



HAL
open science

CONTRÔLE BARORÉFLEXE DE L'ACTIVITÉ NERVEUSE SYMPATHIQUE CHEZ LE RAT

Roy Kanbar

► **To cite this version:**

Roy Kanbar. CONTRÔLE BARORÉFLEXE DE L'ACTIVITÉ NERVEUSE SYMPATHIQUE CHEZ LE RAT. Physiologie [q-bio.TO]. Université Claude Bernard - Lyon I, 2008. Français. NNT : . tel-00349528

HAL Id: tel-00349528

<https://theses.hal.science/tel-00349528>

Submitted on 31 Dec 2008

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITÉ CLAUDE BERNARD LYON 1

ÉCOLE DOCTORALE INTERDISCIPLINAIRE SCIENCES SANTE

THÈSE DE DOCTORAT

(arrêté du 7 août 2006)

Discipline : Biologie, médecine, santé

*présentée et soutenue publiquement le 18 novembre 2008
par*

Roy KANBAR

**CONTRÔLE BARORÉFLEXE DE L'ACTIVITÉ NERVEUSE
SYMPATHIQUE CHEZ LE RAT**

Directeur de thèse : M. le Professeur Christian BARRÈS

JURY

M.	le Professeur	Christian BARRÈS
M.	le Professeur	Jean-Luc ELGHOZI
M.	le Docteur	Jacques-Olivier FORTRAT
M.	le Docteur	Claude JULIEN
M ^{me}	le Docteur	Caroline SÉVOZ-COUCHE

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON I

Président de l'Université

Vice-président du Conseil Scientifique
Vice-président du Conseil d'Administration
Vice-président du Conseil des Etudes et de la Vie
Universitaire
Secrétaire Général

M. le Professeur L. COLLET

M. le Professeur J.F. MORNEX
M. le Professeur J. LIETO
M. le Professeur D. SIMON
M. G. GAY

SECTEUR SANTE

Composantes

UFR de Médecine Lyon R.T.H. Laënnec
UFR de Médecine Lyon Grange-Blanche
UFR de Médecine Lyon-Nord
UFR de Médecine Lyon-Sud
UFR d'Odontologie
Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques

Directeur : M. le Professeur P. COCHAT
Directeur : M. le Professeur X. MARTIN
Directeur : M. le Professeur J. ETIENNE
Directeur : M. le Professeur F.N. GILLY
Directeur : M. O. ROBIN
Directeur : M. le Professeur F. LOCHER

Institut Techniques de Réadaptation

Directeur : M. le Professeur MATILLON

Département de Formation et Centre de Recherche en
Biologie Humaine

Directeur : M. le Professeur P. FARGE

SECTEUR SCIENCES

Composantes

UFR de Physique
UFR de Biologie
UFR de Mécanique
UFR de Génie Electrique et des Procédés
UFR Sciences de la Terre
UFR de Mathématiques
UFR d'Informatique
UFR de Chimie Biochimie
UFR STAPS
Observatoire de Lyon
Institut des Sciences et des Techniques de l'Ingénieur de Lyon
IUT A
IUT B
Institut de Science Financière et d'Assurances

Directeur : Mme. le Professeur S. FLECK
Directeur : M. le Professeur H. PINON
Directeur : M. le Professeur H. BEN HADID
Directeur : M. le Professeur G. CLERC
Directeur : M. le Professeur P. HANTZPERGUE
Directeur : M. le Professeur A. GOLDMAN
Directeur : M. le Professeur S. AKKOUCHE
Directeur : Mme. le Professeur H. PARROT
Directeur : M. C. COLLIGNON
Directeur : M. le Professeur R. BACON
Directeur : M. le Professeur J. LIETO
Directeur : M. le Professeur M. C. COULET
Directeur : M. le Professeur R. LAMARTINE
Directeur : M. le Professeur J.C. AUGROS

À Lucie

À notre vie ensemble (le 13 Décembre 2008)...

Pour ta patience, ton soutien et ton amour...

À ma famille

Pour votre soutien et vos encouragements...

À mes juges

Monsieur le Professeur Christian Barrès et Monsieur le Docteur Claude Julien

Mes chers Maîtres, votre passion sincère pour la recherche a été une source permanente d'enseignement et d'inspiration. Vous étiez parfois en phase ou en opposition de phase, mais après analyse spectrale détaillée, vous étiez toujours synchrones dans nos discussions animées.

Qu'il me soit permis à cette occasion de vous témoigner ma profonde gratitude pour la confiance que vous avez placée en moi et pour votre soutien professionnel et personnel à mon égard.

Monsieur le Professeur Jean-Luc Elghozi

Je vous suis vivement reconnaissant de m'avoir permis de bénéficier de votre savoir, de votre dynamisme, de votre enthousiasme et de votre regard humoristique pour la science. Je vous assure de ma gratitude pour m'avoir initié à la recherche expérimentale chez l'Homme.

Je vous remercie également d'avoir accepté de juger ce travail.

Madame le Docteur Caroline Sévoz-Couche

Je vous adresse tous mes remerciements pour avoir accepté de porter sur ce travail votre regard d'expert.

Monsieur le Docteur Jacques-Olivier Fortrat

Je vous remercie d'avoir accepté de siéger parmi les membres de mon jury. Je vous remercie également de votre gentillesse et de votre disponibilité.

Merci...

Monsieur Bruno Chapuis et Madame Valérie Oréa

Pour votre aide constante pour la réalisation de ce travail à chaque stade...

Pour toutes les questions, simples, compliquées ou incompréhensibles dont tu avais toujours les réponses... Merci Bruno.

Pour ton expertise chirurgicale et expérimentale... Merci Valérie.

Que cette thèse soit pour moi l'occasion de vous exprimer, également, ma sincère reconnaissance pour la gentillesse et la sympathie dont vous avez fait preuve à mon égard en toute circonstance.

Madame Arlette Girard

Pour votre gentillesse et pour m'avoir initié à la recherche expérimentale chez l'Homme.

Madame Colette Ghazib †

Je ne vous oublierai jamais.

A tous les membres du laboratoire et les étudiants avec qui j'ai partagé une salle, un repas ou une console d'ordinateur pendant ces quatre années...

RÉSUMÉ

Chez le rat, un index spontané de mesure de la sensibilité du contrôle baroréflexe de l'activité nerveuse sympathique (ANS) a été développé, validé et appliqué. Il est fondé sur le calcul du gain de la fonction de transfert entre la pression artérielle et l'ANS, à la fréquence cardiaque.

L'entraînement cardiaque, chez l'animal anesthésié, révèle que ce gain n'est pas influencé par les variations du rythme cardiaque. En mesurant l'ANS rénale chez des rats vigils ayant des barorécepteurs intacts ou partiellement dénervés, il est montré que cet index est positivement corrélé à la sensibilité baroréflexe mesurée par méthode pharmacologique. L'intérêt fonctionnel de cet index est confirmé par l'existence d'une relation inverse avec la variabilité tensionnelle. Chez des rats intacts, l'application aiguë d'un stress émotionnel par jet d'air sensibilise le contrôle baroréflexe de l'ANS rénale, et ceci quelle que soit la méthode d'évaluation utilisée.

Cet index, calculé sur des périodes successives d'une minute, chez des rats éveillés, révèle que la sensibilité du contrôle baroréflexe de l'ANS rénale fluctue spontanément au cours du temps. Le calcul de cet index au moyen des ANSs rénale et lombaire, enregistrées simultanément chez des rats vigils, suggère une régulation baroréflexe homogène des ANS régionales.

Mots clé : Baroréflexe artériel, système nerveux sympathique, variabilité tensionnelle, stress émotionnel

Laboratoire de Physiologie, Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques (ISPB),
Faculté de Pharmacie, Université Claude Bernard Lyon 1, 8 avenue Rockefeller, 69373 Lyon
Cedex 08, France.

**BAROREFLEX CONTROL OF SYMPATHETIC NERVE ACTIVITY
IN THE RAT**

In the rat, a spontaneous index of the sensitivity of the baroreflex control of sympathetic nerve activity (SNA) has been developed, validated and applied. It is based on the calculation of the transfer function gain between arterial pressure (AP) and SNA, at heart rate frequency.

Cardiac pacing, in anesthetized rats, showed that this gain is not influenced by heart rate fluctuations. By measuring renal SNA in conscious rats with either intact or partially denervated baroreceptors, it was found that this index is positively correlated with the baroreflex sensitivity measured by the pharmacological method. The functional relevance of this index was confirmed by the existence of an inverse relationship with AP variability. In intact rats, acute exposure to air jet stress sensitized the baroreflex control of renal SNA, when assessed with either method.

This index, calculated over 1-min consecutive periods in conscious rats revealed that the sensitivity of the baroreflex control of renal SNA fluctuates spontaneously over time. The computation of this index using both renal and lumbar SNAs, simultaneously recorded in conscious rats, pointed to a homogenous baroreflex regulation of regional SNAs.

Keywords: Arterial baroreceptor reflex, sympathetic nervous system, arterial pressure variability, emotional stress

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION	1
--------------------	---

Première partie: ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE – I : LA BOUCLE BARORÉFLEXE SYMPATHIQUE	7
1. ASPECTS ANATOMO-FONCTIONNELS	7
1.1. Définition.....	7
1.2. Principe d'étude d'une boucle de régulation.....	7
1.3. L'arc central ou arc mécano-neural.....	10
1.3.1. Anatomie	10
1.3.2. Propriétés statiques.....	11
1.3.3. Propriétés dynamiques	14
1.4. L'arc périphérique ou arc neuro-mécanique	18
1.4.1. Propriétés statiques.....	18
1.4.2. Propriétés dynamiques	19
1.5. La boucle baroréflexe	21
1.5.1. Propriétés statiques.....	21
1.5.2. Propriétés dynamiques	22
1.6. Conclusion.....	24
2. BARORÉFLEXE ET VARIABILITÉ CARDIO-VASCULAIRE	24
2.1. Variabilité de la PA et de l'ANS	25
2.2. Rôle du baroréflexe dans la variabilité cardio-vasculaire	28
2.2.1. Rôle dans le contrôle de la variabilité tensionnelle.....	28
2.2.2. Rôle dans la genèse de la variabilité tensionnelle	30
2.3. Conclusion.....	34
3. LES INDEX DE SENSIBILITÉ DU BARORÉFLEXE SYMPATHIQUE	34
3.1. Les méthodes fondées sur des variations imposées de PA.....	34
3.1.1. Méthode pharmacologique	35
a) Mise en œuvre	35
b) Traitement des données	36

c) Limitations de la méthode pharmacologique	38
3.1.2. Méthodes mécaniques	40
3.2. Les méthodes fondées sur des variations spontanées de PA	41
3.2.1. Dans le domaine temporel.....	41
3.2.2. Dans le domaine fréquentiel.....	42
3.2.3. Limitations des méthodes spontanées	43
3.3. Conclusion.....	43

CHAPITRE – II : MODULATION PHYSIOLOGIQUE DU CONTRÔLE

BARORÉFLEXE DE L'ACTIVITÉ NERVEUSE

SYMPATHIQUE..... 45

1. INTRODUCTION.....	45
2. INFLUENCE DES ÉTATS COMPORTEMENTAUX SUR LE CONTRÔLE BARORÉFLEXE DE L'ANS	46
2.1. Influence des états de vigilance.....	48
2.2. Influence de l'exercice	52
2.3. Influence d'un stress émotionnel.....	56
2.4. Conclusion.....	62
3. MÉCANISMES IMPLIQUÉS DANS LA MODULATION PHYSIOLOGIQUE DU CONTRÔLE BARORÉFLEXE DE L'ANS	63
3.1. Mécanismes de modulation impliquant des structures centrales.....	63
3.1.1. Le Noyau du tractus solitaire (NTS)	63
3.1.2. La région caudale ventro-latérale du bulbe rachidien (CVLM).....	64
3.1.3. La région rostrale ventro-latérale du bulbe rachidien (RVLM).....	64
3.2. Conclusion.....	65
4. LE CONTRÔLE BARORÉFLEXE DES ANSs RÉGIONALES.....	65
4.1. Preuves de l'existence d'un contrôle différentiel.....	65
4.1.1. Approches statiques.....	66
4.1.2. Approches dynamiques	68
4.2. Mécanismes proposés afin d'expliquer le contrôle différentiel des ANSs	70
4.3. Conclusion.....	71
5. CONCLUSION GÉNÉRALE	71

Deuxième partie: TRAVAIL PERSONNEL

LISTE DES PUBLICATIONS	74
CHAPITRE – III : MATÉRIEL ET MÉTHODES	75
1. ANIMAUX.....	75
2. PROCÉDURES CHIRURGICALES	75
2.1. Implantation des cathéters	75
2.2. Implantation des électrodes de mesure de l'ANS	76
2.2.1. Implantation de l'électrode de mesure de l'ANS rénale	76
2.2.2. Implantation de l'électrode de mesure de l'ANS lombaire.....	76
2.3. Implantation de l'électrode de stimulation cardiaque	77
2.4. Dénervation des barorécepteurs aortiques.....	78
3. PROTOCOLE D'ENTRAÎNEMENT CARDIAQUE.....	79
4. APPLICATION D'UN STRESS ÉMOTIONNEL.....	79
5. ENREGISTREMENT INFORMATISÉ DES VARIABLES MESURÉES	80
5.1. Enregistrement de la PA.....	80
5.2. Enregistrement des ANSs.....	80
6. PROTOCOLE PHARMACOLOGIQUE DE MISE EN JEU DU BARORÉFLEXE ...	81
7. ANALYSE DES DONNÉES	82
7.1. Normalisation des signaux d'ANS	82
7.2. Quantification de la variabilité tensionnelle.....	82
7.3. Étude des relations PA-ANS	83
7.3.1. Analyse sigmoïde [Gain pharmacologique].....	83
7.3.2. Analyse utilisant la fonction de transfert PA-ANS [Gain spontané]	83
a) Détection de la fréquence cardiaque	84
b) Calcul du gain de la fonction de transfert à la fréquence cardiaque	84
CHAPITRE – IV :	85
CONTRÔLE BARORÉFLEXE DE L'ACTIVITÉ NERVEUSE SYMPATHIQUE RÉNALE DURANT UN STRESS ÉMOTIONNEL CHEZ LE RAT	

CHAPITRE – V :	93
INFLUENCE DE LA FRÉQUENCE CARDIAQUE SUR LA FONCTION DE TRANSFERT RELIANT LA PRESSION ARTÉRIELLE ET L'ACTIVITÉ NERVEUSE SYMPATHIQUE RÉNALE CHEZ LE RAT	
CHAPITRE – VI :	103
MESURE EN CONTINU DE LA SENSIBILITÉ DU BARORÉFLEXE SYMPATHIQUE CHEZ LE RAT - VALIDATION D'UN NOUVEL INDEX	
CHAPITRE – VII :	115
CONTRÔLE BARORÉFLEXE DES ACTIVITÉS NERVEUSES SYMPATHIQUES RÉNALE ET LOMBAIRE CHEZ LE RAT CONSCIENT	
DISCUSSION	125
RÉFÉRENCES	133

INTRODUCTION

Le baroréflexe artériel joue un rôle majeur dans le contrôle à court terme de la pression artérielle (PA) par la modulation 1/ de l'activité nerveuse sympathique (ANS) et parasympathique à destinée cardiaque (composante cardiaque) et, 2/ de l'ANS à destinée vasculaire (composante vasculaire).

Diverses observations expérimentales et cliniques suggèrent que, chez l'Homme comme chez le rat, la composante vasculaire du baroréflexe joue un rôle prépondérant dans le contrôle de la variabilité tensionnelle. En effet, le blocage cholinergique n'altère pas significativement la variabilité de la PA chez l'Homme (Parati et al. 1987) ni chez le rat (Su et al. 1992). De même, les sujets transplantés cardiaques ne présentent pas d'anomalie majeure du contrôle tensionnel à court terme (van de Borne et al. 1994b ; Constant et al. 1995). En revanche, les patients déficients en dopamine- β -hydroxylase, un syndrome caractérisé par une dénervation noradrénergique fonctionnelle, présentent des hypotensions posturales malgré la présence d'une innervation cardiaque vagale intacte (Man in't Veld et al. 1988 ; Timmers et al. 2004). De la même façon, une sympathectomie chimique augmente considérablement la variabilité tensionnelle chez le rat alors que le contrôle vagal n'est pas altéré (Zhang et al. 1994 ; Ferrari et al. 1996).

La méthode la plus classique pour étudier le contrôle baroréflexe de l'ANS (couramment appelé baroréflexe sympathique) consiste à induire des modifications de la PA par des moyens pharmacologiques et à mesurer les réponses réflexes de l'ANS (Hinojosa-Laborde et al. 1994 ; Lipman et al. 2003). Cependant, cette méthode, souvent qualifiée de méthode pharmacologique, présente plusieurs limitations liées à l'utilisation des substances vasoactives (Parati et al. 2004) et elle nécessite plusieurs minutes pour être mise en œuvre. Pour ces raisons, d'autres méthodes fondées sur des variations spontanées de PA ont été développées pour estimer la sensibilité du baroréflexe sympathique (Sundlöf & Wallin 1978 ; Nakazato et al. 1998 ; van den Buuse & Head 2000 ; van de Borne et al. 2000 ; Rondon et al. 2006). Ces méthodes consistent à examiner la relation entre des variations spontanées de PA et d'ANS sur des périodes comprenant plusieurs battements cardiaques. Cependant, compte tenu de l'échelle temporelle choisie, le système baroréflexe peut opérer en boucle fermée, c'est-à-dire

que les fluctuations de PA induisent des modifications réflexes d'ANS qui à leur tour influencent la PA (*Fagius & Wallin 1980 ; Bertram et al. 1998*). Ceci complique beaucoup l'interprétation des index obtenus. De plus, dans ces conditions, la relation entre la PA et l'ANS peut être affectée par des fluctuations liées à la respiration dont l'origine est mixte, à la fois centrale et baroréflexe (*Häbler et al. 1996 ; Badra et al. 2001 ; Mandel et al. 2006*).

Malgré ses limitations, la méthode pharmacologique reste un outil précieux pour l'exploration du baroréflexe sympathique. Chez le rat, le contrôle baroréflexe de l'ANS rénale a été examiné par la méthode pharmacologique durant différentes situations physiologiques, notamment le sommeil, le toilettage (*Nagura et al. 2004*) et l'exercice (*Miki et al. 2003b*). Ces études montrent que les caractéristiques du baroréflexe sympathique ne sont pas constantes mais varient en fonction des conditions comportementales. En conséquence, ces observations suggèrent que la sensibilité du baroréflexe sympathique pourrait varier en permanence au cours du temps. La méthode pharmacologique, du fait de sa faible résolution temporelle, n'est toutefois pas adaptée à l'étude des variations rapides de la sensibilité du baroréflexe sympathique, d'où la nécessité de développer des nouvelles méthodes capables d'explorer cet aspect du baroréflexe sympathique.

L'examen de la variabilité de l'ANS rénale dans le domaine fréquentiel montre une forte rythmicité à la fréquence cardiaque (*Burgess et al. 1999 ; Bertram et al. 2005*). Cette oscillation est d'origine baroréflexe puisque la dénervation des barorécepteurs situés dans les sinus carotidiens et dans la crosse de l'aorte (dénervation sino-aortique) abolit totalement cette rythmicité chez le rat anesthésié (*Petiot et al. 2001*) ou vigile (*Kunitake & Kannan 2000*). De plus, à la fréquence cardiaque, le baroréflexe sympathique peut être considéré comme opérant en boucle ouverte du fait des propriétés dynamiques de l'arbre vasculaire qui n'est pas capable de répondre à des fluctuations d'ANS de fréquence supérieure à 1 Hz. Ainsi, les fluctuations rapides d'ANS n'induisent pas de fluctuations synchrones de PA mais contribuent plutôt au maintien d'un tonus sympathique vasoconstricteur (*Julien et al. 2001*). Ces observations suggèrent que l'amplitude de l'oscillation d'ANS à la fréquence cardiaque dépend à la fois de la pulsativité de la PA et de la sensibilité du système baroréflexe. Nous avons donc formulé l'hypothèse que le rapport entre les amplitudes des variations de PA et d'ANS rénale, à la fréquence cardiaque, pourrait fournir un index spontané de la sensibilité du baroréflexe sympathique.

En conséquence, l'objectif principal de ce travail était de développer et de valider un index spontané d'évaluation de la sensibilité du baroréflexe sympathique chez le rat vigile. Pour ce faire, dans un premier temps, l'influence de la fréquence cardiaque sur la relation entre la PA et l'ANS rénale a été examinée dans le domaine fréquentiel chez des rats anesthésiés (*Oréa et al. 2007*). La pertinence du nouvel index a été ensuite validée, tout particulièrement dans le contexte de la variabilité tensionnelle, chez des rats vigils avec barorécepteurs intacts ou ayant subi une dénervation des barorécepteurs aortiques (*Kanbar et al. 2007b*). Une première application physiologique utilisant cet index spontané a concerné l'effet du stress émotionnel, par jet d'air, sur le contrôle baroréflexe de l'ANS rénale (*Kanbar et al. 2007b*). En effet, grâce à la méthode pharmacologique, nous avons pu montrer que le baroréflexe sympathique était sensibilisé par ce type de stress (*Kanbar et al. 2007a*). Enfin, dans le cadre de l'étude du contrôle baroréflexe des ANSs régionales, la méthode a été appliquée à l'ANS lombaire à destination musculaire, et l'index obtenu comparé à l'index utilisant l'ANS rénale, chez le rat vigile (*Kanbar et al. 2008*).

Première partie

ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE

LA BOUCLE BARORÉFLEXE SYMPATHIQUE**1. ASPECTS ANATOMO-FONCTIONNELS****1.1. Définition**

Le baroréflexe sympathique est un système de rétrocontrôle négatif. Il est composé de plusieurs éléments interconnectés qui sont regroupés fonctionnellement en deux arcs successifs, 1/ un arc central ou arc mécano-neural comprenant les voies nerveuses (les barorécepteurs, les voies nerveuses afférentes sino-aortiques, le système nerveux central et les voies sympathiques efférentes) et 2/ un arc périphérique ou arc neuro-mécanique correspondant à la jonction neuro-vasculaire (Figure 1). Ces deux arcs constituent la boucle de régulation du baroréflexe sympathique (*Ikeda et al. 1996 ; Sato et al. 1999, 2003 ; Chapuis et al. 2004*).

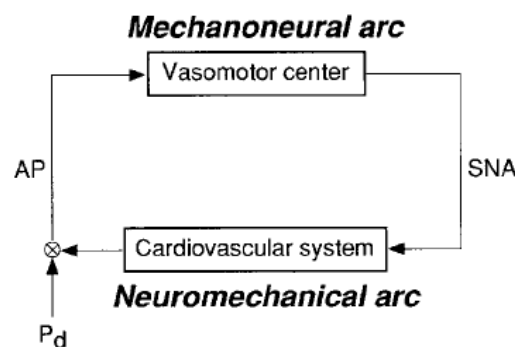


Figure 1. Schéma fonctionnel de la composante sympathique de la boucle baroréflexe. P_d indique les perturbations externes influençant la PA (D'après *Sato et al. 1999*).

Noter que le baroréflexe sympathique fonctionne en situation de boucle fermée, c'est-à-dire que les variations de PA induisent des variations d'ANS et réciproquement.

