Jan 1;259(2):301-4.
- Klodell CT Jr. Secondary pulmonary hypertension: a review of the cardiac causes. *J Cardiovasc Nurs*. 2005 Mar-Apr;20(2):119-23. Review.

Kohno M, Yokokawa K, Kano H, Yasunari K, Minami M, Hanehira T, Yoshikawa J. Adrenomedullin is a potent inhibitor of angiotensin II-induced migration of human coronary artery smooth muscle cells. *Hypertension*. 1997 Jun;29(6):1309-13.

Koibuchi Y, Lee WS, Gibbons GH, Pratt RE. Role of transforming growth factor-beta 1 in the cellular growth response to angiotensin II. *Hypertension*. 1993 Jun;21(6 Pt 2):1046-50.

Kumar RS, Kusari J, Roy SN, Soffer RL, Sen GC. Structure of testicular angiotensin-converting enzyme. A segmental mosaic isozyme. *J Biol Chem*. 1989 Oct 5;264(28):16754-8.

Kumar RS, Thekkumkara TJ, Sen GC. The mRNAs encoding the two angiotensin-converting isozymes are transcribed from the same gene by a tissue-specific choice of alternative transcription initiation sites. *J Biol Chem*. 1991 Feb 25;266(6):3854-62.

Kurisu S, Ozono R, Oshima T, Kambe M, Ishida T, Sugino H, Matsuura H, Chayama K, Teranishi Y, Iba O, Amano K, Matsubara H. Cardiac angiotensin II type 2 receptor activates the kinin/NO system and inhibits fibrosis. *Hypertension*. 2003 Jan;41(1):99-107.

Lanctot PM, Leclerc PC, Escher E, Leduc R, Guillemette G. Role of N-glycosylation in the expression and functional properties of human AT1 receptor. *Biochemistry*. 1999 Jul 6;38(27):8621-7.

Lasky JA, Ortiz LA, Tonthat B, Hoyle GW, Corti M, Athas G, Lungarella G, Brody A, Friedman M. Connective tissue growth factor mRNA expression is upregulated in bleomycin-induced lung fibrosis. *Am J Physiol*. 1998 Aug;275(2 Pt 1):L365-71.

Lee DS, Johansen H, Gong Y, Hall RE, Tu JV, Cox JL; Canadian Cardiovascular Outcomes Research Team. Regional outcomes of heart failure in Canada. *Can J Cardiol*. 2004 May 1;20(6):599-607.

Lee YS. Electron microscopic studies on the alveolar-capillary barrier in the patients of chronic pulmonary edema. *Jpn Circ J*. 1979 Oct;43(10):945-54.

Lees KR, MacFadyen RJ, Doig JK, Reid JL. Role of angiotensin in the extravascular system. *J Hum Hypertens*. 1993 Aug;7 Suppl 2:S7-12. Review.

Leslie KO, Mitchell JJ, Woodcock-Mitchell JL, Low RB. Alpha smooth muscle actin expression in developing and adult human lung. *Differentiation*. 1990 Aug;44(2):143-9.

Levens NR. Control of intestinal absorption by the renin-angiotensin system. *Am J Physiol*. 1985 Jul;249(1 Pt 1):G3-15. Review.

Li JY, Avallet O, Berthelon MC, Langlois D, Saez JM. Transcriptional and translational regulation of angiotensin II type 2 receptor by angiotensin II and growth factors. *Endocrinology*. 1999 Nov;140(11):4988-94.

Li X, Zhang H, Soledad-Conrad V, Zhuang J, Uhal BD. Bleomycin-induced apoptosis of alveolar epithelial cells requires angiotensin synthesis de novo. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2003 Mar;284(3):L501-7.

Li X, Rayford H, Shu R, Zhuang J, Uhal BD. Essential role for cathepsin D in bleomycin-induced apoptosis of alveolar epithelial cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2004 Jul;287(1):L46-51.

Li Z, Iwai M, Wu L, Shiuchi T, Jinno T, Cui TX, Horiuchi M. Role of AT2 receptor in the brain in regulation of blood pressure and water intake. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2003 Jan;284(1):H116-21.

Lieberman J. Elevation of serum angiotensin-converting-enzyme (ACE) level in sarcoidosis. *Am J Med*. 1975 Sep;59(3):365-72.

Llorens-Cortes C, Greenberg B, Huang H, Corvol P. Tissue expression and regulation of type 1 angiotensin II receptor subtypes by quantitative reverse transcriptase-polymerase chain reaction analysis. *Hypertension*. 1994 Nov;24(5):538-48.

Lorell BH, Carabello BA. Left ventricular hypertrophy: pathogenesis, detection, and prognosis. *Circulation*. 2000 Jul 25;102(4):470-9. Review.