1.2. Principe d'étude d'une boucle de régulation

Pour comprendre le fonctionnement d'une boucle de régulation, il faut connaître celui des systèmes qui la composent. La procédure recommandée pour identifier et étudier les sous-

systèmes d'une boucle de régulation consiste tout d'abord à ouvrir la boucle (*Kawada et al. 2000, 2002a*). Dans le cas du baroréflexe, ceci est généralement réalisé en isolant mécaniquement les zones barosensibles du reste de la circulation (Figure 2). Une alternative est la section chirurgicale des afférences sino-aortiques du baroréflexe.

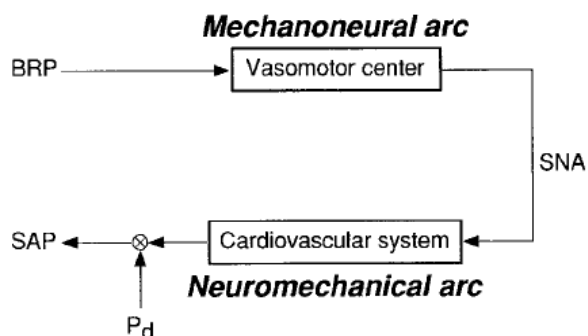


Figure 2. Schéma fonctionnel du baroréflexe sympathique en situation de boucle ouverte. La boucle est ouverte au niveau des barorécepteurs. P_d indique les perturbations externes influençant la PA (D'après *Sato et al. 1999*).

Noter que les barorécepteurs (sino-carotidiens dans ce travail) sont isolés de la circulation systémique. La pression à ce niveau (BRP) peut être manipulée indépendamment de la PA systémique (SAP).

Un système de régulation peut être défini par la relation statique et dynamique qui existe entre la variable réglante (entrée) et la variable réglée (sortie) (Figure 3). En modifiant le choix du signal d'entrée et du signal de sortie, différentes composantes de la boucle baroréflexe peuvent être étudiées. L'expérimentateur impose une valeur à la variable d'entrée et mesure l'évolution de la valeur que prend la variable de sortie. Les variations imposées au signal d'entrée peuvent être maintenues (relation statique – analyse temporelle) ou rythmiques (relation dynamique – analyse fréquentielle).

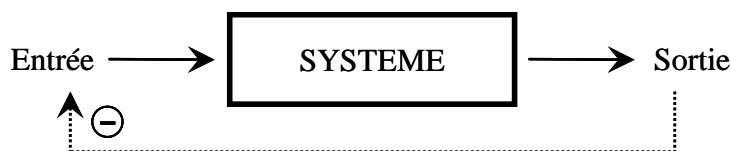


Figure 3. Modèle d'identification d'un sous-système dans une boucle de rétrocontrôle négatif. La flèche en trait pointillé indique que la boucle a été ouverte.

Noter que le système est défini par la relation entre le signal d'entrée et le signal de sortie.

Pour le système baroréflexe, l'étude statique permet d'établir les courbes classiques d'allure sigmoïde, qui permettent de définir le seuil de mise en jeu du système, son point de saturation et son gain statique. L'étude dynamique détermine les réponses en fréquence des divers sous-systèmes du baroréflexe.

Les méthodes fréquentielles reposent sur le calcul, généralement par transformée de Fourier rapide (*Cerutti et al. 1994 ; Koopmans 1995*), d'une fonction de cohérence et d'une fonction de transfert (analyse spectrale croisée). La fonction de cohérence, comprise entre 0 et 1, quantifie la force du couplage linéaire entre les variables d'entrée et de sortie. La fonction de transfert est constituée par : 1/ une fonction de gain qui correspond au module de la fonction de transfert, exprimée en unité du signal de sortie par unité du signal d'entrée et, 2/ une fonction de phase dont la valeur, comprise entre $-\pi$ et π (ou -180° et 180°), quantifie en fonction de la fréquence le déphasage entre les deux signaux, c'est-à-dire indique la fraction de période de laquelle les signaux sont décalés.

Ces deux fonctions ne peuvent être interprétées que lorsque la cohérence est significative. Elles sont souvent regroupées dans un diagramme de Bode (pour exemple voir la Figure 11) qui représente sous forme de graphes séparés, en fonction de la fréquence (en Hz), la fonction de gain $G_{db}(f)$ (en décibels, $G_{db} = 20 \text{ Log } G_{\text{unité du sortie/unité de l'entrée}}$) et la fonction de phase $\varphi(f)$.

Pour réaliser l'analyse fréquentielle, le signal d'entrée est généré, soit à des fréquences discrètes spécifiques recouvrant un large intervalle de fréquences, soit selon un bruit blanc (Figure 4) où l'ensemble des fréquences d'intérêt est mélangé, aboutissant à un spectre plat du signal d'entrée.

Dans le premier cas, des variations sinusoïdales de fréquence f sont imposées à la grandeur d'entrée (Figure 4, à droite). La grandeur de sortie enregistrée oscillera à la même fréquence si le système est linéaire. Pour chaque fréquence f , on note l'amplitude du signal de sortie et sa phase par rapport au signal d'entrée.

Dans le deuxième cas, où le signal d'entrée est généré selon un bruit blanc (Figure 4, à gauche), l'analyse spectrale permet de décomposer le signal d'entrée et celui de sortie en identifiant les fréquences d'intérêt, afin d'en déduire la fonction de transfert. Ainsi, cette dernière procédure permet de réduire considérablement le temps de stimulation. En effet, une seule stimulation pendant 15 minutes environ sera suffisante pour déterminer les propriétés dynamiques du système.

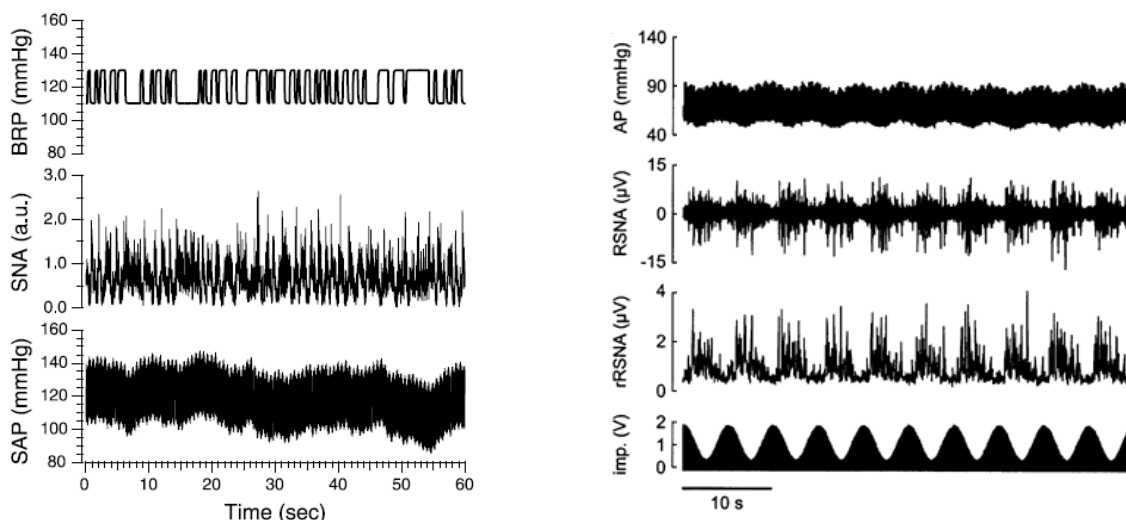


Figure 4. Exemples de signaux d'entrée appliqués mécaniquement sur la pression au niveau du sinus carotidien isolé (à gauche, tracé du haut ; d'après *Sato et al. 2003*) et électriquement sur le nerf aortique dépresseur (à droite, tracé du bas ; d'après *Petiot et al. 2001*) chez des rats anesthésiés. BRP, pression au niveau des barorécepteurs carotidiens ; SNA, activité nerveuse sympathique ; SAP, pression artérielle systémique ; AP, pression artérielle ; RSNA et rRSNA, activité nerveuse sympathique rénale brute et rectifiée ; Imp, impulsion.

Noter que les variations de la pression au niveau du sinus carotidien sont réalisées selon un bruit blanc et celles de l'activité du nerf aortique dépresseur selon une fréquence discrète sinusoïdale (0,2 Hz dans cet exemple).

La relation entre l'entrée et la sortie est ensuite modélisée, en identifiant le système linéaire dont les réponses fréquentielles sont aussi proches que possible des données expérimentales. Le système est alors décrit par une équation différentielle qui permet de prédire son comportement.

1.3. L'arc central ou arc mécano-neural

L'arc mécano-neural est défini comme le système ayant pour signal d'entrée la PA (plus spécifiquement, la pression au niveau des régions contenant les barorécepteurs) et pour signal de sortie l'ANS (*Sato et al. 1999, 2003*).

1.3.1. Anatomie

Les barorécepteurs, situés principalement dans la média des sinus carotidiens et de la crosse de l'aorte, sont sensibles à l'étirement de la paroi artérielle, lequel est directement fonction de la pression transmurale (*Feng et al. 2007*). Les afférences nerveuses des barorécepteurs, les deux nerfs sinusaux et les deux nerfs aortiques dépresseurs, véhiculent

l'information au système nerveux central, au niveau du noyau du tractus solitaire (NTS). Des inter-neurones excitateurs (principalement glutamatergiques) relient ce noyau avec la partie caudale du bulbe ventro-latéral (CVLM). CVLM se projette par l'intermédiaire d'inter-neurones inhibiteurs (GABAergiques) dans la partie rostrale du bulbe ventro-latéral (RVLM). Cette dernière contient les corps cellulaires des neurones sympathiques pré-moteurs qui font synapse avec les neurones sympathiques pré-ganglionnaires dans la moelle épinière. Ces derniers se projettent dans les ganglions de la chaîne paravertébrale et les ganglions prévertébraux, où ils font synapse avec les fibres nerveuses sympathiques postganglionnaires qui innervent les vaisseaux (*Dampney 1994 ; Pilowsky 1995, 2002*).

1.3.2. Propriétés statiques

Sato *et al.* (1999) ont examiné l'arc mécano-neural en utilisant un modèle de sinus carotidien isolé chez des rats anesthésiés (Figure 5). Le principe consiste à isoler au niveau du sinus carotidien la région vasculaire contenant les barorécepteurs.

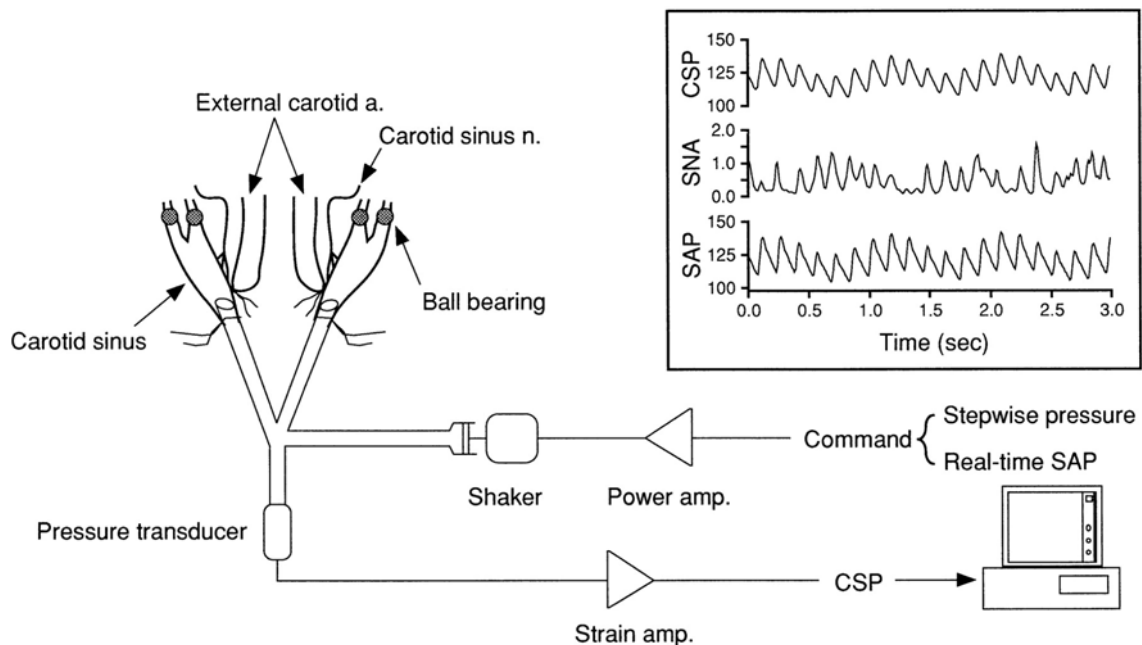


Figure 5. Illustration schématique du modèle expérimental de sinus carotidien isolé chez le rat anesthésié. Les barorécepteurs situés au niveau des sinus carotidiens sont isolés en ligaturant les artères carotides externes et en induisant une embolie au niveau des artères carotides internes et des artères ptérygopalatines avec de petites billes d'acier (diamètre de 0,8 mm). Un cathéter est introduit dans chaque sinus carotidien et est ensuite relié à une pompe servo-contrôlée par un ordinateur qui permet d'induire des modifications de la pression intra-carotidienne (CSP) (D'après *Sato et al. 1999*).

Noter que la boucle baroréflexe peut être fermée en induisant en temps réel des variations de la pression au niveau des sinus carotidiens identiques aux variations de PA systémique mesurée au niveau de l'artère fémorale.

Les autres afférences des barorécepteurs sont sectionnées pour permettre d'étudier le baroréflexe sympathique en situation de boucle ouverte. La pression au niveau des barorécepteurs sinusaux est ensuite modifiée par l'intermédiaire d'un cathéter relié à une pompe servo-contrôlée.

Les résultats montrent qu'une augmentation maintenue de la pression au niveau des barorécepteurs induit une diminution de l'ANS rénale efférente. Cette relation est modélisée par l'équation d'une courbe sigmoïde inverse, mettant en évidence des plateaux de sympathoinhibition et de sympathoexcitation (Figure 6). Au niveau de ces plateaux, l'ANS ne répond plus aux variations additionnelles de PA (*Sato et al. 1999*).

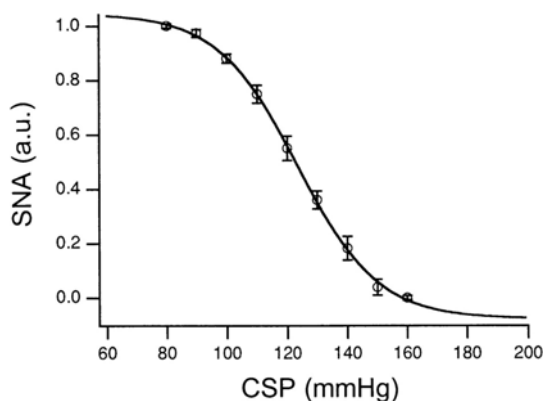


Figure 6. La relation baroréflexe statique moyenne de l'arc mécano-neural entre la pression au niveau des barorécepteurs carotidiens isolés (CSP) et l'ANS rénale (SNA) construite chez des rats anesthésiés ($n = 16$) (D'après *Sato et al. 1999*).

Noter l'aspect sigmoïde inverse de la relation entre la pression au niveau du sinus carotidien et l'ANS rénale.

La relation baroréflexe statique entre la PA et l'ANS a également été étudiée en imposant des modifications de PA par des moyens pharmacologiques. Cette méthode sera détaillée dans la partie « les index de sensibilité du baroréflexe sympathique » (Chapitre I, paragraphe 3.1.1).

L'arc mécano-neural de la boucle baroréflexe combine deux sous-systèmes : les barorécepteurs et les voies nerveuses centrales :

1/ au niveau des barorécepteurs, des augmentations en échelon de pression induisent des augmentations de l'activité nerveuse du nerf aortique dépresseur (*Sato et al. 1998*) et du nerf sinusal (Figure 7, *Kawada et al. 2005*). Il a été rapporté chez le chien que les barorécepteurs aortiques présentent un seuil d'activation plus élevé que celui des barorécepteurs sino-carotidiens (*Pelletier et al. 1972*).

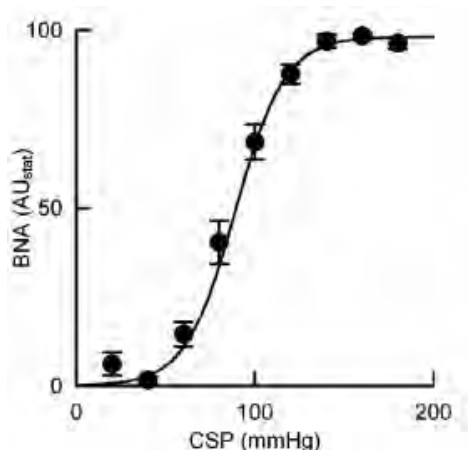


Figure 7. La relation statique moyenne ($n = 12$) entre les variations de la pression au niveau des barorécepteurs carotidiens isolés (CSP) et l'activité nerveuse du nerf sinusal (BNA) construite chez des lapins anesthésiés (D'après Kawada et al. 2005).

Noter l'aspect sigmoïde de la relation entre la pression imposée au niveau des barorécepteurs carotidiens et la réponse statique de l'activité du nerf sinusal.

2/ au niveau des voies nerveuses centrales, les variations de l'activité afférente des barorécepteurs induisent des variations en sens inverse de l'ANS efférente, grâce à la présence de neurones inhibiteurs entre CVLM et RVLM. Ainsi, chez des rats anesthésiés par l'uréthane, il existe une relation sigmoïde inverse entre l'intensité de la stimulation électrique du nerf aortique dépresseur et l'ANS rénale (Figure 8, Petiot et al. 2001).

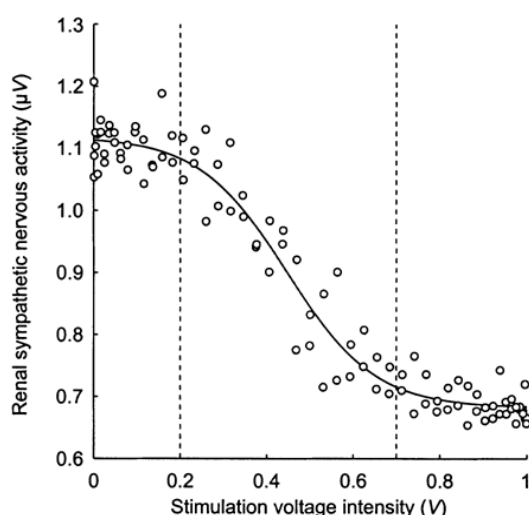


Figure 8. Exemple de relation sigmoïde inverse entre l'intensité de la stimulation électrique du nerf aortique dépresseur et l'ANS rénale chez un rat anesthésié par l'uréthane. Le bruit électrique de l'ANS rénale, estimé à 0,6 V, n'a pas été soustrait dans cet exemple (D'après Petiot et al. 2001).

Noter que la partie de la relation délimitée par les lignes pointillées verticales peut être assimilée à une relation linéaire.

1.3.3. Propriétés dynamiques

L'arc mécano-neural du baroréflexe a été étudié dans le domaine fréquentiel en déterminant la fonction de transfert reliant la PA (signal d'entrée) et l'ANS efférente (signal de sortie) dans diverses espèces, notamment le rat (*Harada et al. 1992 ; Sato et al. 2003*), le lapin (*Ikeda et al. 1996 ; Miyano et al. 1997ab ; Kawada et al. 1999, 2000, 2001, 2002b, 2003, 2004ab ; Kamiya et al. 2005b*), le chat (*Harada et al. 1991*) et le chien (*Kezdi & Geller 1968*).

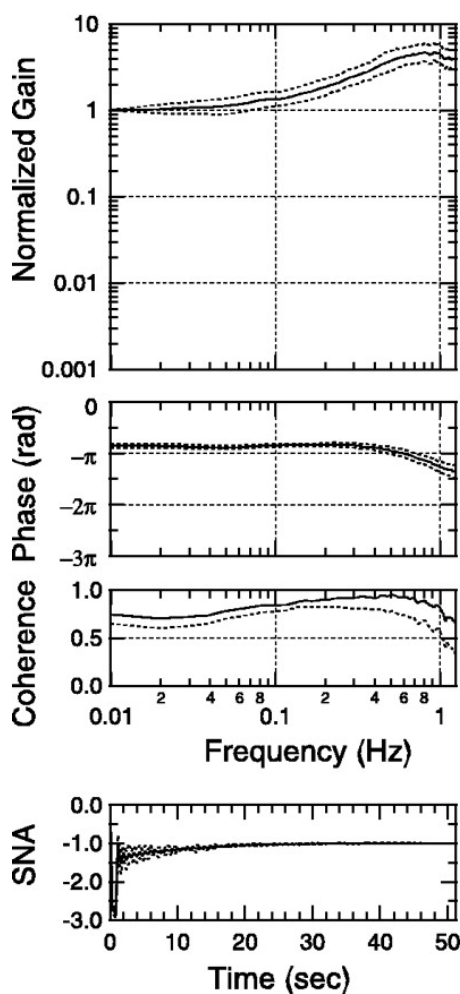


Figure 9. Pour l'arc mécano-neural, fonction de transfert (gain et phase) et fonction de cohérence moyennes (\pm SD ; $n = 11$), entre la pression au niveau des barorécepteurs carotidiens (variable d'entrée) et l'ANS rénale (variable de sortie), chez des rats anesthésiés, vagotomisés et barodénervés. Le tracé du bas présente la simulation de la réponse de l'ANS rénale à une variation soutenue de la pression carotidienne, réalisée grâce aux paramètres de la fonction de transfert (D'après *Sato et al. 2003*).

Noter l'augmentation du gain et la légère avance de phase entre 0,01 et 0,8 Hz caractéristiques d'un dérivateur.

Chez le rat anesthésié, la fonction de transfert entre la PA et l'ANS rénale a été décrite entre 0,01 et 1 Hz (*Harada et al. 1992 ; Sato et al. 2003*). *Harada et al.* ont altéré la PA par le gonflage d'un ballonnet placé dans l'aorte thoracique descendante. *Sato et al.* ont perturbé la pression au niveau du sinus carotidien isolé selon un bruit blanc (voir Figure 4 et Figure 5). Ils ont rapporté que cette fonction de transfert présente les caractéristiques d'un dérivateur responsable d'une augmentation du gain (propriété amplificatrice) et d'une avance de phase (propriété accélératrice) en fonction de la fréquence. En effet, le gain augmente d'environ trois à cinq fois jusqu'à 0,8 Hz. La phase est légèrement supérieure à $-\pi$ (Figure 9). De plus, *Sato et al. (2003)* rapportent un délai fixe de la réponse de $0,12 \pm 0,01$ s dans l'arc mécano-neural, probablement dû au délai de la transmission nerveuse.

A notre connaissance, cette fonction de transfert n'a pas été étudiée pour des fréquences > 1 Hz chez le rat, et donc notamment à la fréquence du battement cardiaque. Pour ces fréquences allant jusqu'à 1 Hz, des propriétés de dérivateur, amplificatrices et accélératrices, de l'arc mécano-neural ont également été décrites chez le chat (*Harada et al. 1991*), le lapin (*Ikeda et al. 1996 ; Miyano et al. 1997ab ; Kawada et al. 1999, 2000, 2001, 2002b, 2003, 2004ab ; Kamiya et al. 2005b*) et le chien (*Kezdi & Geller 1968*).