MacLellan WR. Advances in the molecular mechanisms of heart failure. *Curr Opin Cardiol*. 2000 May;15(3):128-35. Review.

Malhotra R, Sadoshima J, Brosius FC 3rd, Izumo S. Mechanical stretch and angiotensin II differentially upregulate the renin-angiotensin system in cardiac myocytes *In vitro*. *Circ Res*. 1999 Jul 23;85(2):137-46

Mann DL, Kent RL, Parsons B, Cooper G 4th. Adrenergic effects on the biology of the adult mammalian cardiocyte. *Circulation*. 1992 Feb;85(2):790-804.

Marshall RP, McAnulty RJ, Laurent GJ. Angiotensin II is mitogenic for human lung fibroblasts via activation of the type 1 receptor. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000 Jun;161(6):1999-2004.

Marshall RP. The pulmonary renin-angiotensin system. *Curr Pharm Des.* 2003;9(9):715-22. Review.

Marshall RP, Gohlke P, Chambers RC, Howell DC, Bottoms SE, Unger T, McAnulty RJ, Laurent GJ. Angiotensin II and the fibroproliferative response to acute lung injury. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2004 Jan;286(1):L156-64.

Massague J. How cells read TGF-beta signals. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2000 Dec;1(3):169-78. Review.

Mata-Greenwood E, Meyrick B, Steinhorn RH, Fineman JR, Black SM. Alterations in TGF-beta1 expression in lambs with increased pulmonary blood flow and pulmonary hypertension. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2003 Jul;285(1):L209-21.

Mayer DC, Leinwand LA. Sarcomeric gene expression and contractility in myofibroblasts. *J Cell Biol.* 1997 Dec 15;139(6):1477-84.

McLaughlin VV, Rich S. Pulmonary hypertension. *Curr Probl Cardiol.* 2004 Oct;29(10):575-634. Review.

Mettauer B, Lampert E, Charloux A, Zhao QM, Epailly E, Oswald M, Frans A, Piquard F, Lonsdorfer J. Lung membrane diffusing capacity, heart failure, and heart transplantation. *Am J Cardiol.* 1999 Jan 1;83(1):62-7.

Mezzano SA, Aros CA, Droguett A, Burgos ME, Ardiles LG, Flores CA, Carpio D, Vio CP, Ruiz-Ortega M, Egido J. Renal angiotensin II up-regulation and myofibroblast activation in human membranous nephropathy. *Kidney Int Suppl.* 2003 Oct;(86):S39-45.

Mimura Y, Ihn H, Jinnin M, Asano Y, Yamane K, Tamaki K. Constitutive phosphorylation of focal adhesion kinase is involved in the myofibroblast differentiation of scleroderma fibroblasts. *J Invest Dermatol.* 2005 May;124(5):886-92.

Mitchell J, Woodcock-Mitchell J, Reynolds S, Low R, Leslie K, Adler K, Gabbiani G, Skalli O. Alpha-smooth muscle actin in parenchymal cells of bleomycin-injured rat lung. *Lab Invest.* 1989 May;60(5):643-50.

Mitchell KD, Navar LG. The renin-angiotensin-aldosterone system in volume control. *Baillieres Clin Endocrinol Metab.* 1989 Aug;3(2):393-430. Review.

Mitchell RN. Hemodynamic disorders, thromboembolic disease, and shock. In: Kumar B, Abbas AK, Fausto N. *Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease.* Elsevier Saunders, Philadelphia, 2005, 7^{ième} éd.

Moe GW, Rouleau JL, Nguyen QT, Cernacek P, Stewart DJ. Role of endothelins in congestive heart failure. *Can J Physiol Pharmacol*. 2003 Jun;81(6):588-97. Review.

Moraes DL, Colucci WS, Givertz MM. Secondary pulmonary hypertension in chronic heart failure: the role of the endothelium in pathophysiology and management. *Circulation*. 2000 Oct 3;102(14):1718-23.

Mordelet-Dambrine MS, Stanislas-Leguern GM, Huchon GJ, Baumann FC, Marsac JH, Chretien J. Elevation of the bronchoalveolar concentration of angiotensin I converting enzyme in sarcoidosis. *Am Rev Respir Dis*. 1982 Sep;126(3):472-5.

Morrell NW, Atochina EN, Morris KG, Danilov SM, Stenmark KR. Angiotensin converting enzyme expression is increased in small pulmonary arteries of rats with hypoxia-induced pulmonary hypertension. *J Clin Invest*. 1995 Oct;96(4):1823-33.

Morrell NW, Upton PD, Kotecha S, Huntley A, Yacoub MH, Polak JM, Wharton J. Angiotensin II activates MAPK and stimulates growth of human pulmonary artery smooth muscle via AT1 receptors. *Am J Physiol*. 1999 Sep;277(3 Pt 1):L440-8.

Moustakas A, Pardali K, Gaal A, Heldin CH. Mechanisms of TGF-beta signaling in regulation of cell growth and differentiation. *Immunol Lett*. 2002 Jun 3;82(1-2):85-91. Review.

Muns G, Vishwanatha JK, Rubinstein I. Regulation of angiotensin I-converting enzyme in cultured bovine bronchial epithelial cells. *J Cell Biochem*. 1993 Dec;53(4):352-9.

Nabah YN, Mateo T, Estelles R, Mata M, Zagorski J, Sarau H, Cortijo J, Morcillo EJ, Jose PJ, Sanz MJ. Angiotensin II induces neutrophil accumulation in vivo through generation and release of CXC chemokines. *Circulation*. 2004 Dec 7;110(23):3581-6.

Nadal JA, Scicli GM, Carbini LA, Scicli AG. Angiotensin II stimulates migration of retinal microvascular pericytes: involvement of TGF-beta and PDGF-BB. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2002 Feb;282(2):H739-48.

Neri Serneri GG, Boddi M, Coppo M, Chechi T, Zarone N, Moira M, Poggesi L, Margheri M, Simonetti I. Evidence for the existence of a functional cardiac renin-angiotensin system in humans. *Circulation*. 1996 Oct 15;94(8):1886-93.

- Neumann S, Huse K, Semrau R, Diegeler A, Gebhardt R, Buniatian GH, Scholz GH. Aldosterone and D-glucose stimulate the proliferation of human cardiac myofibroblasts in vitro. *Hypertension*. 2002 Mar 1;39(3):756-60.
- Nguyen QT, Colombo F, Rouleau JL, Dupuis J, Calderone A. LU135252, an endothelin(A) receptor antagonist did not prevent pulmonary vascular remodelling or lung fibrosis in a rat model of myocardial infarction. *Br J Pharmacol*. 2000 Aug;130(7):1525-30.
- Nishioka A, Ogawa Y, Mima T, Jin YJ, Sonobe H, Kariya S, Kubota K, Yoshida S, Ueno H. Histopathologic amelioration of fibroproliferative change in rat irradiated lung using soluble transforming growth factor-beta (TGF-beta) receptor mediated by adenoviral vector. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2004 Mar 15;58(4):1235-41.
- Nouet S, Nahmias C. Signal transduction from the angiotensin II AT2 receptor. *Trends Endocrinol Metab*. 2000 Jan-Feb;11(1):1-6. Review.
- Ohkubo N, Matsubara H, Nozawa Y, Mori Y, Murasawa S, Kijima K, Maruyama K, Masaki H, Tsutumi Y, Shibazaki Y, Iwasaka T, Inada M. Angiotensin type 2 receptors are reexpressed by cardiac fibroblasts from failing myopathic hamster hearts and inhibit cell growth and fibrillar collagen metabolism. *Circulation*. 1997 Dec 2;96(11):3954-62.
- Oparil S, Tregear GW, Koerner T, Barnes BA, Haber E. Mechanism of pulmonary conversion of angiotensin I to angiotensin II in the dog. *Circ Res*. 1971 Dec;29(6):682-90.
- Otsuka M, Takahashi H, Shiratori M, Chiba H, Abe S. Reduction of bleomycin induced lung fibrosis by candesartan cilexetil, an angiotensin II type 1 receptor antagonist. *Thorax*. 2004 Jan;59(1):31-8.
- Oudart N. [The renin-angiotensin system: current data] *Ann Pharm Fr*. 2005 Mar;63(2):144-53. Review.
- Parmley WW. Pathophysiology of congestive heart failure. *Clin Cardiol*. 1992 Sep;15 Suppl 1:15-12. Review.
- Perez-Arellano JL, Barrios MN, Martin T, Sanchez ML, Jimenez A, Gonzalez-Buitrago JM. Hydrolytic enzyme of the alveolar macrophage in diffuse pulmonary interstitial disease. *Respir Med*. 1996 Mar;90(3):159-66.
- Perrin-Fayolle M, Pacheco Y, Harf R, Montagnon B, Biot N. Angiotensin converting enzyme in bronchoalveolar lavage fluid in pulmonary sarcoidosis. *Thorax*. 1981 Oct;36(10):790-2.

Phillips MI, Speakman EA, Kimura B. Levels of angiotensin and molecular biology of the tissue renin angiotensin systems. *Regul Pept.* 1993 Jan 22;43(1-2):1-20. Review.

Powell DW, Mifflin RC, Valentich JD, Crowe SE, Saada JI, West AB. Myofibroblasts. I. Paracrine cells important in health and disease. *Am J Physiol.* 1999 Jul;277(1 Pt 1):C1-9. Review.