Une étude réalisée chez des lapins anesthésiés a examiné la fonction de transfert entre la pression au niveau du sinus carotidien isolé et l'ANS cardiaque entre 0,01 et 10 Hz, incluant ainsi la bande de fréquence contenant le battement cardiaque (*Kawada et al. 2002b*). Cette étude montre que la fonction de transfert présente une augmentation du gain de 20dB/décade entre 0,01 et 0,8 Hz, caractéristique d'un dérivateur du 1^{er} ordre, puis une diminution du gain de 20dB/décade entre 1 et 10 Hz, caractéristique d'un filtre passe-bas du 1^{er} ordre. La phase est légèrement supérieure à $-\pi$ pour les fréquences $< 0,3$ Hz, elle diminue ensuite linéairement suggérant ainsi la présence d'un délai fixe dans la réponse. *Ikeda et al. (1996)* ont rapporté un délai de $0,55 \pm 0,14$ s chez des lapins anesthésiés. Cependant, la fonction de cohérence s'approche de 0 au-delà de 3 Hz, limitant ainsi l'interprétation de la fonction de transfert à ces fréquences rapides (*Kawada et al. 2002b*).

Chez le chien anesthésié, *Kezdi et Geller (1968)* ont décrit la fonction de transfert entre la pression au niveau du sinus carotidien isolé et l'ANS rénale. La pression est altérée selon des variations en échelon et sinusoïdales jusqu'à 8 Hz. Ils rapportent une augmentation du gain entre 0,05 et 1 Hz, puis une décroissance pour des fréquences plus élevées.

La fonction de transfert globale de l'arc mécano-neural combine les caractéristiques dynamiques des barorécepteurs (entre la PA et l'activité nerveuse afférente des barorécepteurs) et des voies nerveuses centrales (entre l'activité nerveuse afférente des barorécepteurs et l'ANS).

1/ Concernant les caractéristiques dynamiques des barorécepteurs, la fonction de transfert entre la PA et l'activité nerveuse du nerf aortique dépresseur a été étudiée entre 0,1 et 20 Hz sur une préparation *ex vivo* de crosse aortique de rats (*Brown et al. 1978*). Il a été rapporté que le gain augmente entre 1 et 10 Hz pour les fibres myélinisées (Figure 10 à gauche) et diminue d'une façon monotone à partir de 0,1 Hz pour les fibres amyélinisées (Figure 10 à droite). A la fréquence de 0,1 Hz, la phase est légèrement supérieure à zéro pour les deux types de fibres et ensuite, elle diminue progressivement pour les fibres amyélinisées. Ces dernières sont majoritaires au niveau du nerf aortique dépresseur chez le rat (*Fazan et al. 1997*).

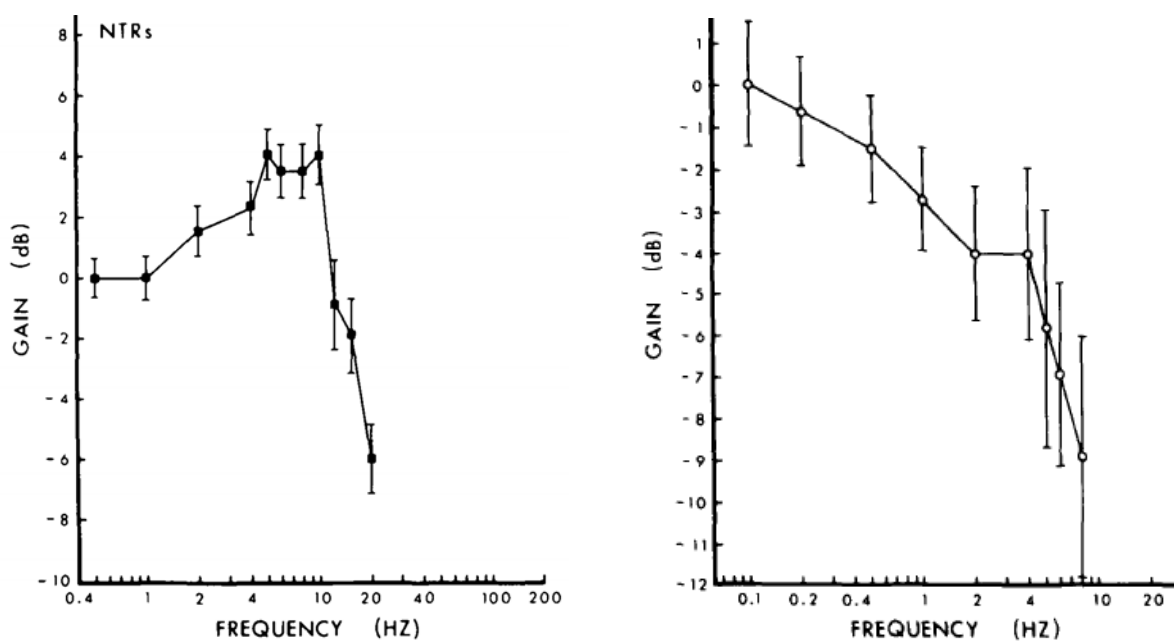


Figure 10. Fonction de gain moyenne, entre la PA et l'activité nerveuse afférente des fibres myélinisées (à gauche, $n = 17$ fibres de 11 rats) et amyélinisées (à droite, $n = 6$ fibres de 6 rats) du nerf aortique dépresseur sur une préparation *ex vivo* de crosse aortique de rats (D'après *Brown et al. 1978*).

Noter l'augmentation du gain entre 1 et 10 Hz pour les fibres myélinisées et la diminution monotone à partir de 0,1 Hz pour les fibres amyélinisées.

Chez le lapin anesthésié, la fonction de transfert entre la PA et l'activité du nerf aortique dépresseur (*Sugimachi et al. 1990 ; Sato et al. 1998*) ou l'activité du nerf sinusal (*Kawada et*

al. 2005) présente les caractéristiques d'un dérivateur, notamment une augmentation du gain et une légère avance de phase en fonction de la fréquence, au moins jusqu'à 1 Hz.

2/ Concernant les caractéristiques dynamiques des voies nerveuses centrales, la fonction de transfert entre les afférences des barorécepteurs, notamment le nerf aortique dépresseur, et l'ANS rénale a été étudiée entre 0,003 et 20 Hz chez le rat anesthésié (*Petiot et al. 2001*). Le nerf aortique dépresseur a été stimulé électriquement selon un signal sinusoïdal généré et modulé par un ordinateur (Figure 4 à droite). La fonction de transfert (Figure 11) combine les caractéristiques d'un dérivateur (augmentation du gain d'un facteur 3 entre 0,03 et 1 Hz associé à une légère avance de phase jusqu'à 0,4 Hz) et un filtre passe-bas du 2^{ème} ordre (diminution du gain au-delà de 1 Hz associé à un retard de la phase). Les auteurs ont observé des variations du gain au voisinage de 10 Hz qui ne sont pas prédites par le modèle. Un délai fixe d'environ 100 ms vraisemblablement secondaire au temps de la transmission nerveuse est rapporté.

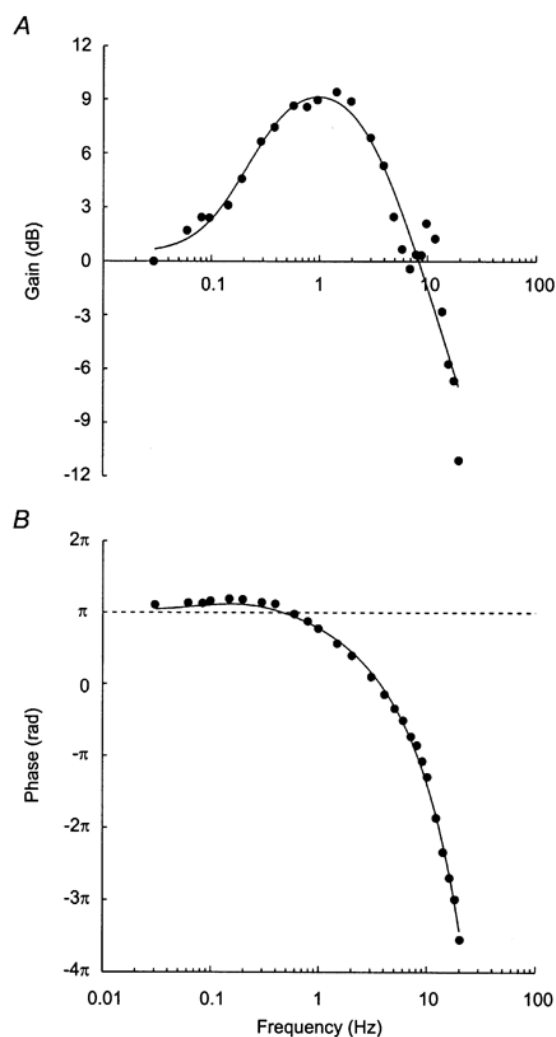


Figure 11. Diagramme de Bode présentant la modélisation des fonctions de gain (A) et de phase (B) calculées entre les stimulations du nerf aortique dépresseur et l'ANS rénale chez des rats anesthésiés par l'uréthane ($n = 15$) (D'après *Petiot et al. 2001*).

Noter que le modèle combine un dérivateur du 1^{er} ordre, un filtre passe-bas du 2^{ème} ordre et un délai pur d'environ 100 ms. Ce modèle n'explique pas les variations du gain observées entre 6 et 12 Hz.

En conclusion, l'arc mécano-neural peut être modélisé par l'association en série 1/ d'un dérivateur responsable d'une augmentation du gain (propriété amplificatrice) et d'une avance de phase (propriété accélératrice), 2/ d'un filtre passe-bas qui laisse passer les fluctuations de basse fréquence et qui atténue les fluctuations de haute fréquence (en particulier celles dont la fréquence est supérieure à la fréquence de coupure du filtre) avec un délai pur secondaire au temps de transmission nerveuse. La valeur du délai paraît dépendre de l'espèce considérée.

1.4. L'arc périphérique ou arc neuro-mécanique

L'arc périphérique est défini comme le système ayant pour signal d'entrée l'ANS efférente et pour signal de sortie la PA systémique. Il comprend la jonction neuro-effectrice entre les terminaisons sympathiques et les vaisseaux (*Sato et al. 1999, 2003 ; Julien et al. 2003*).

1.4.1. Propriétés statiques

Chez des rats anesthésiés, la relation statique entre l'ANS rénale et la PA systémique présente un aspect sigmoïde. Les variations d'ANS rénale sont provoquées par des variations en échelon de la pression au niveau du sinus carotidien isolé et induisent des augmentations de la PA (Figure 12, *Sato et al. 1999*).

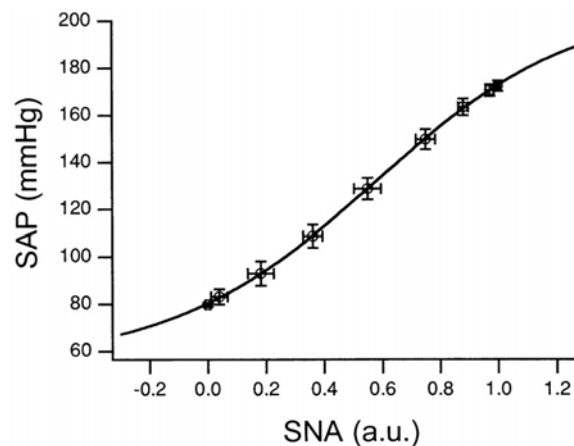


Figure 12. Relation statique moyenne de l'arc périphérique, entre l'ANS rénale (SNA) et la PA systémique (SAP) établie chez des rats anesthésiés ($n = 16$) (D'après *Sato et al. 1999*).

Noter l'aspect sigmoïde de la relation entre la variable d'entrée (ANS rénale) et la variable de sortie (PA).

1.4.2. Propriétés dynamiques

Les propriétés dynamiques de l'arc périphérique du baroréflexe ont été caractérisées par la fonction de transfert entre l'ANS (signal d'entrée) et la PA systémique (*Ikeda et al. 1996 ; Julien et al. 2003 ; Sato et al. 2003 ; Kawada et al. 2000, 2002b, 2003, 2004ab*) ou les résistances vasculaires périphériques (signaux de sorties) (*Rosenbaum & Race 1968 ; Stauss et al. 1996, 1999 ; Malpas et al. 1999 ; Bertram et al. 2000*) dans différentes espèces.

Chez le rat anesthésié, *Sato et al. (2003)* ont décrit la fonction de transfert entre l'ANS rénale et la PA systémique dans une bande de fréquence comprise entre 0,01 et 1 Hz (Figure 13). Les variations d'ANS rénale sont obtenues secondairement à des modifications de pression, modulées selon un bruit blanc, au niveau des sinus carotidiens isolés. Cette fonction de transfert présente les caractéristiques d'un filtre passe-bas du 2^{ème} ordre associé à un délai pur de $0,68 \pm 0,19$ s. En effet, le gain décroît entre 0,01 et 1 Hz jusqu'à 0,4 % du gain calculé à 0,01 Hz.

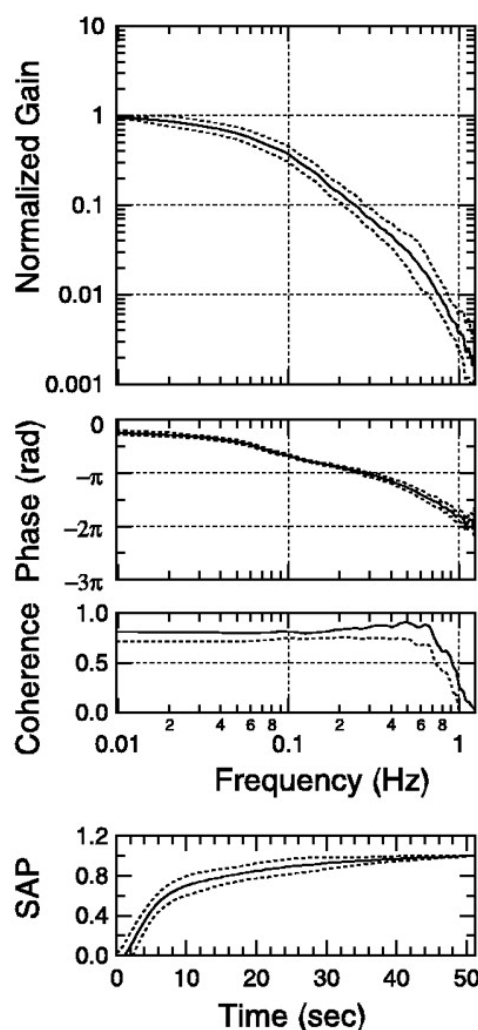


Figure 13. Fonction de transfert (gain et phase) et fonction de cohérence moyennes (\pm SD ; $n = 11$) entre l'ANS rénale et la PA systémique (SAP), chez des rats anesthésiés vagotomisés et barodénervés. Le tracé du bas présente la simulation de la réponse de la PA à une variation soutenue de l'ANS rénale, réalisée grâce aux paramètres de la fonction de transfert (D'après *Sato et al. 2003*).

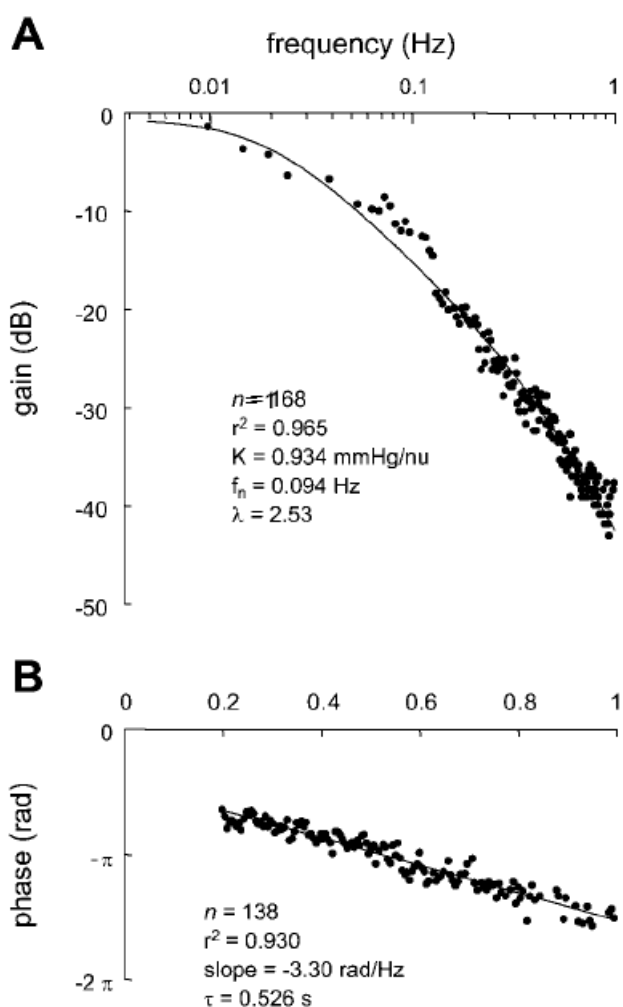
Noter la diminution du gain et de la phase en fonction de la fréquence, caractéristiques d'un filtre passe-bas du 2^{ème} ordre.

Chez le rat anesthésié, des caractéristiques similaires de filtre passe-bas ont été observées entre la stimulation électrique de la chaîne sympathique lombaire et la conductance vasculaire iliaque (*Bertram et al. 2000*). *Stauss et al. (1999)* ont aussi rapporté que le débit sanguin cutané ne peut pas osciller à des fréquences supérieures à 0,2 Hz en réponse à des stimulations rythmiques de la chaîne sympathique lombaire.

Ces propriétés de filtre passe-bas de l'arc périphérique ont également été retrouvées chez le rat vigile. *Julien et al. (2003)* ont examiné la fonction de transfert entre les fluctuations spontanées de l'ANS rénale et la PA systémique chez des rats ayant subi au préalable une dénervation des barorécepteurs sino-aortiques, donc en situation de boucle ouverte. Ils ont rapporté que l'arc périphérique se comporte comme un filtre passe-bas du 2^{ème} ordre avec une fréquence de coupure de $0,186 \pm 0,023$ Hz (Figure 14 A), combiné à un délai pur, d'environ 0,5 s, mis en évidence par la décroissance linéaire de la phase en fonction de la fréquence (Figure 14 B).

Figure 14. Modélisation de la fonction de transfert de l'arc périphérique du baroréflexe (entre l'ANS rénale et la PA) chez un rat vigile ayant subi une dénervation des barorécepteurs sino-aortiques. (A) et (B) montrent les fonctions de gain et de phase, respectivement. Les paramètres des équations sont indiqués ainsi que la qualité de l'ajustement (D'après *Julien et al. 2003*).

Noter la diminution du gain et de la phase en fonction de la fréquence, caractéristiques d'un filtre passe-bas du 2^{ème} ordre. Le délai pur (τ) est calculé grâce à la pente de la décroissance linéaire de la phase.



De même, Stauss *et al.* (1996) ont montré que la stimulation électrique du nerf splanchnique n'induit plus d'oscillations des résistances vasculaires mésentériques au-delà de 1 Hz chez des rats vigils.

Des propriétés de filtres passe-bas de l'arc neuro-mécanique ont aussi été mises en évidence 1/ entre l'ANS cardiaque et la PA chez le lapin anesthésié (Ikeda *et al.* 1996 ; Kawada *et al.* 2000, 2002b, 2003, 2004ab), 2/ entre la stimulation électrique de la chaîne lombaire et la pression de perfusion de la patte postérieure, chez le chien anesthésié (Rosenbaum & Race 1968) et 3/ entre l'ANS rénale et le débit sanguin rénal chez le lapin éveillé (Janssen *et al.* 1997) ou anesthésié (stimulation électrique du nerf rénal, Malpas *et al.* 1999). L'ordre du filtre passe-bas et la valeur du retard paraissent dépendre du lit vasculaire et de l'espèce.

En conclusion, l'arc périphérique du baroréflexe est associé à un filtre passe-bas qui élimine l'impact des fluctuations de l'ANS au-delà de 1 Hz chez le rat. En conséquence, les fluctuations rapides d'ANS n'induisent pas de fluctuations synchrones de la PA systémique mais elles contribuent plutôt au maintien d'un tonus sympathique vasoconstricteur (Janssen *et al.* 1997 ; Julien *et al.* 2001). Fonctionnellement, le baroréflexe sympathique peut donc être considéré comme fonctionnant en boucle ouverte à ces fréquences rapides (> 1 Hz), et donc tout particulièrement à la fréquence du battement cardiaque.

1.5. La boucle baroréflexe

La boucle baroréflexe dans son ensemble combine les caractéristiques de l'arc central et de l'arc périphérique. Ses propriétés statiques et dynamiques sont étudiées en utilisant un système ayant pour signal d'entrée la pression au niveau des barorécepteurs et pour signal de sortie la PA systémique (Sato *et al.* 1999 ; Chapuis *et al.* 2004).

1.5.1. Propriétés statiques

Les propriétés statiques de la boucle baroréflexe sont évaluées en analysant les réponses de la PA systémique à des variations imposées et stables de la pression au niveau des lits vasculaires isolés contenant les barorécepteurs. Une relation sigmoïde inverse est mise en évidence (Figure 15).

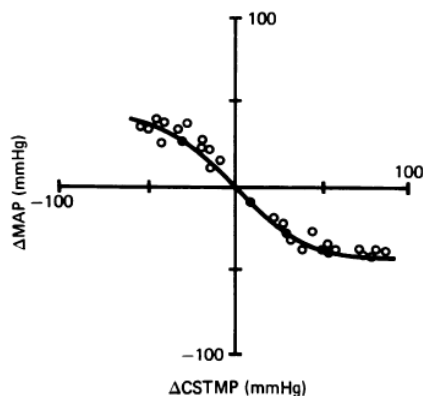


Figure 15. Exemple de courbe baroréflexe reliant les variations de la pression transmurale au niveau du sinus carotidien isolé (ΔCSTMP) et les variations de la PA systémique (ΔMAP) chez un lapin conscient (D'après *Faris et al. 1980*).

Noter l'aspect sigmoïde de la relation baroréflexe pression-pression.