Powell DW, Mifflin RC, Valentich JD, Crowe SE, Saada JI, West AB. Myofibroblasts. II. Intestinal subepithelial myofibroblasts. *Am J Physiol.* 1999b Aug;277(2 Pt 1):C183-201. Review.

Puri S, Baker BL, Dutka DP, Oakley CM, Hughes JM, Cleland JG. Reduced alveolar-capillary membrane diffusing capacity in chronic heart failure. Its pathophysiological relevance and relationship to exercise performance. *Circulation.* 1995 Jun 1;91(11):2769-74.

Racine-Samson L, Rockey DC, Bissell DM. The role of alpha1beta1 integrin in wound contraction. A quantitative analysis of liver myofibroblasts in vivo and in primary culture. *J Biol Chem.* 1997 Dec 5;272(49):30911-7.

Ravenscraft SA, Gross CR, Kubo SH, Olivari MT, Shumway SJ, Bolman RM 3rd, Hertz MI. Pulmonary function after successful heart transplantation. One year follow-up. *Chest.* 1993 Jan;103(1):54-8.

Razani B, Engelman JA, Wang XB, Schubert W, Zhang XL, Marks CB, Macaluso F, Russell RG, Li M, Pestell RG, Di Vizio D, Hou H Jr, Kneitz B, Lagaud G, Christ GJ, Edelmann W, Lisanti MP. Caveolin-1 null mice are viable but show evidence of hyperproliferative and vascular abnormalities. *J Biol Chem.* 2001 Oct 12;276(41):38121-38.

Razani B, Wang XB, Engelman JA, Battista M, Lagaud G, Zhang XL, Kneitz B, Hou H Jr, Christ GJ, Edelmann W, Lisanti MP. Caveolin-2-deficient mice show evidence of severe pulmonary dysfunction without disruption of caveolae. *Mol Cell Biol.* 2002 Apr;22(7):2329-44.

Re RN. Tissue renin angiotensin systems. *Med Clin North Am.* 2004 Jan;88(1):19-38. Review.

Reimer KA, Murry CE, Jennings RB. Cardiac adaptation to ischemia. Ischemic preconditioning increases myocardial tolerance to subsequent ischemic episodes. *Circulation.* 1990 Dec;82(6):2266-8.

Reudelhuber TL. The renin-angiotensin system: peptides and enzymes beyond angiotensin II. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2005 Mar;14(2):155-9

Rice AB, Moomaw CR, Morgan DL, Bonner JC. Specific inhibitors of platelet-derived growth factor or epidermal growth factor receptor tyrosine kinase reduce pulmonary fibrosis in rats. *Am J Pathol.* 1999 Jul;155(1):213-21.

Rice NA, Leinwand LA. Skeletal myosin heavy chain function in cultured lung myofibroblasts. *J Cell Biol.* 2003 Oct 13;163(1):119-29.

Rich S. Pulmonary Hypertension. In: Kasper DL, Fauci AS, Longo DL, Braunwald E, Hauser SL, Jameson JL. *Harrison's Principles of Internal Medicine.* McGraw-Hill Medical Publishing Division, New York, 2005, 16^{ième} éd.

Rich S, McLaughlin VV. Pulmonary Hypertension. In: Zipes DP, Libby P, Bonow RO, Braunwald E. *Zipes: Braunwald's Heart Disease: A Textbook of Cardiovascular Medicine.* Elsevier Saunders, Philadelphie, 2005, 7^{ième} éd

Rodgers K, Xiong S, Espinoza T, Roda N, Maldonado S, diZerega GS. Angiotensin II increases host resistance to peritonitis. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2000 Jul;7(4):635-40.

Rossi GP, Sacchetto A, Cesari M, Pessina AC. Interactions between endothelin-1 and the renin-angiotensin-aldosterone system. *Cardiovasc Res.* 1999 Aug 1;43(2):300-7. Review.

Rube CE, Uthe D, Schmid KW, Richter KD, Wessel J, Schuck A, Willich N, Rube C. Dose-dependent induction of transforming growth factor beta (TGF beta) in the lung tissue of fibrosis-prone mice after thoracic irradiation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2000 Jul 1;47(4):1033-42.

Rungger-Brandl E, Gabbiani G. The role of cytoskeletal and cytocontractile elements in pathologic processes. *Am J Pathol.* 1983 Mar;110(3):361-92. Review.

Runo JR, Loyd JE. Primary pulmonary hypertension. *Lancet.* 2003 May 3;361(9368):1533-44. Review.

Ruperez M, Ruiz-Ortega M, Esteban V, Lorenzo O, Mezzano S, Plaza JJ, Egido J. Angiotensin II increases connective tissue growth factor in the kidney. *Am J Pathol.* 2003 Nov;163(5):1937-47.