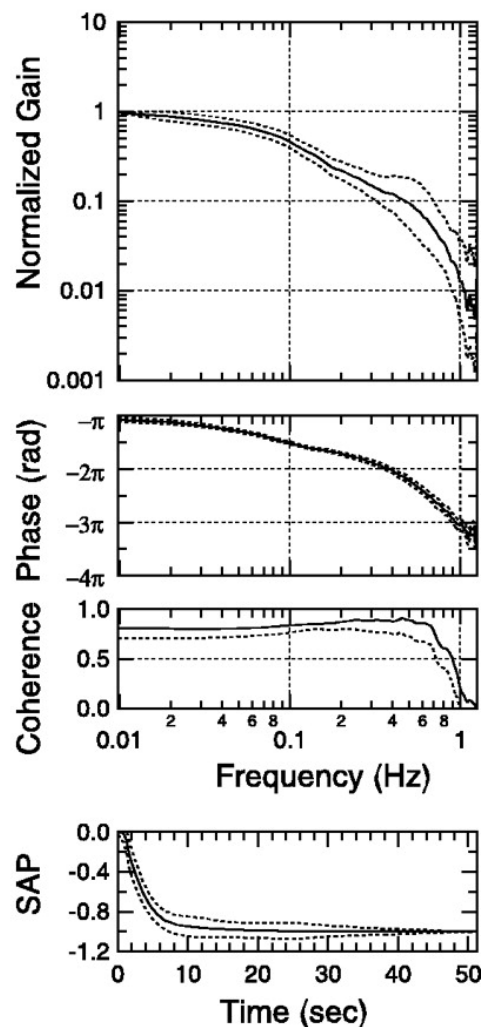
1.5.2. Propriétés dynamiques

Les propriétés dynamiques de la boucle baroréflexe ont été examinées dans le domaine fréquentiel par le calcul de la fonction de transfert entre la pression au niveau des barorécepteurs carotidiens isolés et la PA systémique chez le rat anesthésié (*Sato et al. 2003*). Les auteurs ont rapporté que la boucle baroréflexe se comporte comme un filtre passe-bas qui atténue les fluctuations rapides du signal d'entrée entre 0,01 et 1 Hz (Figure 16). La diminution du gain en fonction de la fréquence est cependant moins abrupte que celle observée au niveau de l'arc périphérique, probablement du fait que les propriétés amplificatrices de l'arc central compensent partiellement les propriétés de filtre passe-bas de l'arc périphérique. La boucle présente un délai pur de $0,79 \pm 0,21$ s correspondant à l'addition des délais de la transmission nerveuse et du couplage neuro-vasculaire (*Sato et al. 2003*).

Des propriétés de filtre passe-bas de la boucle baroréflexe ont été également rapportées chez le lapin anesthésié (*Ikeda et al. 1996 ; Liu et al. 2002 ; Kawada et al. 2002b, 2004ab*), le chien anesthésié (*Scher & Young 1963 ; Kubota et al. 1992 ; Yoshida et al. 1994*) et le chat anesthésié (*Levison et al. 1966*). Chez l'Homme, les réponses de la PA systémique à des variations sinusoïdales de la pression transmurale au niveau des sinus carotidiens, imposées par la méthode du collier d'aspiration (voir chapitre I, paragraphe 3.1.2), montrent que des oscillations de PA peuvent être provoquées jusqu'à 0,1 Hz mais pas au-delà (*Bernardi et al. 1997*).

Figure 16. Fonction de transfert (gain et phase) et fonction de cohérence moyennes (\pm SD ; $n = 11$) entre la pression au niveau des barorécepteurs carotidiens isolés et la PA systémique (SAP), chez des rats anesthésiés vagotomisés et barodénervés. Le tracé du bas présente la simulation de la réponse de la PA systémique à une variation soutenue de la pression au niveau des barorécepteurs, réalisée grâce aux paramètres de la fonction de transfert (D'après *Sato et al. 2003*).

Noter la diminution du gain et de la phase indiquant la présence d'un filtre passe-bas.



Les propriétés dynamiques du baroréflexe artériel conditionnent la rapidité et l'efficacité du contrôle de la PA à court terme (*Sunagawa et al. 2001*) :

1/ L'arc central accélère la réponse baroréflexe pour compenser la lenteur de l'arc périphérique. (*Sato et al. 2003*). Pour l'arc central, la réponse statique maximale de l'ANS est atteinte en 0,4 s (Figure 9, dernier tracé). Pour l'arc périphérique, le temps nécessaire pour atteindre 90 % de la réponse statique est d'environ 25 s (Figure 13, dernier tracé). Pour la boucle baroréflexe complète (combinant l'arc central et l'arc périphérique), le temps nécessaire pour atteindre 90 % de la réponse statique est d'environ 7 s (Figure 16, dernier tracé). Ces caractéristiques semblent nécessaires pour optimiser la correction rapide des perturbations tensionnelles (*Ikeda et al. 1996 ; Kawada et al. 2003*).

2/ L'arc central compense la diminution du gain induite par l'arc périphérique et augmente donc l'efficacité de la boucle baroréflexe complète. En effet, en fonction de la fréquence, la pente de diminution du gain de la fonction de transfert de la boucle baroréflexe est moins importante que celle de l'arc périphérique seul, chez le lapin anesthésié (*Kawada et al. 2002b*) comme chez le rat anesthésié (Figure 13 et Figure 16, *Sato et al. 2003*).

1.6. Conclusion

En conclusion, le baroréflexe sympathique se comporte comme un filtre passe-bas associé à un délai fixe. Les caractéristiques de l'arc périphérique permettent de considérer la boucle baroréflexe sympathique comme fonctionnellement ouverte au-delà de 1 Hz chez le rat (*Julien et al. 2001*). *Chapuis et al. (2004)* ont décrit un modèle linéaire du contrôle tensionnel par le baroréflexe sympathique chez le rat utilisant les paramètres des fonctions de transfert de l'arc central (Figure 11, *Petiot et al. 2001*) et de l'arc périphérique (Figure 14). Les auteurs ont appliqué leur modèle aux données de PA et d'ANS rénale recueillies chez des rats avec dénervation sino-aortique (*Julien et al. 2003*). Ils ont montré au moyen de ces données que le modèle est capable de simuler une variabilité (jusqu'à 1 Hz) de la PA et de l'ANS comparable à celle observée chez des rats ayant des barorécepteurs intacts.

2. BARORÉFLEXE ET VARIABILITÉ CARDIO-VASCULAIRE

Les enregistrements continus de PA et d'ANS montrent la présence de fluctuations de type aléatoire et de type rythmique. Les premières apparaissent largement associées aux comportements naturels et aux réponses aux stimuli environnementaux. Les deuxièmes surviennent spontanément sous la forme d'oscillations régulières (*pour revue Malpas 1998 ; Souza Neto et al. 2003*).

La variabilité cardio-vasculaire est évaluée soit par le calcul d'indices statistiques dans le domaine temporel (écart-type, coefficient de variation), soit par l'analyse spectrale dans le domaine fréquentiel (*Cerutti et al. 1991 ; Souza Neto et al. 2003*). Cette dernière est devenue un moyen classique pour mesurer la variabilité de la PA et de l'ANS. Cette méthode permet de décomposer un signal complexe en un nombre fini de sinusoides de fréquences croissantes. Les spectres obtenus présentent en abscisse une échelle de fréquence et en ordonnée une échelle d'amplitude (Figure 17). Deux méthodes de calculs sont couramment utilisées pour

effectuer l'analyse spectrale simple, la transformée de Fourier et la méthode autorégressive. L'utilisation de ces algorithmes permet de fournir la puissance spectrale (égale à l'aire sous la courbe du spectre) qui renseigne sur l'ensemble de la variabilité du signal (*Persson 1997 ; Stauss 2007*).

2.1. Variabilité de la PA et de l'ANS

Chez l'Homme (*Ando et al. 1997 ; Pagani et al. 1997 ; Nakata et al. 1998*) et le rat, (*Persson et al. 1992 ; Burgess et al. 1999 ; Kunitake & Kannan 2000 ; Julien et al. 2003*), les spectres de PA et d'ANS présentent des pics à des fréquences identiques indiquant la présence d'oscillations synchrones (Figure 17).

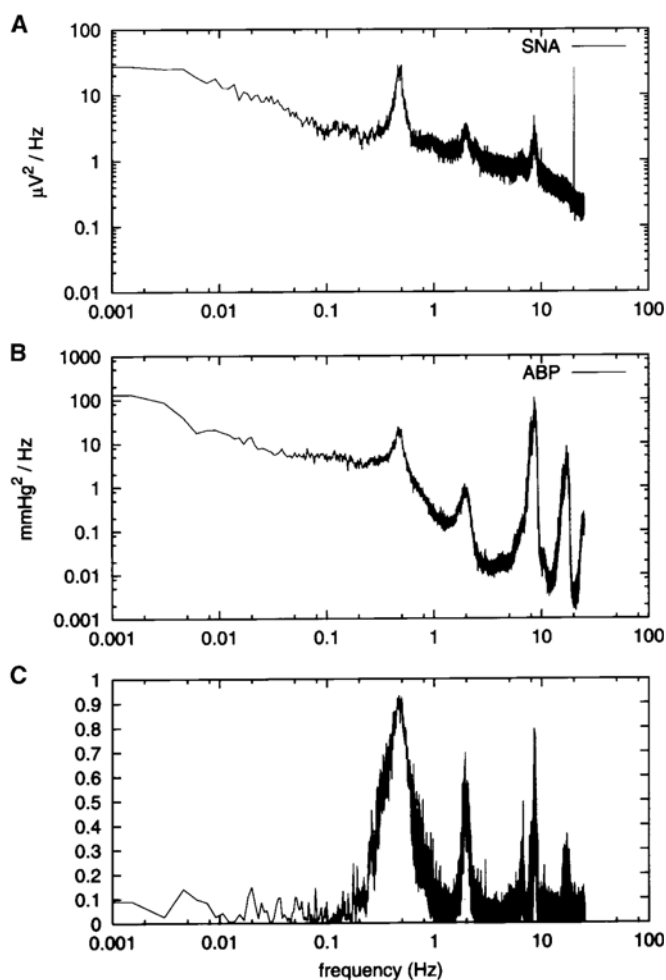


Figure 17. Densité spectrale de puissance de l'ANS rénale (A) et de la PA (B) chez un rat vigilant. (C) présente la fonction de cohérence qui quantifie la relation linéaire entre les fluctuations des deux signaux (D'après *Burgess et al. 1999*).

Noter la présence de pics dans les spectres de PA et d'ANS rénale à des fréquences identiques.

Les spectres peuvent être divisés en bandes de fréquences. Le plus souvent, en partant des fréquences les plus élevées, on distingue :

1/ une bande contenant la fréquence correspondant aux fluctuations rythmiques de PA et d'ANS reliées au battement cardiaque (Figure 18). Cette bande est au voisinage de 5-7 Hz chez le rat (Figure 17, *Burgess et al. 1999 ; Petiot et al. 2001*) et de 1 Hz chez l'Homme (*Oda et al. 2004 ; Wallin et al. 2006, 2007*). Le calcul de la fonction de cohérence montre que chez le rat vigile, les oscillations de PA et d'ANS à cette fréquence sont fortement et linéairement reliées (Figure 17 C, *Burgess et al. 1999*).

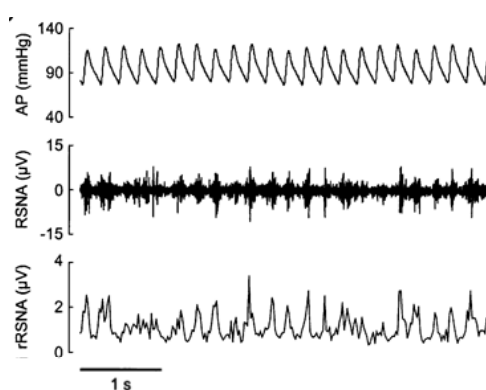


Figure 18. Exemple de tracés de PA et d'ANS rénale brute et rectifiée (rRSNA) chez un rat anesthésié par l'uréthane (D'après *Petiot et al. 2001*).

Noter les décharges de l'ANS rénale synchrones du battement cardiaque.

2/ une bande dite de « haute fréquence » qui contient les oscillations de PA et d'ANS synchrones de la respiration (Figure 19). Ces oscillations sont comprises entre 1 et 2 Hz chez le rat (Figure 17, *Burgess et al. 1999 ; Figure 21, Julien et al. 2003*) et voisines de 0,25 Hz chez l'Homme (*Pagani et al. 1997*). La PA oscille à la fréquence respiratoire secondairement à l'effet mécanique des modifications de pression intra-thoracique survenant lors de l'inspiration et de l'expiration (*Cerutti et al 1994 ; Julien et al. 1995 ; Janssen et al. 1995 ; Nakata et al. 1998*). Les fibres nerveuses sympathiques sont en général activées durant l'inspiration (*Malpas 1998*). Le plus souvent, la cohérence entre ces deux variables est modérée voire faible dans cette bande de fréquence, indiquant que les oscillations de PA et d'ANS ne sont pas fortement reliées ou bien contaminées par des sources de bruit (Figure 21 C, *Julien et al. 2003*).

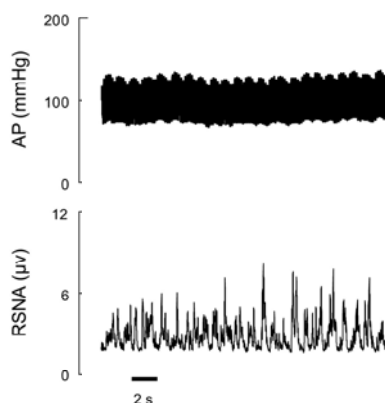


Figure 19. Exemple de tracés de PA et d'ANS rénale rectifiée chez un rat vigile ayant subi une dénervation sino-aortique (D'après *Julien et al. 2003*).

Noter la présence de fluctuations rapides d'ANS qui sont associées aux fluctuations respiratoires de la PA.

3/ une bande dite de « moyenne fréquence » qui contient des oscillations vasomotrices de PA, souvent appelées « ondes de Mayer ». A ces oscillations sont associées des oscillations synchrones d'ANS (Figure 20). Leur fréquence moyenne est de 0,4 Hz chez le rat (*Brown et al. 1994* ; Figure 17, *Burgess et al. 1999* ; *Kunitake & Kannan 2000* ; Figure 21, *Julien et al. 2003*) et de 0,1 Hz chez l'Homme (*Malliani et al. 1994* ; *Pagani et al. 1997* ; *Nakata et al. 1998* ; *Van de Borne et al. 2001* ; *Cohen & Taylor 2002*). La cohérence entre la PA et l'ANS est très significative dans cette bande de fréquence indiquant que les oscillations de ces variables sont fortement et linéairement corrélées (Figure 17 C, *Burgess et al. 1999* ; Figure 21 C, *Julien et al. 2003*).

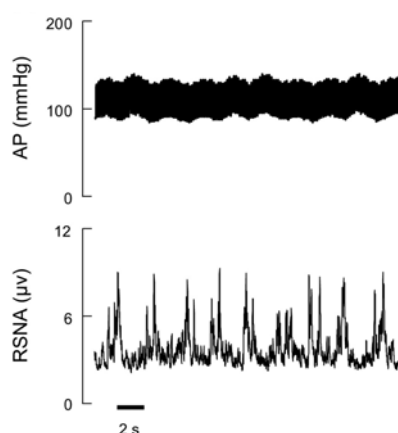


Figure 20. Exemple de tracés de PA et d'ANS rénale rectifiée chez un rat vigile intact (D'après *Julien et al. 2003*).

Noter l'opposition de phase entre les ondes de Mayer et les oscillations d'ANS rénale.

4/ une bande dite de « basse fréquence » qui comprend toutes les variations lentes ($< 0,2$ Hz chez le rat et $< 0,05$ Hz chez l'Homme) et qui ne sont pas nécessairement de nature oscillatoire. Les divers comportements contribuent largement à ce type de variabilité tensionnelle (Julien *et al.* 2003). En effet, la puissance spectrale de la PA est fortement diminuée dans cette bande chez le rat anesthésié (Cheng *et al.* 2004). L'étude des oscillations lentes de PA et d'ANS nécessite des enregistrements de longue durée (plusieurs heures) afin d'obtenir une bonne résolution fréquentielle. Ceci est relativement facile pour la PA mais en général beaucoup plus difficile pour l'ANS en raison de la faible durée de survie du nerf dans les conditions d'enregistrement (Barrett *et al.* 2003, 2005 ; Malpas 2004). A partir de ces longues périodes d'enregistrement, les spectres obtenus permettent de mettre en évidence une relation linéaire inverse entre la puissance spectrale et la fréquence sur une échelle logarithmique. Cette relation est dite de type $1/f$ et témoigne des propriétés fractales du signal analysé (Marsh *et al.* 1990 ; Persson 1997 ; Figure 17, Burgess *et al.* 1999 ; Figure 21, Julien *et al.* 2003 ; Brown *et al.* 2006).

2.2. Rôle du baroréflexe dans la variabilité cardio-vasculaire

Pour examiner le rôle d'une boucle de rétrocontrôle, il faut interrompre son fonctionnement en ouvrant cette boucle. L'ouverture de la boucle du baroréflexe sympathique peut être réalisée au niveau : 1/ des afférences du réflexe par dénervation des barorécepteurs sino-carotidiens et aortiques (Zhang *et al.* 1995 ; Petiot *et al.* 2001 ; Kunitake & Kannan 2000 ; Julien *et al.* 2003 ; Malpas *et al.* 2006) ; 2/ des voies nerveuses centrales par lésion au niveau du NTS (Buchholz *et al.* 1984, 1986ab) ; 3/ des efférences nerveuses sympathiques par sympathectomie chimique (Julien *et al.* 1990 ; Zhang *et al.* 1994), blocage ganglionnaire (Létienné *et al.* 1998) ou blocage alpha adrénergique (Nakata *et al.* 1998 ; Van de Borne *et al.* 2001 ; Barrès *et al.* 2001 ; Cevese *et al.* 2001).

Ces modèles mettent en évidence le rôle du baroréflexe dans le contrôle de la variabilité lente de la PA et dans la genèse de certaines oscillations de PA et d'ANS, notamment dans la bande contenant la fréquence cardiaque et dans la bande des ondes de Mayer.

2.2.1. Rôle dans le contrôle de la variabilité tensionnelle

La variabilité tensionnelle dans les basses fréquences est fortement contrôlée par le baroréflexe sympathique. En effet, toute ouverture de la boucle baroréflexe, au niveau de ses

voies afférentes (dénervation sino-aortique ; *Barrès et al. 1992* ; *Cerutti et al. 1994* ; *Jacob et al. 1995* ; Figure 21 A, *Julien et al. 2003*), au niveau central (lésion du NTS ; *Buchholz et al. 1986b*) ou au niveau de ses voies efférentes (sympathectomie chimique ; *Julien et al. 1990* ; *Zhang et al. 1994*), induit une forte augmentation de la variabilité tensionnelle, qu'elle soit estimée par l'écart-type ou la puissance spectrale dans la bande de basse fréquence.

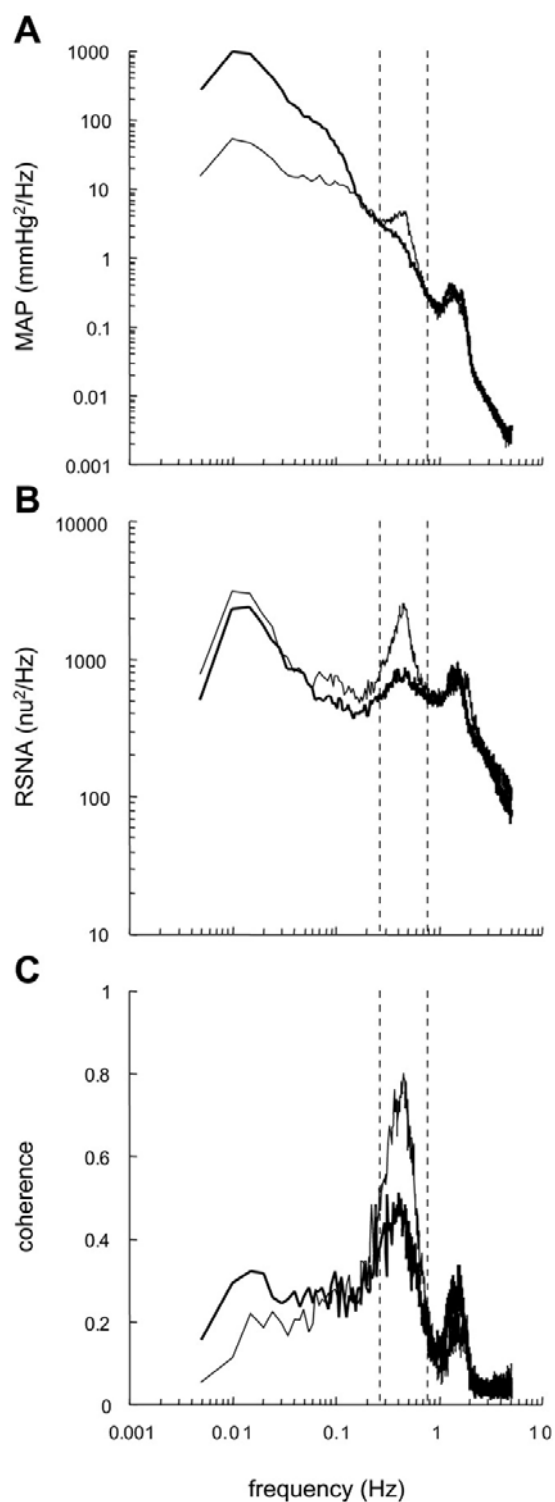


Figure 21. Spectres moyens de PA (A), d'ANS rénale (B) et de cohérence (C) chez des rats contrôles ($n = 10$; lignes fines) et des rats avec dénervation des barorécepteurs sino-aortiques (SAD, $n = 10$; lignes épaisses). Les lignes verticales en trait pointillé délimitent les bandes de basse fréquence (0,005 – 0,27 Hz), moyenne fréquence (0,27 – 0,74 Hz) et de haute fréquence (0,74 – 5 Hz) (D'après *Julien et al. 2003*).

Noter que la dénervation des barorécepteurs induit une diminution de la puissance spectrale dans la bande de moyenne fréquence de PA et d'ANS rénale. Par ailleurs, la puissance spectrale de PA dans les basses fréquences est augmentée alors que la puissance spectrale d'ANS rénale est peu modifiée. Les puissances spectrales et la cohérence dans la bande respiratoire (haute fréquence) ne sont pas affectées par la dénervation.

Cependant, malgré le rôle majeur du baroréflexe sympathique dans le contrôle de la variabilité tensionnelle, la cohérence entre la PA et l'ANS rénale dans les basses fréquences est faible et, généralement, ne diffère pas significativement de zéro (Figure 17 C, *Burgess et al. 1999* ; Figure 21 C, *Julien et al. 2003*). De plus, la dénervation des barorécepteurs n'a pas d'effet sur la variabilité lente de l'ANS (Figure 21 B) et sur la relation linéaire (cohérence) entre la PA et l'ANS rénale dans ces basses fréquences (Figure 21 C, *Julien et al. 2003*). Ce résultat est difficile à concilier avec un rôle important du baroréflexe dans le contrôle des fluctuations lentes d'ANS.

Une première explication proposée pour comprendre cette absence de cohérence résulterait de la capacité que le baroréflexe a : 1/ de générer des fluctuations d'ANS en réponse à des variations de PA et 2/ de limiter l'amplitude d'autres variations d'ANS d'origine centrale (*Julien et al. 2003* ; *Chapuis et al. 2004*) capables d'induire des variations de PA de même sens. Ainsi, le baroréflexe augmente l'ANS afin de limiter les chutes de PA reliées aux mouvements par exemple (variations de PA et d'ANS en sens inverse), et limite l'augmentation d'ANS d'origine centrale liée aux comportements et aux stress environnementaux (variations de PA et d'ANS dans le même sens ; les effets du comportement sont détaillés dans le chapitre II). En conséquence, un type donné de variations de PA n'est pas toujours associé au même profil de variation de l'ANS, d'où une cohérence faible entre les deux variables.

Un contrôle différentiel des ANS régionales pourrait aussi expliquer le manque de cohérence entre les fluctuations lentes de la PA et d'une ANS spécifique. Dans ces conditions, pour une ANS donnée, dans la mesure où les variations de PA ne sont pas toujours associées à un même type de variation d'ANS, il est attendu que la cohérence soit faible. Diverses études ont suggéré l'existence d'un contrôle différentiel des ANS régionales en réponse à différents stimuli (*Morrison 2001a*).

2.2.2. Rôle dans la genèse de la variabilité tensionnelle

1/ La rythmicité à la fréquence cardiaque est une caractéristique fondamentale des ANS barosensibles. Deux mécanismes impliquant le baroréflexe ont été suggérés pour expliquer la genèse du rythme cardiaque de l'ANS (*McAllen & Malpas 1997*) : 1/ l'entraînement par le baroréflexe d'un oscillateur central (*Gebber 1980* ; *Barman & Gebber 1980, 2000* ; *Gilbey*

2001) et, 2/ l'inhibition périodique par les barorécepteurs de l'ANS générée au niveau central de manière globalement aléatoire (Petiot *et al.* 2001 ; Kunitake & Kannan 2000). Cette seconde hypothèse est préférée puisque la dénervation des barorécepteurs sino-aortiques abolit complètement ce rythme, au moins au niveau de l'ANS rénale chez des rats éveillés (Figure 22 B, Kunitake & kannan 2000) ou anesthésiés (Figure 23 B, Petiot *et al.* 2001), sans faire apparaître d'autre fluctuation rythmique qui correspondrait à l'activité d'un oscillateur central. Dans les conditions normales, l'amplitude de cette oscillation d'ANS pourrait dépendre de l'amplitude du signal d'entrée, donc de la pulsativité de la PA (Kawada *et al.* 2002b, 2004b) et du gain de la fonction de transfert entre la PA et l'ANS à la fréquence cardiaque (Bertram *et al.* 2005).

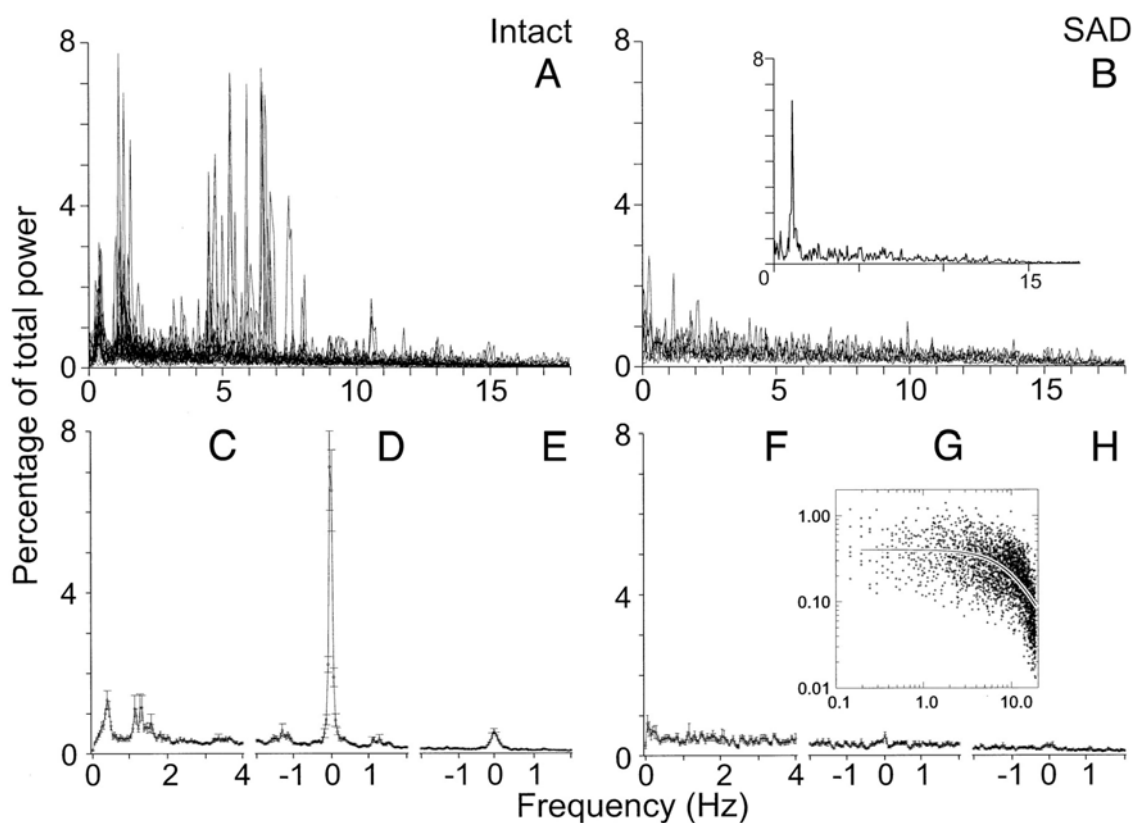


Figure 22. Spectres superposés d'ANS rénale chez des rats intacts (A, $n = 12$) ou ayant subi une dénervation des barorécepteurs sino-aortiques (SAD) deux jours avant l'étude (B, $n = 12$). Dans le graphe B, le spectre en insert montre l'apparition sporadique d'oscillations à la fréquence respiratoire après SAD. C et F présentent la moyenne des puissances < 4 Hz, respectivement chez les rats intacts et SAD. D et G montrent les spectres moyens centrés à la fréquence cardiaque, respectivement chez les rats intacts et SAD. E et H montrent les harmoniques correspondantes (D'après Kunitake & Kannan 2000).

Noter le spectre presque plat de l'ANS rénale (B) chez les rats SAD. Le graphe G montre la fonction lorentzienne ajustée aux données de puissance spectrale chez les rats SAD, ce qui suggère la nature aléatoire du signal.

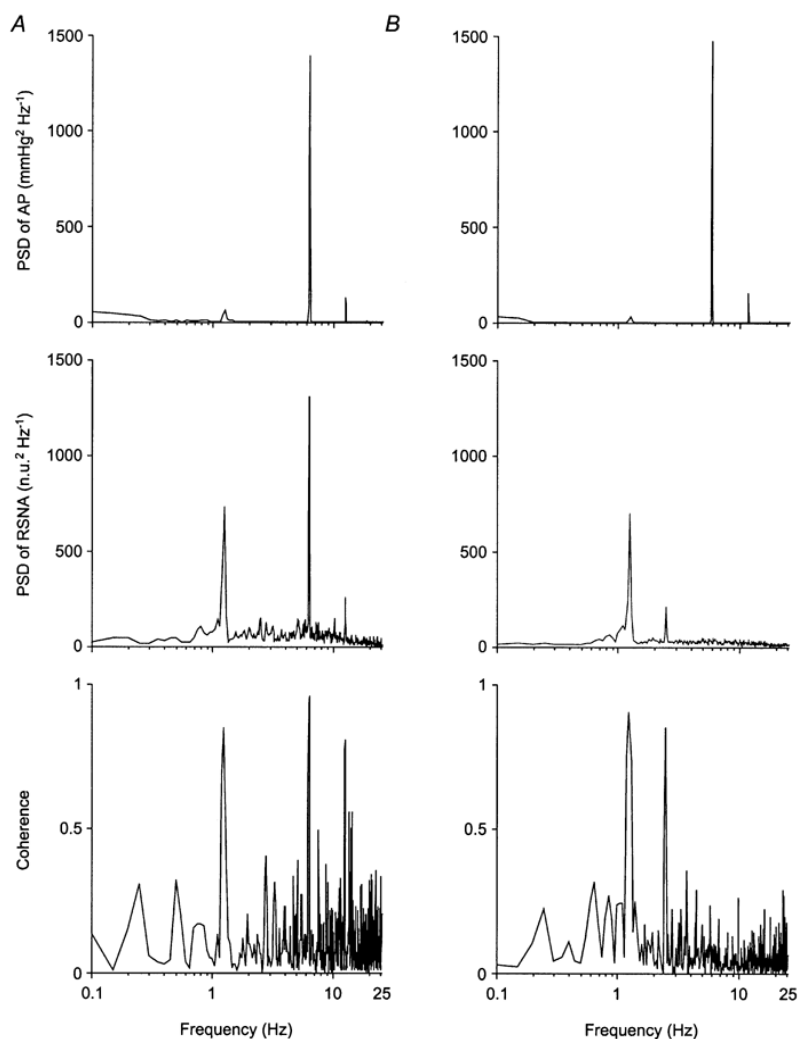


Figure 23. Effet de la dénervation aiguë des barorécepteurs sino-aortiques (SAD) sur la rythmicité de l'ANS rénale chez des rats anesthésiés par l'uréthane. Sont représentées les densités spectrales de puissance de la PA et de l'ANS rénale chez des rats intacts (A) et SAD (B) ainsi que la fonction de cohérence correspondante entre ces deux variables (D'après *Petiot et al. 2001*).

Noter dans le spectre de l'ANS rénale chez les rats SAD, la disparition du pic à la fréquence cardiaque (environ 6 Hz) et la persistance du pic dans la bande respiratoire (entre 1 et 2 Hz)

Une seule étude réalisée chez des lapins vigils, montre que ce rythme de l'ANS rénale n'est pas aboli par la dénervation des barorécepteurs. Les auteurs suggèrent que la persistance d'un faible nombre de fibres afférentes baroréceptrices pourrait être responsable de ce résultat (*Malpas et al. 2006*).

2/ Chez le rat comme chez l'Homme, la mesure simultanée de la PA et du débit cardiaque indique que les oscillations respiratoires de PA sont secondaires à des oscillations du débit cardiaque (*Toska & Eriksen 1993 ; Janssen et al. 1995*). Ces fluctuations de PA peuvent alors

activer les barorécepteurs artériels et cardio-pulmonaires entraînant des modifications périodiques de l'ANS. Ceci n'explique toutefois pas complètement la genèse de ce rythme au niveau de l'ANS. En effet, des rats avec une dénervation sino-aortique présentent toujours une oscillation d'ANS dans la bande de fréquence respiratoire (Figure 22 B, *Kunitake & Kannan 2000* ; Figure 23 B, *Petiot et al. 2001* ; Figure 21 B, *Julien et al. 2003*). De même, après dénervation sino-aortique, la cohérence entre la PA et l'ANS à la fréquence respiratoire n'est pas altérée (Figure 23 B, *Petiot et al. 2001* ; Figure 21 C, *Julien et al. 2003*).

En outre, chez le rat, sous ventilation assistée associée à un pneumothorax (afin d'éliminer les oscillations de PA et donc la mise en jeu du baroréflexe) et à une vagotomie (suppression des influx respiratoires), l'ANS présente toujours un rythme respiratoire (*Miyawaki et al. 1995*). Il a donc été proposé que le rythme respiratoire de l'ANS soit d'origine mixte, centrale et baroréflexe (*Häbler et al. 1996* ; *Badra et al. 2001* ; *Mandel et al. 2006*), secondairement à un couplage entre les neurones des centres respiratoires et les neurones du système nerveux autonome (*Häbler & Janig 1995* ; *Pilowsky 1995* ; *Cohen & Taylor 2002*).

3/ Deux théories ont été avancées pour expliquer l'origine des ondes de Mayer et des oscillations synchrones d'ANS (*Julien 2006*) :

D'une part, une origine centrale. En effet, l'enregistrement de l'activité unitaire de neurones bulbaires, chez des chats anesthésiés, bivagotomisés et barodénervés, révèle l'existence d'un rythme lent autour de 0,1 Hz, ce qui correspond à la fréquence des ondes de Mayer chez le chat. Ce résultat suggère que ce rythme provient de l'activité d'un oscillateur central (*Montano et al. 2000*).

D'autre part, une origine baroréflexe. En effet, l'ouverture de la boucle baroréflexe, au niveau de ses afférences par dénervation des barorécepteurs sino-aortiques (*Cerutti et al. 1994* ; *Kunitake & Kannan 2000* ; Figure 21, *Julien et al. 2003* ; *Barrès et al. 2004*) ou au niveau de ses efférences par sympathectomie chimique (*Julien et al. 1995*) ou par blocage alpha-adrénergique (*Nakata et al. 1998* ; *van de Borne et al. 2001* ; *Barrès et al. 2001*), diminue fortement l'amplitude des ondes de Mayer et des oscillations associées d'ANS. De plus, la cohérence entre la PA et l'ANS à ces fréquences est fortement atténuée, indiquant que les fluctuations résiduelles sont moins reliées entre elles (Figure 21 C, *Julien et al. 2003* ; *Barrès et al. 2004*). Ces observations sont en faveur de l'hypothèse selon laquelle ces oscillations sont d'origine baroréflexe (*Cohen & Taylor 2002* ; *Julien 2006*).

Le mécanisme proposé est un phénomène de résonance dans la boucle baroréflexe dû à ses caractéristiques dynamiques et à la présence d'un délai fixe (*Burgess et al. 1997* ; *Bertram et*

al. 1998). En effet, une perturbation de PA est corrigée via une modification baroréflexe d'ANS, qui induit à son tour une variation de PA en sens contraire et retardée. A la fréquence de résonance, la correction baroréflexe se trouve en phase avec la perturbation déclenchante. En conséquence, le système est potentiellement instable et peut donc induire une oscillation auto-entretenu si le gain du système est suffisamment élevé. Il a été démontré chez le rat anesthésié que la phase entre la stimulation électrique du nerf aortique dépresseur (*Bertram et al. 1998*) ou la pression au niveau du sinus carotidien isolé (*Sato et al. 2003*) (signaux d'entrée) et la PA (signal de sortie) est nulle à la fréquence de 0,4 Hz. Ainsi, les oscillations de PA et d'ANS dans cette bande de fréquence semblent être un effet secondaire de la mise en jeu normale du baroréflexe (*Chapuis et al. 2004*).

2.3. Conclusion

L'ensemble de ces études montre que le baroréflexe sympathique joue un rôle important dans le contrôle de la variabilité de la PA, à la fois en limitant ses fluctuations lentes et en générant des oscillations plus rapides, dites ondes de Mayer.

3. LES INDEX DE SENSIBILITÉ DU BARORÉFLEXE SYMPATHIQUE

Le plus souvent, la sensibilité du baroréflexe est quantifiée comme la réponse du système (variation du signal de sortie, ici l'ANS) à des variations imposées du signal d'entrée, la PA. Ces dernières sont généralement induites par des interventions d'origine pharmacologique ou mécanique. Une approche alternative consiste à utiliser comme signal d'entrée les fluctuations spontanées de la PA (*Persson et al. 2001 ; Lanfranchi & Somers 2002 ; Stauss et al. 2007*).

3.1. Les méthodes fondées sur des variations imposées de PA

Les diverses techniques mises en œuvre chez l'animal reposent sur des variations induites de PA, obtenues grâce à des méthodes pharmacologiques (administrations d'agents vasoconstricteurs ou vasodilatateurs) ou mécaniques (ballonnets placés sur des gros troncs vasculaires). Chez l'Homme, des méthodes pharmacologiques et des méthodes mécaniques non invasives ont été appliquées.

3.1.1. Méthode pharmacologique

Elle consiste à induire des modifications de PA par l'administration intraveineuse de substances vasoactives, en général le nitroprussiate de sodium (vasodilatateur) et la phényléphrine (vasoconstricteur), et à mesurer les réponses réflexes de l'ANS. La relation entre la PA et l'ANS renseigne sur les propriétés du baroréflexe, notamment le seuil de mise en jeu, la saturation et la sensibilité. De plus, cette méthode permet de situer le point de fonctionnement du système sur la courbe baroréflexe, dans les conditions de base.

a) Mise en œuvre

Décrite chez l'Homme en 1969 par Smyth *et al.*, la méthode pharmacologique s'est imposée comme la méthode de référence (Parati *et al.* 2004). La méthode originale, connue sous le nom de méthode d'Oxford, examine la relation linéaire qui existe entre la PA et la fréquence cardiaque, grâce à des augmentations de PA induites par l'administration intraveineuse d'angiotensine II (Smyth *et al.* 1969). Cependant, Koch *et al.* (1931) ont montré dès 1931 que la relation entre la pression au niveau du sinus carotidien et la PA systémique est de nature sigmoïde inverse. Pour tenir compte de cette non-linéarité de la relation baroréflexe, Korner *et al.* (1972) ont décrit les plateaux de réponse maximale en utilisant des équations différentes pour les augmentations et les diminutions de PA. Kent *et al.* (1971) ont remplacé les deux courbes hyperboliques par une seule équation sigmoïde à 4 paramètres (voir traitement des données ci-dessous). Ricketts et Head (1999) ont par la suite décrit une équation à 5 paramètres qui tient compte de l'asymétrie possible de la courbe baroréflexe.

En 1987, Head *et al.* ont utilisé cette méthode chez le rat en réalisant alternativement des injections intraveineuses de doses variables de phényléphrine et de nitroprussiate de sodium, afin d'induire des augmentations et des diminutions d'amplitude variable de la PA. Depuis, différentes cinétiques d'administration des mêmes produits vasoactifs ont été utilisées, en bolus ou en perfusion, lors d'administrations séquentielles de chaque substance, séparées ou non par un retour de la PA à sa valeur de base. Chez l'Homme (Ebert & Cowley 1992 ; Lipman *et al.* 2003) et chez le rat (Hinojosa-Laborde *et al.* 1994 ; Cheng *et al.* 2004), le nitroprussiate de sodium et la phényléphrine peuvent être administrés séquentiellement pour étudier le baroréflexe sympathique. La phényléphrine est administrée à partir du moment où l'effet hypotenseur du nitroprussiate de sodium est maximal. D'autres auteurs séparent les

injections de nitroprussiate de sodium et de phényléphrine par un retour aux valeurs de base de PA et d'ANS chez l'Homme (*Matsukawa et al. 1996*) et le rat (*Miki et al. 2003b ; Nagura et al. 2004*). Ceci permet d'éviter la survenue d'une hystérésis qui est parfois observée lors de l'étude du contrôle baroréflexe de la fréquence cardiaque (*Rudas et al. 1999*).

b) Traitement des données

Pour étudier dans son ensemble le contrôle baroréflexe de l'ANS, la méthode pharmacologique doit : 1/ inclure des augmentations et des diminutions de PA, 2/ induire des variations de PA suffisamment amples (chez le rat de 60 à 160 mmHg) afin d'atteindre les plateaux d'inhibition et d'activation maximales, 3/ inclure assez de points pour décrire les plateaux.

Une fois les données expérimentales de PA et d'ANS recueillies, un ajustement de type sigmoïde (Figure 24) est réalisé en utilisant l'équation suivante :

$$\text{ANS} = P_4 + P_1 \{ 1 + \exp [P_2 (\text{PA} - P_3)] \}$$

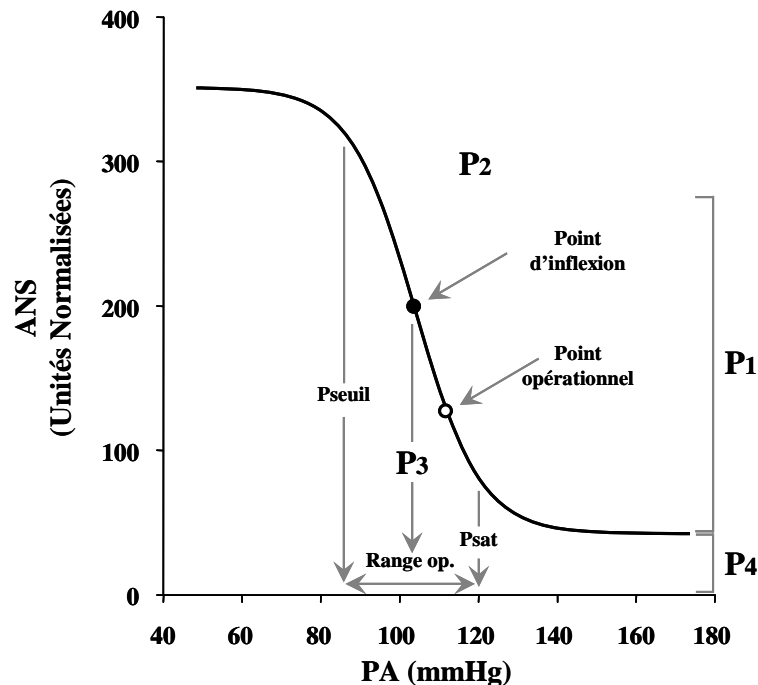


Figure 24. Courbe théorique illustrant la relation baroréflexe entre la PA et l'ANS. Les paramètres de la courbe sigmoïde (P_1 , P_2 , P_3 , P_4) permettent de décrire les caractéristiques du baroréflexe et de calculer la pression seuil (Pseuil), la pression de saturation (Psat) et l'intervalle opérationnel du baroréflexe (Range op).

Noter que le point opérationnel est déterminé par les niveaux de base de PA et d'ANS.

Dans cette équation : P_1 est l'étendue maximale des variations d'ANS (range, unités normalisées, UN) ; P_2 est le coefficient de pente (mmHg^{-1}) ; P_3 est la valeur de PA au point d'inflexion de la sigmoïde (classiquement appelée BP_{50} , mmHg) ; et P_4 est la valeur du plateau bas de la courbe (UN).

A partir de ces paramètres initiaux, d'autres variables caractéristiques peuvent être calculées :

1/ le **plateau d'activation sympathique** (UN) = $P_1 + P_4$,

2/ les **PA seuil et de saturation**, qui peuvent être calculées de deux façons. La première méthode considère la PA seuil et la PA de saturation à l'intersection de la tangente au point d'inflexion avec les plateaux de sympathoexcitation et de sympathoinhibition, respectivement (*Chen & Chang 1991*). Ces intersections se trouvent à 11,9 % du range d'ANS (P_1) en dessous et en dessus des plateaux, respectivement (*McDowall & Dampney 2006a*). Elles peuvent être calculées grâce aux formules suivantes : PA seuil (mmHg) = $P_3 - 2/P_2$ et PA saturation (mmHg) = $P_3 + 2/P_2$.

La deuxième méthode calcule les niveaux de pression à 5 % du range d'ANS (P_1) en dessous et en dessus des plateaux (*McDowall & Dampney 2006a*). Les formules suivantes permettent de déterminer ces niveaux de PA : PA seuil (mmHg) = $P_3 - 2,944/P_2$ et PA saturation (mmHg) = $P_3 + 2,944/P_2$.

3/ L'**étendue opérationnelle** (Range op, mmHg) = PA saturation – PA seuil, et indique l'intervalle de PA dans lequel l'ANS peut être modulée.

4/ La **sensibilité** (ou gain) du baroréflexe est fournie par la dérivée première de la courbe sigmoïde (Figure 25). Deux valeurs particulières sont retenues, le gain maximal et le gain opérationnel (UN/mmHg) calculés aux valeurs de PA correspondant respectivement au point d'inflexion de la courbe sigmoïde et à la PA de base. Le gain maximal peut être calculé directement par la formule $-P_1.P_2/4$.