Ryu JH, Colby TV, Hartman TE. Idiopathic pulmonary fibrosis: current concepts. *Mayo Clin Proc.* 1998 Nov;73(11):1085-101. Review.

Sakagawa T, Okuyama S, Kawashima N, Hozumi S, Nakagawasai O, Tadano T, Kisara K, Ichiki T, Inagami T. Pain threshold, learning and formation of

brain edema in mice lacking the angiotensin II type 2 receptor. *Life Sci.* 2000 Oct 13;67(21):2577-85.

Samani NJ, Morgan K, Brammar WJ, Swales JD. Detection of renin messenger RNA in rat tissues: increased sensitivity using an RNase protection technique. *J Hypertens Suppl.* 1987 Jul;5(2):S19-21.

Sanders KM. A case for interstitial cells of Cajal as pacemakers and mediators of neurotransmission in the gastrointestinal tract. *Gastroenterology.* 1996 Aug;111(2):492-515. Review.

Sappino AP, Schurch W, Gabbiani G. Differentiation repertoire of fibroblastic cells: expression of cytoskeletal proteins as marker of phenotypic modulations. *Lab Invest.* 1990 Aug;63(2):144-61. Review.

Saxena PR. Interaction between the renin-angiotensin-aldosterone and sympathetic nervous systems. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1992;19 Suppl 6:S80-8. Review.

Schmitt-Graff A, Desmouliere A, Gabbiani G. Heterogeneity of myofibroblaste phenotypic features: an example of fibroblastic cell plasticity. *Virchows Arch.* 1994;425(1):3-24. Review.

Schoen F. The Heart. In: Kumar B, Abbas AK, Fausto N. *Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease.* Elsevier Saunders, Philadelphia, 2005, 7^{ième} éd.

Schunkert H, Ingelfinger JR, Hirsch AT, Pinto Y, Remme WJ, Jacob H, Dzau VJ. Feedback regulation of angiotensin converting enzyme activity and mRNA levels by angiotensin II. *Circ Res.* 1993 Feb;72(2):312-8.

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

Serini G, Bochaton-Piallat ML, Ropraz P, Geinoz A, Borsi L, Zardi L, Gabbiani G. The fibronectin domain ED-A is crucial for myofibroblastic phenotype induction by transforming growth factor-beta1. *J Cell Biol.* 1998 Aug 10;142(3):873-81.

Serini G, Gabbiani G. Mechanisms of myofibroblast activity and phenotypic modulation. *Exp Cell Res.* 1999 Aug 1;250(2):273-83. Review.

Servant G, Dudley DT, Escher E, Guillemette G. Analysis of the role of N-glycosylation in cell-surface expression and binding properties of angiotensin

II type-2 receptor of rat pheochromocytoma cells. *Biochem J.* 1996 Jan 1;313 (Pt 1):297-304.

Shah M, Ali V, Lamba S, Abraham WT. Pathophysiology and clinical spectrum of acute congestive heart failure. *Rev Cardiovasc Med.* 2001;2 Suppl 2:S2-6. Review.

Shanmugam S, Corvol P, Gasc JM. Angiotensin II type 2 receptor mRNA expression in the developing cardiopulmonary system of the rat. *Hypertension.* 1996 Jul;28(1):91-7.

Shao R, Shi Z, Gotwals PJ, Koteliensky VE, George J, Rockey DC. Cell and molecular regulation of endothelin-1 production during hepatic wound healing. *Mol Biol Cell.* 2003 Jun;14(6):2327-41.

Shepro D, Morel NM. Pericyte physiology. *FASEB J.* 1993 Aug;7(11):1031-8. Review.

Shi-Wen X, Chen Y, Denton CP, Eastwood M, Renzoni EA, Bou-Gharios G, Pearson JD, Dashwood M, du Bois RM, Black CM, Leask A, Abraham DJ. Endothelin-1 promotes myofibroblast induction through the ETA receptor via a rac/phosphoinositide 3-kinase/Akt-dependent pathway and is essential for the enhanced contractile phenotype of fibrotic fibroblasts. *Mol Biol Cell.* 2004 Jun;15(6):2707-19.

Simonneau G, Galie N, Rubin LJ, Langleben D, Seeger W, Domenighetti G, Gibbs S, Lebecq D, Speich R, Beghetti M, Rich S, Fishman A. Clinical classification of pulmonary hypertension. *J Am Coll Cardiol.* 2004 Jun 16;43(12 Suppl S):5S-12S. Review.

Singer II, Kazazis DM, Kawka DW. Localization of the fibronexus at the surface of granulation tissue myofibroblasts using double-label immunogold electron microscopy on ultrathin frozen sections. *Eur J Cell Biol.* 1985 Jul;38(1):94-101.

Skalli O, Schurch W, Seemayer T, Lagace R, Montandon D, Pittet B, Gabbiani G. Myofibroblasts from diverse pathologic settings are heterogeneous in their content of actin isoforms and intermediate filament proteins. *Lab Invest.* 1989 Feb;60(2):275-85.

Skidgel RA, Erdos EG. The broad substrate specificity of human angiotensin I converting enzyme. *Clin Exp Hypertens A.* 1987;9(2-3):243-59. Review.

Smith AA, Cowburn PJ, Parker ME, Denvir M, Puri S, Patel KR, Cleland JG. Impaired pulmonary diffusion during exercise in patients with chronic heart failure. *Circulation.* 1999 Sep 28;100(13):1406-10.

Song L, Wang D, Cui X, Shi Z, Yang H. Kinetic alterations of angiotensin-II and nitric oxide in radiation pulmonary fibrosis. *J Environ Pathol Toxicol Oncol.* 1998;17(2):141-50.

Soubrier F, Alhenc-Gelas F, Hubert C, Allegrini J, John M, Tregear G, Corvol P. Two putative active centers in human angiotensin I-converting enzyme revealed by molecular cloning. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1988 Dec;85(24):9386-90.

Specks U, Martin WJ 2nd, Rohrbach MS. Bronchoalveolar lavage fluid angiotensin-converting enzyme in interstitial lung diseases. *Am Rev Respir Dis.* 1990 Jan;141(1):117-23.

Squier CA. The effect of stretching on formation of myofibroblasts in mouse skin. *Cell Tissue Res.* 1981;220(2):325-35.

Staub NC, Nagano H, Pearce ML. Pulmonary edema in dogs, especially the sequence of fluid accumulation in lungs. *J Appl Physiol.* 1967 Feb;22(2):227-40.

Staub NC. Pulmonary edema. *Physiol Rev.* 1974 Jul;54(3):678-811. Review.

Struthers AD. Pathophysiology of heart failure following myocardial infarction. *Heart.* 2005 May;91 Suppl 2:ii14-6; discussion ii31, ii43-8. Review.

Su JZ, Fukuda N, Jin XQ, Lai YM, Suzuki R, Tahira Y, Takagi H, Ikeda Y, Kanmatsuse K, Miyazaki H. Effect of AT2 receptor on expression of AT1 and TGF-beta receptors in VSMCs from SHR. *Hypertension.* 2002 Dec;40(6):853-8.

Sun G, Stacey MA, Bellini A, Marini M, Mattoli S. Endothelin-1 induces bronchial myofibroblast differentiation. *Peptides.* 1997;18(9):1449-51.

Sun Y, Weber KT. Angiotensin II receptor binding following myocardial infarction in the rat. *Cardiovasc Res.* 1994 Nov;28(11):1623-8.

Sun Y, Weber KT. Cells expressing angiotensin II receptors in fibrous tissue of rat heart. *Cardiovasc Res.* 1996 Apr;31(4):518-25.

Sun Y, Zhang JQ, Zhang J, Ramires FJ. Angiotensin II, transforming growth factor-beta1 and repair in the infarcted heart. *J Mol Cell Cardiol.* 1998 Aug;30(8):1559-69.

Sun Y, Weber KT. Infarct scar: a dynamic tissue. *Cardiovasc Res.* 2000 May;46(2):250-6. Review.

Sutton MG, Sharpe N. Left ventricular remodeling after myocardial infarction: pathophysiology and therapy. *Circulation*. 2000 Jun 27;101(25):2981-8. Review.

Suzuki S, Noda M, Sugita M, Ono S, Koike K, Fujimura S. Impairment of transalveolar fluid transport and lung Na(+)-K(+)-ATPase function by hypoxia in rats. *J Appl Physiol*. 1999 Sep;87(3):962-8.

Takemori K, Ito H, Suzuki T. Effects of the AT1 receptor antagonist on adhesion molecule expression in leukocytes and brain microvessels of stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Am J Hypertens*. 2000 Nov;13(11):1233-41.

Takimoto M, Mitani H, Hori S, Kimura M, Bando T, Okada T. Expression, secretion, and inhibition of angiotensin-converting enzyme in cultured human bronchial epithelial cells. *Eur J Pharmacol*. 1999 Apr 9;370(2):169-77.

Tamura K, Umemura S, Nyui N, Hibi K, Ishigami T, Kihara M, Toya Y, Ishii M. Activation of angiotensinogen gene in cardiac myocytes by angiotensin II and mechanical stretch. *Am J Physiol*. 1998 Jul;275(1 Pt 2):R1-9.