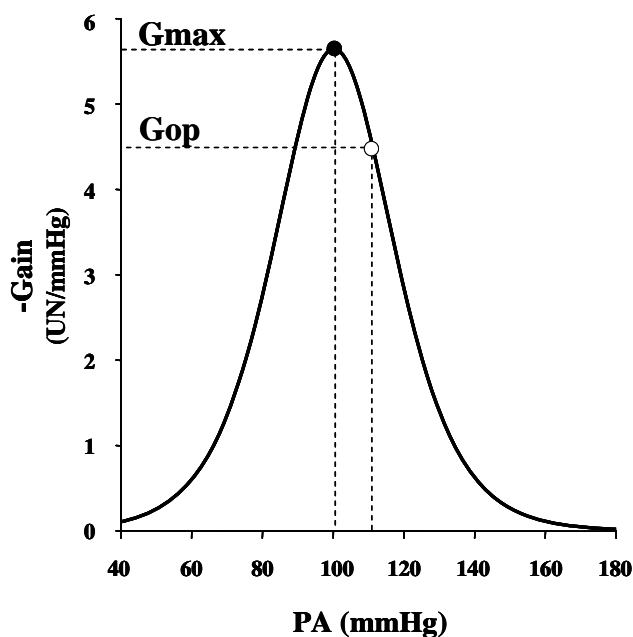


Figure 25. La fonction dérivée première de la courbe sigmoïde du baroréflexe.

Noter que le gain maximal (G_{max}) est observé à la valeur de PA correspondant au point d'inflexion de la sigmoïde et que le gain opérationnel (G_{op}) est calculé à la valeur de PA mesurée pendant la période de base.

c) Limitations de la méthode pharmacologique

Bien que cette méthode présente l'avantage d'être relativement simple à mettre en oeuvre et de permettre l'étude du système dans tout son intervalle opérationnel, elle présente certaines limitations (*Parati et al. 2004*).

→ Les substances vasoactives administrées, notamment la phényléphrine, induisent des modifications de l'activité des barorécepteurs au travers des modifications de la PA mais aussi au travers d'une distorsion mécanique des vaisseaux où se trouvent les barorécepteurs (*Peveler et al. 1983*). Des effets directs sur les terminaisons nerveuses et sur les régions centrales impliquées dans le baroréflexe ont aussi été rapportés (*Casadei et al. 2000 ; Dickinson 2001*).

Concernant l'usage du nitroprussiate de sodium, qui aboutit à la formation de monoxyde d'azote (NO), des effets directs à différents sites de la boucle baroréflexe ont été décrits (*Liu et al. 1996 ; Miyano et al. 1997a ; Matsuda et al. 1995 ; Mayorov 2005*).

La phényléphrine peut également affecter la sensibilité du baroréflexe sympathique par un effet central. L'injection intra-cérébro-ventriculaires de phényléphrine, chez des lapins anesthésiés, augmente le gain du baroréflexe sympathique rénal (*Imaizumi et al. 1984*).

Enfin, il faut noter que les lits vasculaires où sont localisés les barorécepteurs, reçoivent aussi une innervation sympathique (*Tomomatsu & Nishi 1981*). Il a été montré, chez des chiens anesthésiés, qu'une augmentation de l'ANS à destination de ces régions baroréceptrices, sensibilise les barorécepteurs (*Seagard et al. 1987*).

- ➔ Les effets hypotenseur et hypertenseur respectifs du nitroprussiate de sodium et de la phényléphrine peuvent aussi mettre en jeu d'autres réflexes, notamment le réflexe cardio-pulmonaire (*Guo et al. 1982 ; Dorward et al. 1985 ; Weinstock et al. 1988*).

- ➔ La fonction de transfert de la boucle baroréflexe montre que le gain du baroréflexe dépend de la fréquence des variations imposées à la PA. Une conséquence directe de cet effet concerne l'estimation de la sensibilité du baroréflexe après altération pharmacologique de la PA. En effet, la cinétique des modifications pharmacologiques de la PA (vitesse de variation de la PA) n'est pas contrôlée et varie selon les études (entre 0,28 et 10 mmHg/s ; *Sato et al. 2003*). Ces auteurs ont montré qu'il existe une relation linéaire positive entre la cinétique des variations de PA et la sensibilité du baroréflexe sympathique (Figure 26).

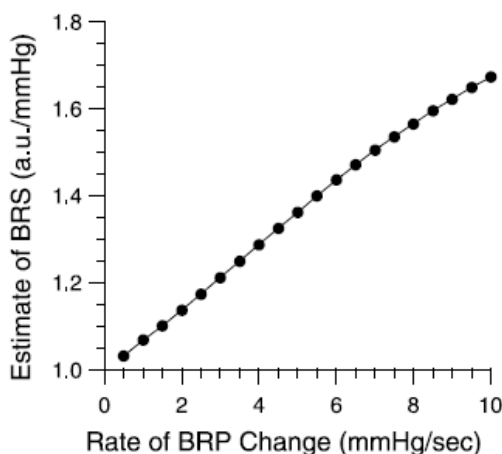


Figure 26. Relation entre la cinétique des variations de PA et la sensibilité du baroréflexe sympathique (D'après *Sato et al. 2003*).

Noter que cette relation est une simulation numérique obtenue à partir des fonctions de transfert du baroréflexe.

➔ Enfin, cette méthode réclame plusieurs minutes (3 à 10 minutes) pour sa mise en œuvre, en fonction de la cinétique d'administration des produits vasoactifs. De plus, un temps de récupération de 10 à 15 minutes doit être observé entre les tests, afin que les niveaux de PA et d'ANS reviennent complètement à leurs valeurs de base. En conséquence, la résolution temporelle de cette méthode est relativement faible.

3.1.2. Méthodes mécaniques

Chez l'animal, la PA peut être altérée par des ballonnets péri-vasculaires implantés autour de l'aorte thoracique et de la veine cave inférieure (*Korner et al. 1972 ; Dorward et al. 1985*). Le gonflage du ballonnet aortique augmente la PA au niveau des barorécepteurs. A l'inverse, le gonflage du ballonnet au niveau de la veine cave diminue le retour veineux et par conséquent, le débit cardiaque et la PA.

Une autre approche consiste à isoler le lit vasculaire contenant les barorécepteurs chez l'animal anesthésié (*Sato et al. 1999*) ou éveillé (*Faris et al. 1980 ; McKeown & Shoukas 1998*). La pression à ce niveau est alors modulée par des cathéters reliés à des pompes servo-contrôlées (*McKeown & Shoukas 1998 ; Sato et al. 1999*) ou par modification de la pression dans la capsule contenant le sinus carotidien isolé (*Faris et al. 1980*). Ces variations permettent de caractériser la relation entre la pression au niveau des barorécepteurs (signal d'entrée) et l'ANS ou la PA systémique (signaux de sortie). Ces méthodes mécaniques sont moins fréquemment utilisées, probablement à cause de l'aspect invasif de la préparation. De plus, elles mettent en jeu d'autres réflexes, notamment le réflexe cardio-pulmonaire (*Weinstock et al. 1988*).

Chez l'homme, une distension de la paroi artérielle au niveau des sinus carotidiens peut être générée par intervention mécanique au niveau du cou au moyen de la méthode du « neck chamber » ou collier de pression (*Ernsting & Perry 1957 ; Eckberg et al. 1975 ; Pawelczyk & Raven 1989*). Il s'agit de créer une dépression au niveau du cou, afin d'induire un étirement des artères carotides, simulant ainsi une augmentation de la pression au niveau des barorécepteurs. A l'inverse, une augmentation de la pression au niveau du cou induit un effet opposé et simule une diminution de pression au niveau des barorécepteurs. Cette méthode permet de décrire la courbe du contrôle baroréflexe par les barorécepteurs carotidiens sans toutefois prendre en considération l'interférence des barorécepteurs aortiques (*Potts et al. 1993*). L'application de cette méthode est techniquement compliquée (*Persson et al. 2001*) et

peut mettre en jeu le chémoréflexe, également présent au niveau du sinus carotidien (*Raven et al. 2006*).

3.2. Les méthodes fondées sur des variations spontanées de PA

Afin de s'affranchir des limitations de la méthode pharmacologique, certaines méthodes exploitent les fluctuations spontanées de PA et d'ANS pour étudier le baroréflexe (*Persson et al. 2001*). Ces méthodes ont été développées dans le domaine temporel (*Wallin & Sundlöf 1979*) ou fréquentiel (*van de Borne et al. 2000 ; Rondon et al. 2006*).

3.2.1. Dans le domaine temporel

La méthode décrite chez l'Homme par *Wallin et al. (1978, 1979)* consiste à étudier la relation spontanée qui existe entre la PA diastolique et l'ANS musculaire (Figure 27).

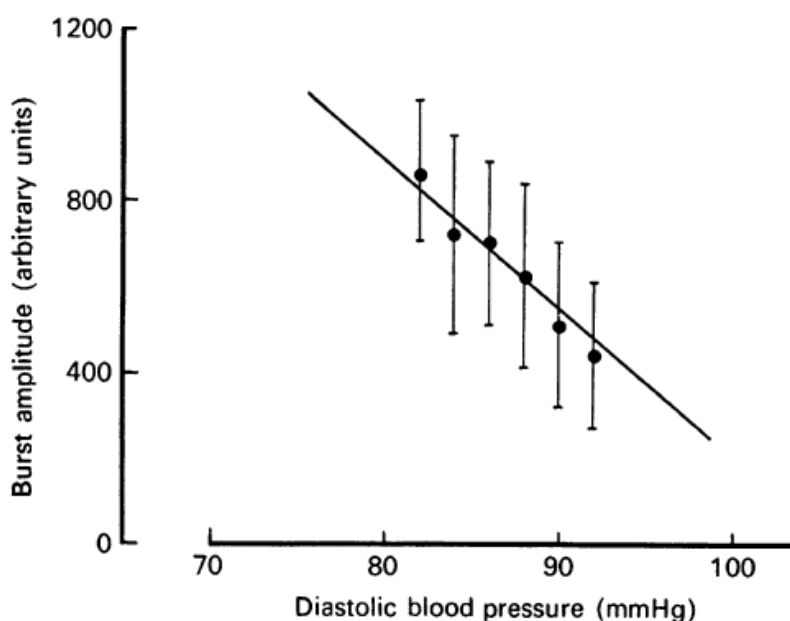


Figure 27. Relation baroréflexe entre la PA diastolique et l'amplitude des décharges nerveuses sympathiques du nerf péronier calculée sur une période de 3 min chez un sujet sain au repos. Les barres verticales indiquent l'écart-type des valeurs d'ANS regroupées dans des classes de PA diastolique de 2 à 3 mmHg (D'après *Wallin & Sundlöf 1979*).

Noter la relation linéaire inverse entre la PA diastolique et l'ANS musculaire dont la pente indique la sensibilité du baroréflexe sympathique chez ce sujet.

En principe, le passage de la PA diastolique à la PA systolique (augmentation de PA) induit une inhibition de l'ANS, alors que le passage de la PA systolique à la PA diastolique (chute de PA) induit une augmentation d'ANS. Compte tenu du délai de la transmission nerveuse, les décharges nerveuses détectées sont associées aux PA diastoliques. Ces couples de valeurs sont ensuite groupées dans des classes de 2 à 3 mmHg et une simple régression linéaire permet de déterminer la relation entre la PA diastolique et l'ANS. La pente de cette droite est considérée comme la sensibilité du baroréflexe sympathique (*Sundlöf & Wallin 1978 ; Wallin & Sundlöf 1979*). La relation est faible ou inexistante avec la PA systolique.

Cette méthode est devenue la méthode spontanée la plus fréquemment utilisée chez l'Homme pour évaluer la sensibilité du baroréflexe sympathique dans différentes situations physiologiques (*Nakazato et al. 1998 ; Ichinose et al. 2006*) et physiopathologiques (*Wallin & Sundlöf 1979 ; Wallin & Charkoudian 2007*).

3.2.2. Dans le domaine fréquentiel

Les méthodes spontanées qui utilisent l'analyse fréquentielle postulent que le baroréflexe exerce son action dans une bande de fréquence bien définie (*Persson 1997 ; Persson et al. 2001 ; Stauss 2007 ; Pinna 2007*).

van de Borne *et al.* (2000) ont utilisé les fluctuations spontanées de la PA et de l'ANS musculaire dans la bande de fréquence contenant les fluctuations respiratoires, afin d'estimer la sensibilité du baroréflexe sympathique chez l'Homme. Cet index connu sous le nom de « coefficient alpha HF (α_{HF}) » est calculé comme étant la racine carrée des rapports de puissance de l'ANS et de la PA dans cette bande de fréquence. Les variabilités de PA et d'ANS ne sont considérées que lorsque la cohérence entre ces deux variables dépasse un seuil arbitraire de 0,5. Cette méthode initialement décrite pour étudier le baroréflexe cardiaque (*Pagani et al. 1988 ; Eckberg & Kuusela 2005*) a été appliquée directement au baroréflexe sympathique sans démonstration préalable de sa validité (*Ando et al. 1997*).

D'autres auteurs ont exploité les caractéristiques de la fonction de transfert entre la PA et l'ANS pour étudier la sensibilité du baroréflexe sympathique. Rondon *et al.* (2006) ont calculé le gain de la fonction de transfert dans la bande de moyenne fréquence entre 0,2 et 0,74 Hz pour étudier le contrôle baroréflexe de l'ANS rénale chez des rats insuffisants

cardiaques avant et après exercice. Ils ont ainsi montré un effet bénéfique de l'exercice sur le baroréflexe sympathique. van den Buuse et Head (2000) ont utilisé le gain de la fonction de transfert dans la bande de fréquence 0,2-0,4 Hz chez des lapins pour estimer la sensibilité du baroréflexe.

3.2.3. Limitations des méthodes spontanées

Une limitation commune aux méthodes temporelles et fréquentielles est qu'elles explorent le baroréflexe en situation de boucle fermée, où la PA et l'ANS s'influencent mutuellement. Ainsi, Wallin *et al.* (1979) étudient la relation entre la PA diastolique et l'ANS musculaire sur des périodes de 2 à 3 minutes qui contiennent des fluctuations lentes, notamment les ondes de Mayer. Il a été démontré que les fluctuations rythmiques de PA et d'ANS dans la bande de fréquence contenant les ondes de Mayer sont secondaires à un phénomène de résonance dans la boucle baroréflexe (Julien 2006). En outre, les fluctuations d'ANS dans la bande respiratoire ne sont pas purement d'origine baroréflexe (Häbler *et al.* 1996). En conséquence, la sensibilité estimée par le coefficient alpha dans cette bande (van de Borne *et al.* 2000) ne reflète pas uniquement la mise en jeu du baroréflexe.

3.3. Conclusion

La méthode pharmacologique s'est imposée historiquement comme la méthode de référence. Néanmoins, les diverses méthodes proposées présentent toutes certaines limitations et doivent donc être considérées comme complémentaires.

CHAPITRE - II

MODULATION PHYSIOLOGIQUE DU CONTRÔLE BARORÉFLEXE
DE L'ACTIVITÉ NERVEUSE SYMPATHIQUE

1. INTRODUCTION

Le système nerveux sympathique est très largement responsable des augmentations de PA liées au comportement (*Guyenet 2006*). En effet, une sympathectomie chimique réduit fortement les réponses pressives aux différents comportements chez le rat éveillé (*del Bo et al. 1985*). Par ailleurs, le baroréflexe artériel est le principal système de contrôle rapide de la PA, essentiellement par la modulation de l'ANS efférente à destinée vasculaire. Ces observations amènent à s'interroger sur le rôle du baroréflexe sympathique dans le contrôle tensionnel pendant les différents états comportementaux.

L'enregistrement de la PA durant 24 h met en évidence l'existence de fluctuations tensionnelles marquées, caractérisées par des variations rapides (de l'ordre de la seconde) et lentes (de l'ordre de plusieurs minutes) (Figure 28) et ceci malgré la présence d'un système baroréflexe fonctionnel (*Mancia et al. 1990 ; Castiglioni et al. 1999 ; Karemaker & Wesseling 2008*).

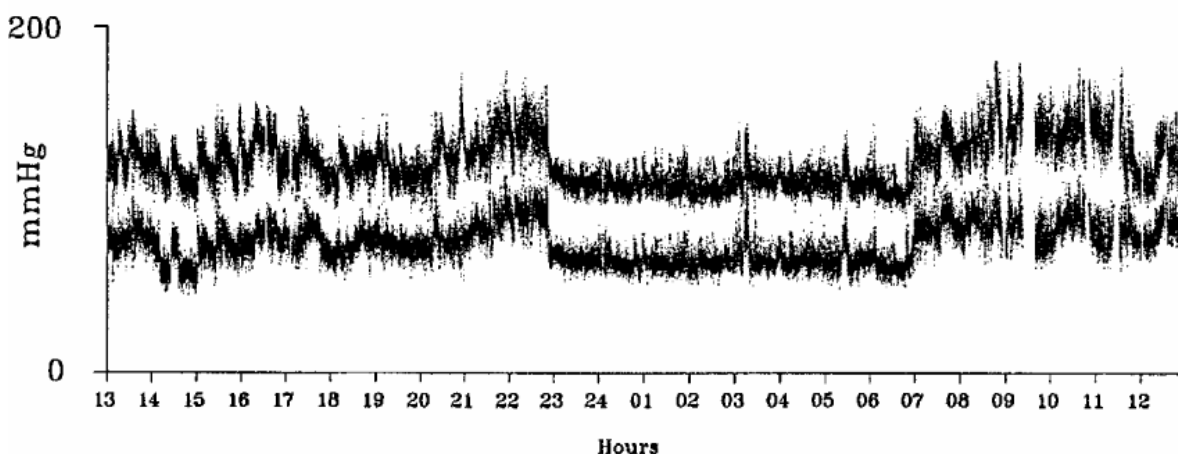


Figure 28. Enregistrement continu de la pression intra-artérielle systolique et diastolique pendant 24-h chez un sujet sain (D'après *Castiglioni et al. 1999*).

Noter la différence de variabilité tensionnelle entre la période de jour et la période de nuit.

Cette observation a été qualifiée par Wesseling *et al.* (1983) de paradoxale. Pour comprendre ce paradoxe, ils ont utilisé un modèle du contrôle nerveux de la circulation par le baroréflexe et le réflexe cardio-pulmonaire. Ils postulent que le baroréflexe doit être modulé en permanence, afin d'expliquer l'existence d'une variabilité tensionnelle. Ainsi, deux types de modulation pourraient intervenir : un réajustement du niveau de fonctionnement du système baroréflexe et une modification de sa sensibilité.

- Le réajustement est caractérisé par un déplacement de la courbe sigmoïde du baroréflexe à des niveaux de PA et/ou d'ANS, plus hauts ou plus bas. Ceci permet alors au système d'opérer dans un intervalle de PA et d'ANS différent. En conséquence, le baroréflexe reste fonctionnel, quel que soit le niveau de PA ou d'ANS, en fonctionnant à une nouvelle valeur de référence de PA et/ou d'ANS (Chapleau *et al.* 1989, 1995 ; DiCarlo & Bishop 2001).
- Une augmentation ou une diminution de la sensibilité du contrôle baroréflexe de l'ANS signifie que pour une même variation de PA, le baroréflexe induit des variations d'ANS plus ou moins importantes. Wesseling et Settels (1985, 1992) suggèrent qu'une modulation de la sensibilité du baroréflexe est nécessaire pour expliquer la variabilité tensionnelle dans leur modèle du contrôle nerveux de la circulation.

2. INFLUENCE DES ÉTATS COMPORTEMENTAUX SUR LE CONTRÔLE BARORÉFLEXE DE L'ANS

L'existence de variations spontanées de la PA en présence d'un système baroréflexe artériel fonctionnel suggère que la variabilité tensionnelle est la résultante de l'interaction permanente entre les perturbations hémodynamiques induites par les comportements et la correction apportée par le baroréflexe (Chapuis *et al.* 2004 ; Julien *et al.* 2008). Pour approcher ces interactions, diverses études ont examiné les propriétés fonctionnelles du baroréflexe sympathique durant différentes situations comportementales, afin de mieux comprendre le contrôle de la PA dans ces conditions.

Ainsi, Miki *et al.* ont caractérisé le contrôle baroréflexe de l'ANS rénale chez le rat éveillé durant divers états comportementaux (Figure 29) tels que le sommeil (lent et paradoxal), le repos, le toilettage et l'exercice (Miki *et al.* 2003b ; Nagura *et al.* 2004).

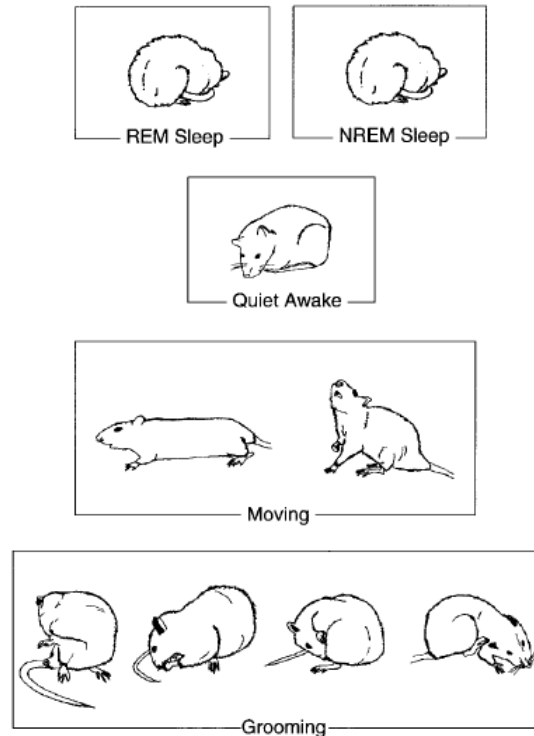


Figure 29. Illustration de différents comportements chez le rat. REM : Sommeil paradoxal ; NREM : Sommeil lent (D'après Miki *et al.* 2003a).

Noter que le sommeil lent et paradoxal sont différenciés par l'électroencéphalogramme.

Dans la suite de ce chapitre, pour chaque type de comportement étudié, seront précisés :

- 1) le ou les modèles expérimentaux utilisés.
- 2) ses conséquences cardio-vasculaires :
 - en présence d'un système baroréflexe intact.
 - après altération de ce contrôle baroréflexe, principalement par dénervation sino-aortique (SAD).
- 3) ses conséquences sur les paramètres caractéristiques des relations baroréflexes entre la PA et l'ANS.

En outre, un parallèle avec les résultats obtenus chez l'Homme sera effectué.

2.1. Influence des états de vigilance

Le sommeil est une situation comportementale bien définie qui comprend deux stades différents, le sommeil lent (ou sommeil synchronisé) et le sommeil paradoxal (ou sommeil désynchronisé), caractérisés par des régulations cardio-vasculaires différentes. Les effets cardio-vasculaires du sommeil ont été étudiés dans plusieurs espèces (*Coote 1982 ; Silvani 2008*), grâce à l'électroencéphalogramme qui permet de différencier les différents stades du sommeil.

Chez le rat ayant un système baroréflexe fonctionnel, on observe le plus souvent que :

➔ lors du passage de l'éveil au sommeil lent :

- la PA est maintenue (*Junqueira & Krieger 1976 ; Krieger & Junqueira 1983 ; Padilha & Krieger 1987 ; Silviera et al. 2008*) ou légèrement diminuée (*del Bo et al. 1982 ; Lacombe et al. 1988 ; Miki et al. 2003a*) avec une variabilité globale et lente (0,02 - 0,2 Hz) diminuée (*Lacombe et al. 1988 ; Silvani et al. 2003 ; Berteotti et al. 2007*).
- la fréquence cardiaque et l'ANS rénale sont diminuées (de 10 à 20% pour l'ANS) (*del Bo et al. 1982 ; Miki et al. 2003a ; Yoshimoto et al. 2004*).
- le débit cardiaque et les résistances périphériques totales sont inchangés avec une diminution des résistances vasculaires rénales (*Yoshimoto et al. 2004*).

➔ lors du passage du sommeil lent au sommeil paradoxal (Figure 30 et Figure 31) :

- la PA augmente (5 - 10 mmHg) (*Junqueira & Krieger 1976 ; del Bo et al. 1982 ; Krieger & Junqueira 1983 ; Lacombe et al. 1988 ; Sei et al. 1999 ; Miki et al. 2003a, 2004 ; Nagura et al. 2004*) ainsi que sa variabilité globale et lente (0,02 - 0,2 Hz) (*Lacombe et al. 1988 ; Sei & Morita 1996 ; Silvani et al. 2003 ; Berteotti et al. 2007*).
- l'ANS rénale diminue (environ 50%) (*Miki et al. 2003a ; Yoshimoto et al. 2004 ; Nagura et al. 2004*) alors que l'ANS lombaire augmente (environ 20%) (*Miki et al. 2004*).
- Les effets sur le débit cardiaque et les résistances vasculaires périphériques totales sont peu clairs (*Silvani et al. 2008*). En revanche, il a été montré que les résistances vasculaires augmentent dans le territoire iliaque (*Miki et al. 2004*) et diminuent dans les circulations rénale (*Yoshimoto et al. 2004*) et mésentérique (*Miki et al. 2004*).

Figure 30. Variations de la PA, de la fréquence cardiaque et de l'ANS rénale lors du passage du sommeil lent (NREM) au sommeil paradoxal (REM) chez le rat ($n = 10$; +/- SE, aire en gris) (D'après Miki *et al.* 2003a).

Noter l'augmentation de la PA qui succède à la diminution de la fréquence cardiaque et de l'ANS rénale.

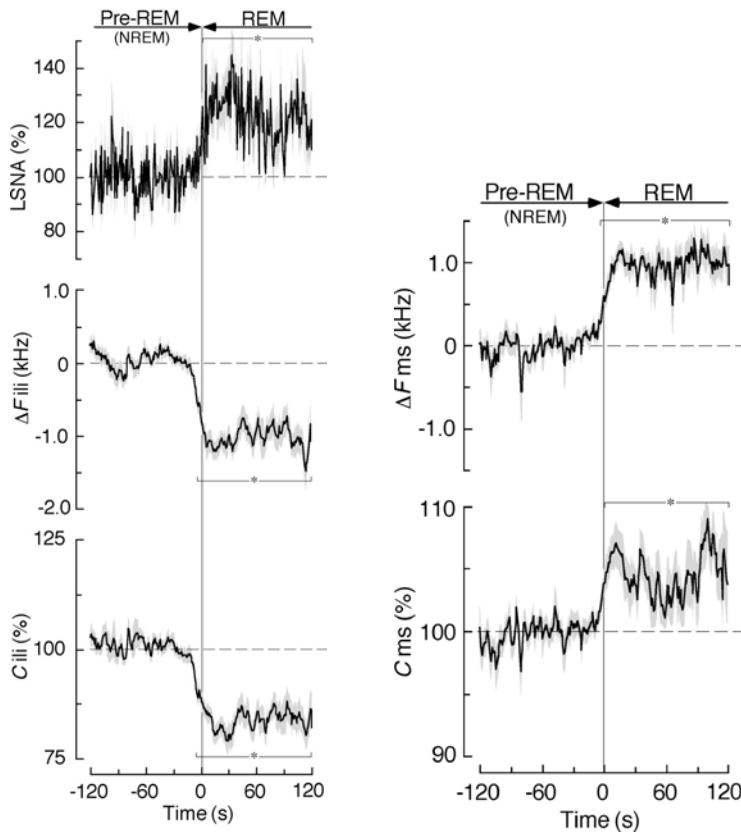
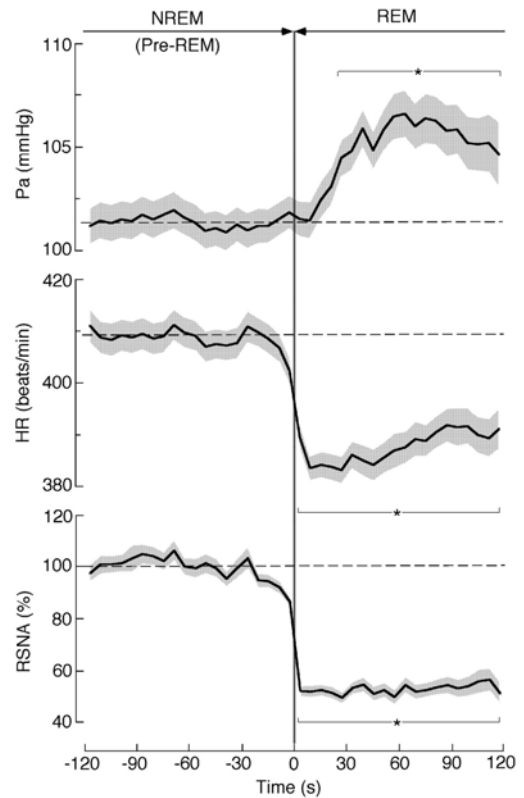


Figure 31. Variations de l'ANS lombaire, du débit (ΔF_{ili}) et de la conductance vasculaire (C_{ili}) iliaques (à gauche) et du débit (ΔF_{ms}) et de la conductance vasculaire (C_{ms}) mésentériques (à droite) lors du passage du sommeil lent (NREM) au sommeil paradoxal (REM) chez le rat ($n = 13$; +/- SE, aire en gris) (D'après Miki *et al.* 2004).

Noter l'augmentation de l'ANS lombaire associée à la diminution du débit et de la conductance vasculaire iliaques et à l'augmentation du débit et de la conductance vasculaire mésentériques.

L'ouverture de la boucle baroréflexe, par la dénervation des barorécepteurs sino-aortiques, modifie peu les réponses cardio-vasculaires observées lors du passage de l'état d'éveil à celui de sommeil lent (*Silvani 2008 ; Silveira et al. 2008*). En revanche, lors du passage du sommeil lent au sommeil paradoxal, une diminution marquée de la PA est observée (*Junqueira & Krieger 1976 ; Padilha & Junqueira 1987 ; Silveira et al. 2008*). Elle pourrait être secondaire à l'abolition de l'augmentation des résistances vasculaires observée dans la circulation iliaque dans les conditions normales (*Silveira et al. 2008*).

L'influence des différentes phases de sommeil sur la relation baroréflexe entre la PA et l'ANS rénale a été étudiée chez le rat en utilisant la méthode pharmacologique.

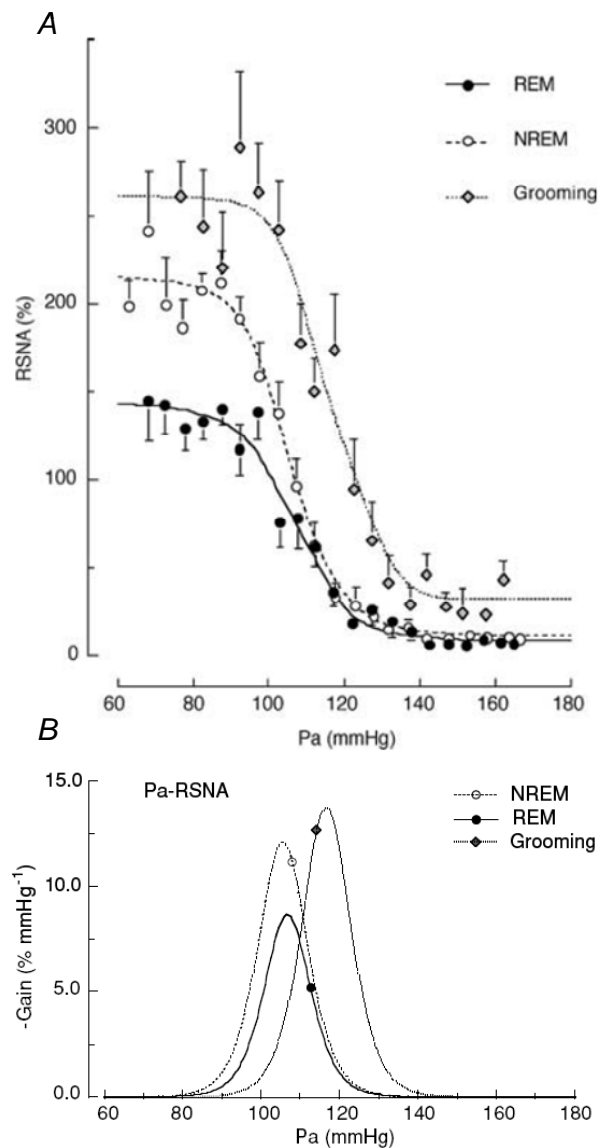


Figure 32. Courbes baroréflexes moyennes (A) reliant la PA et l'ANS rénale obtenues durant le sommeil paradoxal (REM), le sommeil lent (NREM) et le toilettage (Grooming) chez des rats femelles Wistar ($n = 12$). Le calcul de la dérivée première (B) donne la courbe de gain en fonction de la PA. L'ANS rénale est exprimée en pourcentage de la valeur de base. Les symboles dans le graphe (B) indiquent le niveau de PA avant le test baroréflexe (D'après *Nagura et al. 2004*).

Noter dans (A) l'augmentation du plateau d'activation sympathique en fonction des états comportementaux.

La sensibilité maximale du contrôle baroréflexe de l'activité sympathique n'est pas significativement différente entre le sommeil lent (-12,3 +/- 1,5 UN/mmHg) et l'éveil au cours du toilettage (-13,7 +/- 1,3 UN/mmHg, Figure 32 B). Cependant, un réajustement de la courbe baroréflexe vers des niveaux de PA et d'ANS rénale plus faibles est observé par rapport au toilettage (Figure 32 A). La sensibilité du baroréflexe sympathique rénal diminue significativement pendant le sommeil paradoxal par rapport au sommeil lent (-8,3 +/- 1,3 UN/mmHg, Figure 32 B). Cette diminution est principalement secondaire à un abaissement du plateau d'activation sympathique (Figure 32 A, *Nagura et al. 2004*).

Chez l'Homme, le sommeil lent est caractérisé par une diminution de la PA (*Khatri & Freis 1967 ; Somers et al. 1993 ; Van de Borne et al. 1994a ; Iellamo et al. 2004*) associée à une diminution de la fréquence cardiaque et du débit cardiaque (*Silvani 2008*). La variabilité tensionnelle globale est également diminuée (*van de Borne et al. 1994a ; Monti et al. 2002*). L'ANS musculaire mesurée par microneurographie au niveau du nerf péronier diminue durant le sommeil lent (*Somers et al. 1993*).

Le passage du sommeil lent au sommeil paradoxal est associé à une augmentation de la PA et de sa variabilité (*Snyder et al. 1964 ; Khatri & Freis 1967 ; Somers et al. 1993 ; van de Borne et al. 1994a ; Legramante et al. 2003 ; Iellamo et al. 2004*). Cette dernière se caractérise par la survenue d'épisodes presseurs (*Silvani et al. 2008*). Il a été rapporté que la fréquence cardiaque augmente (*Somers et al. 1993 ; van de Borne et al. 1994a*) ou reste inchangée (*Monti et al. 2002 ; Iellamo et al. 2004*). Le débit cardiaque est également augmenté (*Khatri & Freis 1967*) ainsi que l'ANS musculaire (*Hornyak et al. 1991 ; Okada et al. 1991 ; Somers et al. 1993*).

Le contrôle baroréflexe de l'ANS musculaire a été évalué par la méthode spontanée temporelle (*Sundlöf & Wallin 1978*). Cette méthode a montré que la sensibilité du baroréflexe diminue pendant le sommeil lent par rapport à l'éveil et reste diminuée durant le sommeil paradoxal et le matin après le réveil (*Nakazato et al. 1998*).

En conclusion, le rôle fonctionnel du baroréflexe sympathique semble être plus important durant le sommeil paradoxal que durant le sommeil lent, chez le rat.

2.2. Influence de l'exercice

Le contrôle tensionnel pendant l'exercice physique a été étudié chez l'Homme et l'animal (Rowell & O'Leary 1990 ; DiCarlo & Bishop 2001 ; Thomas & Segal 2004 ; Joyner 2006 ; Raven *et al.* 2006 ; Wallin & Charkoudian 2007). Chez les animaux en général et les rats en particulier, l'exercice consiste le plus souvent en une course réalisée sur un tapis roulant (Miki *et al.* 2003b) ou une roue tournante (Waki *et al.* 2003), à des vitesses allant de 6 à 20 m/min chez le rat. Les animaux sont entraînés ou familiarisés au système utilisé avant la réalisation de l'étude.

Chez le rat dont le système baroréflexe est intact, l'exercice physique se caractérise par :

- une augmentation de PA et de fréquence cardiaque (Krieger *et al.* 1998 ; Figure 33, Waki *et al.* 2003 ; Miki *et al.* 2003b),
- une augmentation de l'ANS rénale (Miki *et al.* 2003b),
- une augmentation du débit sanguin iliaque associée à une réduction des débits sanguins viscéraux (Peterson *et al.* 1988).

Des résultats comparables ont été rapportés dans d'autres espèces telles que le lapin (DiCarlo & Bishop 1992 ; Mueller *et al.* 1998), la souris (Masuki & Nose 2003), le chat (Matsukawa *et al.* 1991) et le chien (Walgenbach & Donald 1983 ; Buckwalter & Clifford 1997, 1999 ; Hamann *et al.* 2002).

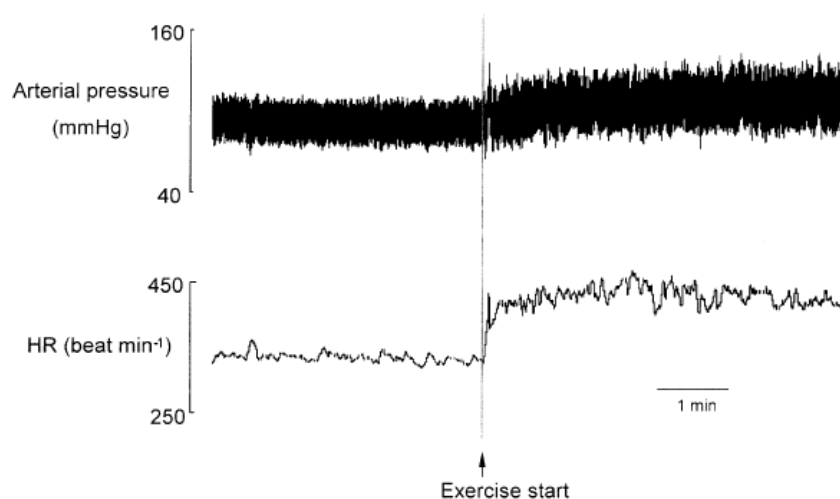


Figure 33. Exemple d'un tracé de PA et de fréquence cardiaque (HR) avant et durant un exercice dynamique sur une roue tournante chez un rat normotendu (D'après Waki *et al.* 2003).

Noter l'augmentation de la PA et de la fréquence cardiaque dès le début de l'exercice.

Par ailleurs, chez le rat lors du toilettage, que l'on peut assimiler à une forme d'exercice physique, il a aussi été observé des augmentations de la PA, de la fréquence cardiaque et de l'ANS rénale (*Miki et al. 2003a ; Nagura et al. 2004 ; Yoshimoto et al. 2004*).

A l'arrêt de l'exercice, chez le rat, la PA diminue en dessous du niveau de base avant l'exercice (*Kulics et al. 1999 ; Minami et al. 2006*). Ces variations sont associées à une diminution des résistances périphériques totales et à une augmentation du débit cardiaque. L'ANS lombaire et rénale sont respectivement réduites d'environ 50 % et 75 % par rapport au niveau de base (*Kulics et al. 1999 ; Miki et al. 2003b*).

Après dénervation sino-aortique, selon les études et les espèces, des effets hypertenseur majoré (surtout chez le rat SAD) (*Krieger et al. 1998 ; Waki et al. 2003*) ou hypotenseur (surtout chez le lapin SAD) (*DiCarlo & Bishop 1992*) ont été rapportés, avec des effets variables sur la fréquence cardiaque. Chez le lapin SAD, l'activation sympathique rénale se produisant lors de l'exercice n'est plus retrouvée (Figure 34, *DiCarlo & Bishop 1992, 2001*).

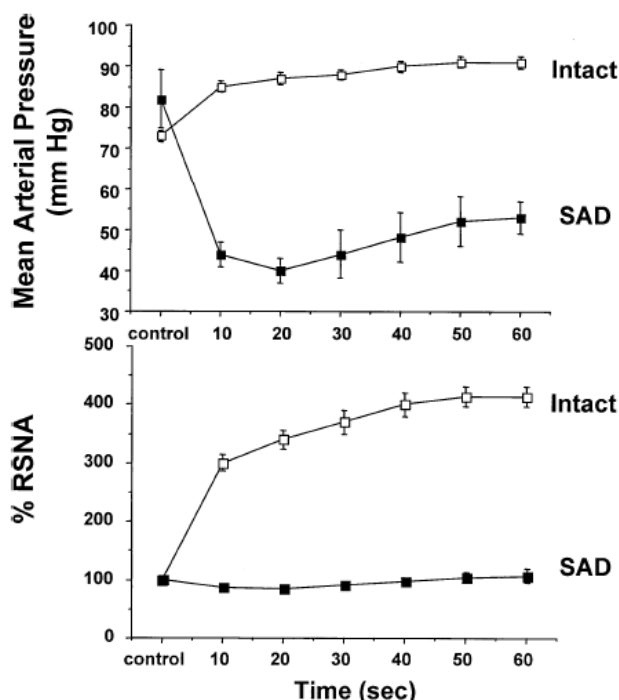


Figure 34. Effet d'un exercice sur tapis roulant sur la PA et l'ANS rénale chez des lapins intacts ($n = 16$) et des lapins ayant subi une dénervation des barorécepteurs sino-aortiques (SAD ; $n = 8$) (D'après *DiCarlo & Bishop 1992*).

Noter la chute de PA et l'abolition de la sympathoexcitation chez les lapins SAD.

Il est intéressant de noter que chez le rat sympathectomisé (ouverture de la boucle baroréflexe au niveau des efférences sympathiques), des chutes tensionnelles accompagnent tout changement de position ou mouvement comme ceux liés au toilettage (*del Bo et al. 1985 ; Zhang et al. 1994*). Ces hypotensions sont associées, par rapport à ce qui est observé chez le rat intact lors des mouvements, à des augmentations plus marquées du débit et de la conductance vasculaire iliaques et à des diminutions moins importantes du débit et de la conductance vasculaire mésentériques (*Collins et al. 2001*).

Enfin, il semble qu'à l'arrêt de l'exercice, après dénervation des barorécepteurs chez le rat, la PA et l'ANS (tout du moins celle à destinée cardiaque) n'atteignent pas des niveaux inférieurs à ceux observés dans les conditions de base avant l'exercice (*Chandler & DiCarlo 1997*).

Chez le rat, il a été rapporté que la sensibilité du contrôle baroréflexe de l'ANS rénale, mesurée par la méthode pharmacologique, est augmentée durant l'exercice (Figure 35 à droite). Ceci est secondaire à une augmentation du plateau d'activation de l'ANS rénale. De plus, la courbe baroréflexe est déplacée vers des niveaux de PA et d'ANS plus élevés (Figure 35 à gauche, *Miki et al. 2003b*).

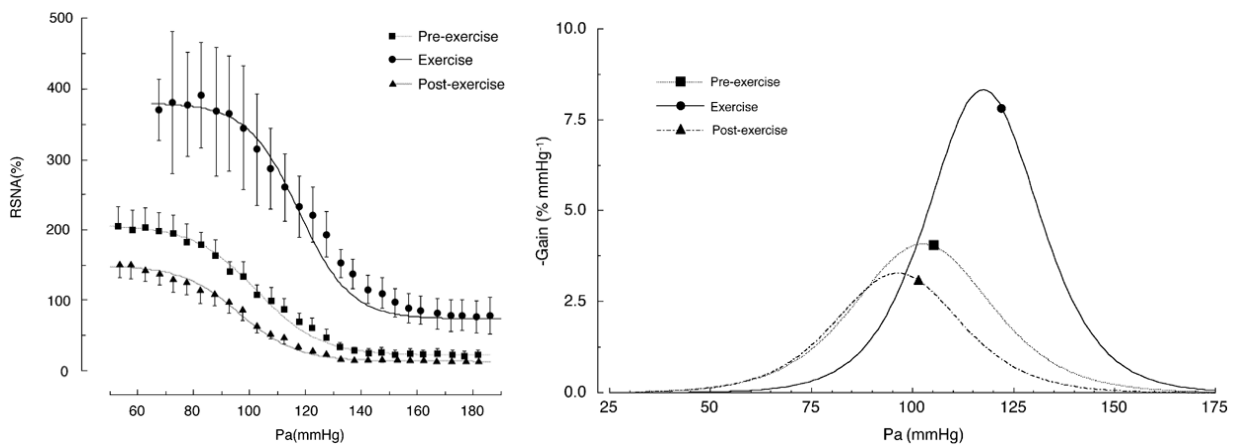


Figure 35. Courbes baroréflexes moyennes (à gauche) reliant la PA et l'ANS rénale construites avant, pendant et après l'exercice chez le rat ($n = 11$). La dérivée première (à droite) fournit la courbe de gain en fonction de la PA. Les symboles indiquent le niveau de PA avant le test baroréflexe (D'après *Miki et al. 2003b*).

Noter le déplacement de la courbe baroréflexe et les modifications de la sensibilité du baroréflexe pendant et après l'exercice.

A l'arrêt de l'exercice, chez le rat, on note une diminution du plateau de sympathoexcitation par rapport aux valeurs de base avant l'exercice (Figure 35 à gauche, *Miki et al. 2003b*). Ceci pourrait contribuer à la diminution du niveau moyen d'ANS observée après l'arrêt de l'exercice et donc de la PA (*DiCarlo & Bishop 2001 ; Miki et al. 2003b*).

Chez l'Homme, les effets de l'exercice sont examinés par contraction isométrique de la main (exercice statique) (*Ichinose et al. 2004 ; Murai et al. 2006*) ou par pédalage à la main (*Ogoh et al. 2007*) ou au pied (*Ichinose et al. 2008*) (exercice dynamique).

La PA, la fréquence cardiaque et l'ANS musculaire augmentent durant l'exercice statique (*Kamiya et al. 2001 ; Ichinose et al. 2006 ; Murai et al. 2006*) et dynamique (*Fadel et al. 2001 ; Keller et al. 2004 ; Ogoh et al. 2007 ; Ichinose et al. 2008 ; Fadel 2008*).

Pendant un exercice statique : 1/ la relation baroréflexe spontanée entre la PA diastolique et l'ANS musculaire est réajustée vers des niveaux de PA et d'ANS plus élevés et, 2/ la sensibilité du baroréflexe sympathique est augmentée (*Kamiya et al. 2001 ; Ichinose et al. 2006*). Il a été rapporté que ces modifications du contrôle baroréflexe de l'ANS musculaire se développent progressivement en fonction du temps après le début de l'exercice (*Ichinose et al. 2006*).