Taylor GM, Cook HT, Hanson C, Peart WS, Zondek T, Zondek LH. Renin in human fetal lung--a biochemical and immunohistochemical study. *J Hypertens*. 1988 Oct;6(10):845-51.

Thannickal VJ, Lee DY, White ES, Cui Z, Larios JM, Chacon R, Horowitz JC, Day RM, Thomas PE. Myofibroblast differentiation by transforming growth factor-beta1 is dependent on cell adhesion and integrin signaling via focal adhesion kinase. *J Biol Chem*. 2003 Apr 4;278(14):12384-9.

Tipnis SR, Hooper NM, Hyde R, Karran E, Christie G, Turner AJ. A human homolog of angiotensin-converting enzyme. Cloning and functional expression as a captopril-insensitive carboxypeptidase. *J Biol Chem*. 2000 Oct 27;275(43):33238-43.

Tom B, Dendorfer A, Danser AH. Bradykinin, angiotensin-(1-7), and ACE inhibitors: how do they interact? *Int J Biochem Cell Biol*. 2003 Jun;35(6):792-801. Review.

Tomasek JJ, Haaksma CJ, Eddy RJ, Vaughan MB. Fibroblast contraction occurs on release of tension in attached collagen lattices: dependency on an organized actin cytoskeleton and serum. *Anat Rec*. 1992 Mar;232(3):359-68.

Tomasek JJ, Gabbiani G, Hinz B, Chaponnier C, Brown RA. Myofibroblasts and mechano-regulation of connective tissue remodelling. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2002 May;3(5):349-63. Review.

Torihashi S, Gerthoffer WT, Kobayashi S, Sanders KM. Identification and classification of interstitial cells in the canine proximal colon by ultrastructure and immunocytochemistry. *Histochemistry.* 1994 Mar;101(3):169-83.

Touyz RM, Wu XH, He G, Park JB, Chen X, Vacher J, Rajapurohitam V, Schiffrin EL. Role of c-Src in the regulation of vascular contraction and Ca²⁺ signaling by angiotensin II in human vascular smooth muscle cells. *J Hypertens.* 2001 Mar;19(3):441-9.

Touyz RM, Berry C. Recent advances in angiotensin II signaling. *Braz J Med Biol Res.* 2002 Sep;35(9):1001-15. Review.

Townsley MI, Fu Z, Mathieu-Costello O, West JB. Pulmonary microvascular permeability. Responses to high vascular pressure after induction of pacing-induced heart failure in dogs. *Circ Res.* 1995 Aug;77(2):317-25.

Tsukimoto K, Mathieu-Costello O, Prediletto R, Elliott AR, West JB. Ultrastructural appearances of pulmonary capillaries at high transmural pressures. *J Appl Physiol.* 1991 Aug;71(2):573-82.

Tsutsumi Y, Matsubara H, Ohkubo N, Mori Y, Nozawa Y, Murasawa S, Kijima K, Maruyama K, Masaki H, Moriguchi Y, Shibasaki Y, Kamihata H, Inada M, Iwasaka T. Angiotensin II type 2 receptor is upregulated in human heart with interstitial fibrosis, and cardiac fibroblasts are the major cell type for its expression. *Circ Res.* 1998 Nov 16;83(10):1035-46.

Uhley HN, Leeds SE, Sampson JJ, Friedman M. Role of pulmonary lymphatics in chronic pulmonary edema. *Circ Res.* 1962 Dec;11:966-70.

Vaccaro C, Brody JS. Ultrastructure of developing alveoli. I. The role of the interstitial fibroblast. *Anat Rec.* 1978 Dec;192(4):467-79.

Wang J, Chen H, Seth A, McCulloch CA. Mechanical force regulation of myofibroblast differentiation in cardiac fibroblasts. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2003 Nov;285(5):H1871-81.

Wang R, Ramos C, Joshi I, Zagariya A, Pardo A, Selman M, Uhal BD. Human lung myofibroblast-derived inducers of alveolar epithelial apoptosis identified as angiotensin peptides. *Am J Physiol.* 1999 Dec;277(6 Pt 1):L1158-64.

Wang R, Zagariya A, Ang E, Ibarra-Sunga O, Uhal BD. Fas-induced apoptosis of alveolar epithelial cells requires ANG II generation and receptor interaction. *Am J Physiol.* 1999b Dec;277(6 Pt 1):L1245-50.

Wang R, Zagariya A, Ibarra-Sunga O, Gidea C, Ang E, Deshmukh S, Chaudhary G, Baraboutis J, Filippatos G, Uhal BD. Angiotensin II induces apoptosis in human and rat alveolar epithelial cells. *Am J Physiol.* 1999c May;276(5 Pt 1):L885-9.

Wang R, Alam G, Zagariya A, Gidea C, Pinillos H, Lalude O, Choudhary G, Oezatalay D, Uhal BD. Apoptosis of lung epithelial cells in response to TNF-alpha requires angiotensin II. generation de novo. *J Cell Physiol.* 2000 Nov;185(2):253-9.

Weber KT, Sun Y, Katwa LC. Myofibroblasts and local angiotensin II in rat cardiac tissue repair. *Int J Biochem Cell Biol.* 1997 Jan;29(1):31-42. Review.

Weber KT. Fibrosis, a common pathway to organ failure: angiotensin II and tissue repair. *Semin Nephrol.* 1997 Sep;17(5):467-91. Review.

Wei L, Alhenc-Gelas F, Corvol P, Clauser E. The two homologous domains of human angiotensin I-converting enzyme are both catalytically active. *J Biol Chem.* 1991 May 15;266(14):9002-8.

West JB, Dollery CT, Naimark A. Distribution of blood flow in isolated lung; relation to vascular and alveolar pressures. *J Appl Physiol.* 1964 Jul;19:713-24.

West JB. Invited review: pulmonary capillary stress failure. *J Appl Physiol.* 2000 Dec;89(6):2483-9;discussion 2497. Review.

Willis BC, Liebler JM, Luby-Phelps K, Nicholson AG, Crandall ED, du Bois RM, Borok Z. Induction of epithelial-mesenchymal transition in alveolar epithelial cells by transforming growth factor-beta1: potential role in idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Pathol.* 2005 May;166(5):1321-32.

Wilson E. Congestive heart failure: A national priority. *Can J Cardiol.* 2001 Dec;17(12):1243-4.

Witschi H. Responses of the lung to toxic injury. *Environ Health Perspect.* 1990 Apr;85:5-13.

Woessner JF Jr. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in connective tissue remodeling. *FASEB J.* 1991 May;5(8):2145-54. Review.

Woods RL. Cardioprotective functions of atrial natriuretic peptide and B-type natriuretic peptide: a brief review. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2004 Nov;31(11):791-4. Review.

Yamada M, Kurihara H, Kinoshita K, Sakai T. Temporal expression of alpha-smooth muscle actin and drebrin in septal interstitial cells during alveolar maturation. *J Histochem Cytochem*. 2005 Jun;53(6):735-44.

Yamada T, Horiuchi M, Dzau VJ. Angiotensin II type 2 receptor mediates programmed cell death. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1996 Jan 9;93(1):156-60.

Yamagishi H, Kim S, Nishikimi T, Takeuchi K, Takeda T. Contribution of cardiac renin-angiotensin system to ventricular remodelling in myocardial-infarcted rats. *J Mol Cell Cardiol*. 1993 Nov;25(11):1369-80.

Yan X, Price RL, Nakayama M, Ito K, Schuldt AJ, Manning WJ, Sanbe A, Borg TK, Robbins J, Lorell BH. Ventricular-specific expression of angiotensin II type 2 receptors causes dilated cardiomyopathy and heart failure in transgenic mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2003 Nov;285(5):H2179-87.

Yee HF Jr. Rho directs activation-associated changes in rat hepatic stellate cell morphology via regulation of the actin cytoskeleton. *Hepatology*. 1998 Sep;28(3):843-50.

Zahradka P, Yau L, Lalonde C, Buchko J, Thomas S, Werner J, Nguyen M, Saward L. Modulation of the vascular smooth muscle angiotensin subtype 2 (AT2) receptor by angiotensin II. *Biochem Biophys Res Commun*. 1998 Nov 18;252(2):476-80.

Zeng C, Luo Y, Asico LD, Hopfer U, Eisner GM, Felder RA, Jose PA. Perturbation of D1 dopamine and AT1 receptor interaction in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension*. 2003 Oct;42(4):787-92.

Zhang HY, Phan SH. Inhibition of myofibroblast apoptosis by transforming growth factor beta(1). *Am J Respir Cell Mol Biol*. 1999 Dec;21(6):658-65.

Zhao L, al-Tubuly R, Sebki A, Owji AA, Nunez DJ, Wilkins MR. Angiotensin II receptor expression and inhibition in the chronically hypoxic rat lung. *Br J Pharmacol*. 1996 Nov;119(6):1217-22.

Zhao YY, Liu Y, Stan RV, Fan L, Gu Y, Dalton N, Chu PH, Peterson K, Ross J Jr, Chien KR. Defects in caveolin-1 cause dilated cardiomyopathy and pulmonary hypertension in knockout mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002 Aug 20;99(17):11375-80.

Zile MR, Brutsaert DL. New concepts in diastolic dysfunction and diastolic heart failure: Part II: causal mechanisms and treatment. *Circulation*. 2002 Mar 26;105(12):1503-8. Review.