Par ailleurs, pendant un exercice dynamique, le baroréflexe sympathique, examiné par la méthode spontanée temporelle (*Ogoh et al. 2007*) ou par la méthode du « neck chamber » (*Fadel et al. 2001 ; Keller et al. 2004*), est réajusté vers des niveaux de PA plus élevés, sans altération de sa sensibilité. Toutefois, *Ichinose et al. (2008)* ont montré que, durant un exercice dynamique de pédalage au pied, la sensibilité du baroréflexe sympathique peut être modulée en fonction de l'intensité de l'exercice. Ainsi, la sensibilité du baroréflexe sympathique n'est pas augmentée à des intensités modérées mais augmente à des intensités plus fortes.

En conclusion, quelle que soit l'espèce, pendant un exercice physique, le contrôle baroréflexe de l'ANS est réajusté vers des niveaux de PA et d'ANS plus élevés. De plus, ce réajustement s'accompagne généralement d'une augmentation de la sensibilité du réflexe.

2.3. Influence d'un stress émotionnel

Chez le rat, un stress émotionnel peut être induit par différents moyens expérimentaux et notamment :

- Un jet d'air comprimé dirigé vers l'animal (*Lundin et al. 1982, 1983, 1984 ; Koepke & DiBona 1985 ; Julien et al. 1992 ; DiBona & Jones 1995 ; Zhang et al. 1996 ; Barrès et al. 2004*) ;
- Un stimulus acoustique qui consiste à émettre un son d'environ 90 à 110 dB, pendant 0,7 s (*Baudrie et al. 1997, 2001*) ;
- La contention de l'animal dans une cage spéciale (*Callahan et al. 1992 ; Yoshino et al. 2005*) ;
- Un conditionnement au choc électrique qui consiste à associer un choc électrique avec un son qui sera émis sans le choc au moment de l'étude (*Randall et al. 1994*).

En général, le stress appliqué induit une réaction comportementale dite de défense (*Hilton 1982*).

Chez le rat ayant un système baroréflexe fonctionnel, principalement après application d'un jet d'air, ont été rapportées des augmentations de PA, de fréquence cardiaque et d'ANS rénale (*Lundin et al. 1984 ; Barrès et al. 2004*). Ces effets hypertenseur et sympathoexcitateur se retrouvent chez le rat après application d'un stress de conditionnement au choc électrique (Figure 36, *Randall et al. 1994*).

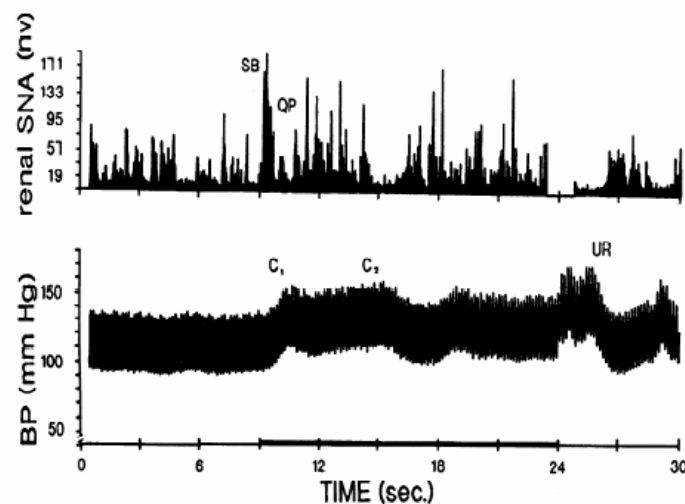


Figure 36. Réponses de la PA et de l'ANS rénale à un stress émotionnel induit par conditionnement à un choc électrique appliqué à la queue du rat (D'après *Randall et al. 1994*).

Noter l'augmentation brusque de l'ANS rénale (SB) suivie par une augmentation de la PA (C1).

Toujours chez le rat, sur le plan hémodynamique, la réponse au jet d'air se caractérise par une vasodilatation dans le territoire des membres postérieurs et une vasoconstriction mésentérique (Figure 37, Zhang *et al.* 1996). Un profil similaire de réponses hémodynamiques au jet d'air est rapporté chez le lapin, avec en plus une augmentation de pression veineuse centrale et de débit cardiaque (Schadt & Hassler 1998, 2004).

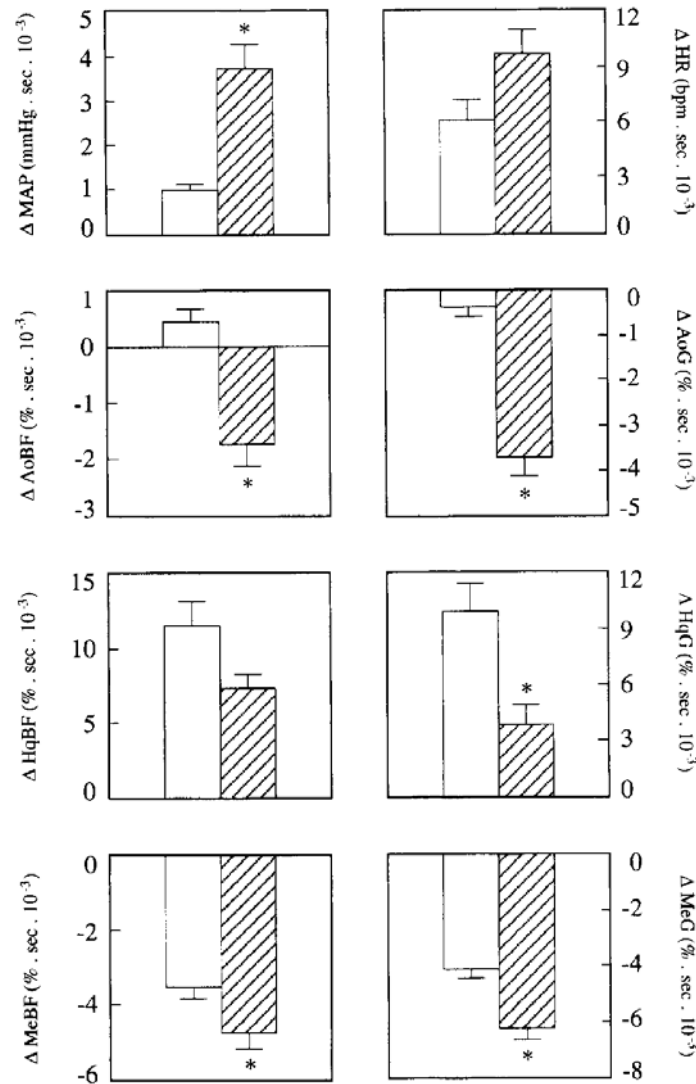


Figure 37. Conséquences cardio-vasculaires de l'application d'un stress émotionnel modéré induit par jet d'air dans des groupes de rats intacts (barres vides, $n = 12$) et ayant subi une dénervation sino-aortique chronique (14 jours ; barres hachurées, $n = 7$). Les réponses sont calculées comme l'aire sous la courbe pendant 2 min de stress et exprimées en pourcentage des valeurs de base. PA moyenne (MAP), fréquence cardiaque (HR), débit sanguin (BF) et conductance (G) au niveau de l'aorte sous-diaphragmatique (Ao), de l'aorte distale (Hq) et de l'artère mésentérique supérieure (Me). * $P < 0,05$ par rapport aux rats intacts (D'après Zhang *et al.* 1996).

Noter que la dénervation sino-aortique augmente la réponse pressive et la vasoconstriction mésentérique en réponse au stress émotionnel alors que la vasodilatation au niveau des membres postérieurs est réduite.

Après dénervation sino-aortique chez le rat, on note une majoration des réponses pressives et tachycardes au stress du jet d'air (Figure 37, *Zhang et al. 1996 ; Barrès et al. 2004*). Sur le plan hémodynamique, lors de l'application du jet d'air, la vasoconstriction mésentérique est majorée et la vasodilatation dans les membres postérieurs est minorée (Figure 37, *Zhang et al. 1996*). Ceci suggère que le baroréflexe pourrait limiter la vasoconstriction mésentérique tout en favorisant la vasodilatation dans les muscles squelettiques.

A notre connaissance, les conséquences de l'application d'un stress émotionnel sur les caractéristiques du contrôle baroréflexe de l'ANS chez l'animal vigile n'ont jamais été rapportées. Cependant, les effets cardio-vasculaires d'un stress émotionnel, notamment l'augmentation de la PA et de l'ANS, peuvent être reproduits par la stimulation de la zone de défense dans l'hypothalamus, dans différentes espèces, chez l'animal anesthésié (*Hilton 1982, DiMicco et al. 2002*).

Cette méthode a montré des résultats divergents concernant le contrôle baroréflexe. En effet, il a été rapporté que la stimulation électrique de la zone de défense hypothalamique augmente (lapin, *Duan et al. 1996*), diminue (chat, *Coote et al. 1979, Mifflin et al. 1988 ; rat, Nosaka et al. 1993*) ou n'altère pas (chat, *Gebber & Snyder 1970 ; Djojosingito et al. 1970 ; Humphreys et al. 1971 ; Simon et al. 1985 ; rat, Smith & Barron 1989 ; Barron & Heesch 1990 ; Sévoz-Couche et al. 2003*) la réponse de la composante vasculaire du baroréflexe.

En revanche, une stimulation pharmacologique de la zone de défense hypothalamique augmente la sensibilité du baroréflexe sympathique chez le rat (*McDowall et al. 2006b*).

Deux exemples sont présentés afin d'illustrer ces discordances :

- 1/ Une stimulation électrique de la zone de défense hypothalamique, chez des chats anesthésiés, inhibe la réponse réflexe hypotensive observée en réponse à la stimulation (électrique ou mécanique) des afférences des barorécepteurs carotidiens (*Coote et al. 1979 ; Figure 38, Mifflin et al. 1988*). De plus, il a été rapporté que la stimulation de cette zone, inhibe l'activité des neurones barosensibles du NTS (*Mifflin et al. 1988*).

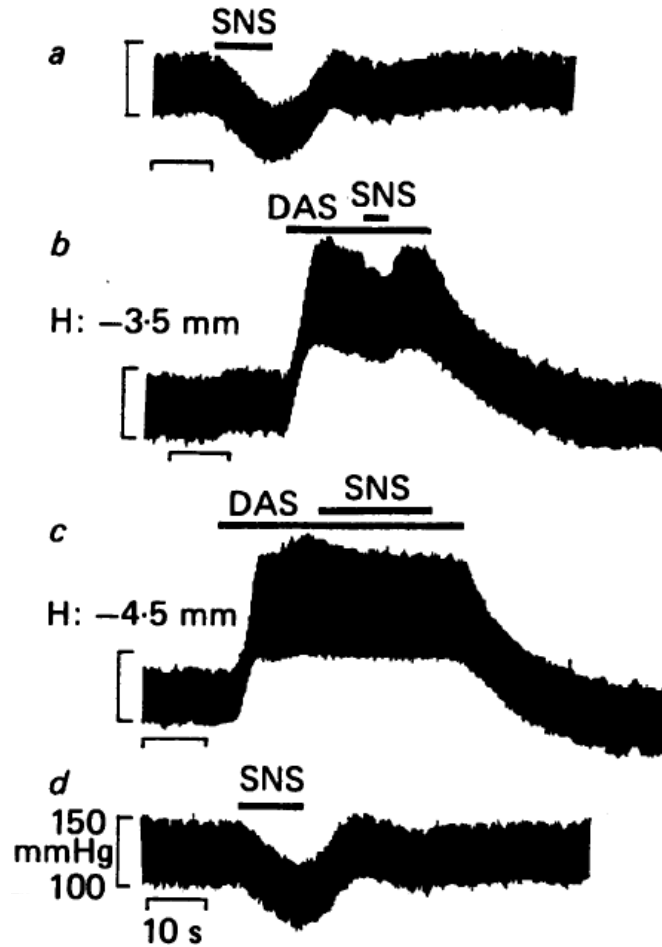


Figure 38. Réponse de la PA à la stimulation électrique du nerf afférent du sinus carotidien (SNS) avec et sans stimulation électrique de la zone de défense hypothalamique (DAS) chez un chat anesthésié au pentobarbital (Modifié d'après *Mifflin et al. 1988*).

Noter que la stimulation du nerf sinusal induit une chute de la PA (a, d). Cette réponse hypotensive est fortement réduite (b) ou abolie (c) durant la stimulation de deux sites dans la zone de défense hypothalamique.

- 2/ La stimulation de la zone de défense hypothalamique peut aussi être réalisée par désinhibition pharmacologique. Ceci consiste à injecter un antagoniste GABAergique (bicuculline) au niveau de la zone de défense hypothalamique (Figure 39, *McDowall et al. 2006b*). Cette approche, contrairement à la stimulation électrique, évite la stimulation des fibres nerveuses de passage.

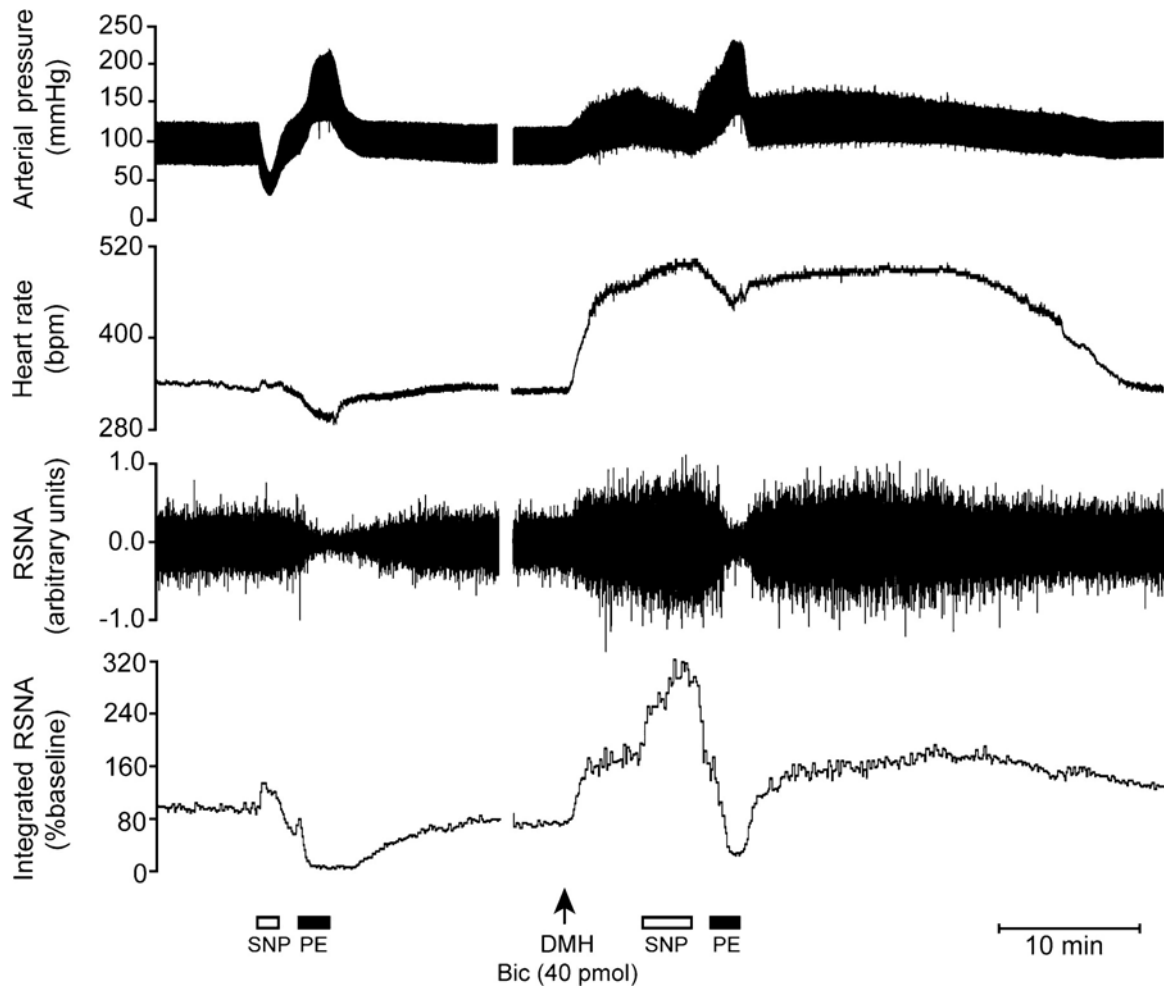


Figure 39. Réponses réflexes de la fréquence cardiaque et de l'ANS rénale aux modifications de PA induites par l'administration de nitroprussiate de sodium (SNP) et de phényléphrine (PE), avant et après l'administration de bicuculline (Bic, un antagoniste GABAergique) au niveau du noyau dorsomédian de l'hypothalamus (DMH) chez un rat anesthésié par l'uréthane (D'après McDowall *et al.* 2006).

Noter les réponses réflexes de l'ANS rénale aux modifications de la PA pendant la stimulation pharmacologique de la zone de défense hypothalamique.

Les résultats, chez le rat, montrent que le baroréflexe sympathique se réajuste vers des niveaux de PA et d'ANS rénale plus élevés (Figure 40). Ce réajustement semble dépendre de la dose de bicuculline, donc du degré de stimulation de la zone de défense hypothalamique. À la dose de bicuculline la plus élevée, la sensibilité du baroréflexe sympathique est significativement augmentée (McDowall *et al.* 2006b).

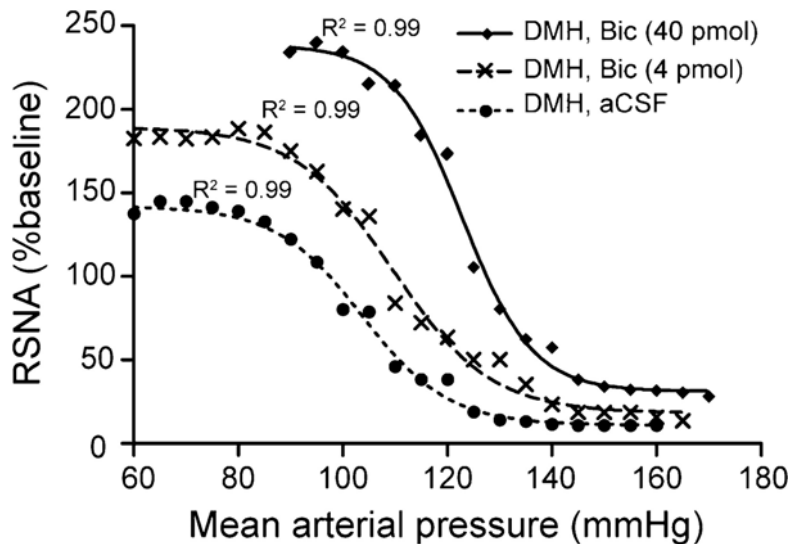


Figure 40. Exemple de courbes baroréflexes reliant la PA et l'ANS rénale chez un rat anesthésié par l'uréthane. Le baroréflexe est étudié dans les conditions contrôles (injection de liquide céphalo-rachidien artificiel dans la zone dorsomédiane de l'hypothalamus ; DMH, aCSF) et après injection de bicuculline, antagoniste GABAergique (Bic) à deux doses différentes. R^2 est le coefficient de détermination (valeurs observées vs valeurs décrivant la courbe sigmoïde) (D'après *McDowall et al. 2006*).

Noter le déplacement de la courbe baroréflexe et l'augmentation progressive du range maximal d'ANS en fonction de la dose de bicuculline administrée au niveau de la zone de défense hypothalamique.

Les résultats produits par la stimulation de la zone de défense hypothalamique sur le contrôle baroréflexe de l'ANS restent toujours controversés en l'absence d'études directes de l'effet d'un stress émotionnel sur les caractéristiques du contrôle baroréflexe de l'ANS chez l'animal vigile.

Chez l'Homme, sont utilisés :

- l'immersion de la main dans l'eau froide (2 ± 0.5 °C) (*Victor et al. 1987 ; Fagius et al. 1989 ; Cui et al. 2002*) ;
- le test de Stroop, qui est fondé sur l'interférence entre la lecture du nom d'une couleur et la dénomination de la couleur dans laquelle est écrite ce nom (*Forsman & Lindblad 1983 ; Hjemdahl et al. 1989 ; Fauvel et al. 2000*) ;
- le calcul mental (*Brod et al. 1959 ; Anderson et al. 1991 ; Kamiya et al. 2000*) ;
- le stress acoustique (110 dB, 1-20 kHz, 0,15 s, *Holand et al. 1999*).

L'application de ces stress est associée à une augmentation de la PA et de la fréquence cardiaque. Une augmentation de l'ANS musculaire est également rapportée en réponse aux

trois premiers types de stress précédemment cités (*Victor et al. 1987 ; Hjemdahl et al. 1989 ; Anderson et al. 1991 ; Cui et al. 2002*).

Victor et al. (1987) ont montré pendant un stress d'immersion de la main dans l'eau froide, que l'augmentation de PA est corrélée à l'augmentation de l'ANS musculaire suggérant ainsi que le baroréflexe est inhibé. Cependant, la relation linéaire baroréflexe qui existe entre la PA diastolique et l'ANS musculaire, examinée par la méthode pharmacologique, est réajustée vers des niveaux de PA et d'ANS plus élevés et la sensibilité du réflexe est en fait augmentée (*Cui et al. 2002*). Durant un test de Stroop, la réponse baroréflexe de la PA, étudiée par la méthode du « neck chamber » n'est pas altérée (*Forsman & Lindblad 1983*). Une absence de modification du contrôle baroréflexe de l'ANS musculaire est également observée pendant le calcul mental (étude des réponses après administration de phényléphrine, *Anderson et al. 1991*).

En conclusion, chez le rat, les études hémodynamiques suggèrent que le baroréflexe sympathique n'est pas inhibé durant le stress émotionnel. Les effets sur les caractéristiques du contrôle baroréflexe de l'ANS restent à être précisés chez l'animal vigile.

2.4. Conclusion

Malgré de nombreuses études, dans différentes espèces, l'influence des états comportementaux sur le contrôle baroréflexe de la PA par le système nerveux sympathique n'est que partiellement comprise. Les variations de PA associées aux différents comportements peuvent être facilitées ou limitées par le système baroréflexe (*Guyenet 2006*). Pour remplir ce rôle, les caractéristiques statiques et dynamiques du contrôle baroréflexe de l'ANS sont vraisemblablement modulées continuellement en fonction de la nature, de l'intensité et de la durée des états comportementaux.

3. MÉCANISMES IMPLIQUÉS DANS LA MODULATION PHYSIOLOGIQUE DU CONTRÔLE BARORÉFLEXE DE L'ANS

La modulation du contrôle baroréflexe de l'ANS en fonction des états comportementaux peut s'effectuer à tous les niveaux de la boucle baroréflexe (barorécepteurs, voies nerveuses centrales et jonction neuro-vasculaire). L'enregistrement de l'activité électrique des voies nerveuses afférentes du baroréflexe (nerf sinusal ou nerf aortique) est techniquement très difficile chez l'animal éveillé. Ceci limite donc la réalisation d'études concernant le rôle de la mécanotransduction durant les états comportementaux. Ce sont les mécanismes prenant place au niveau des structures bulbaires qui commencent à être les mieux décrits.

3.1. Mécanismes de modulation impliquant des structures centrales

Les voies nerveuses centrales représentent le lieu de l'intégration et de l'élaboration des réponses baroréflexes. Le fonctionnement du baroréflexe implique plusieurs sites, notamment le NTS et les régions CVLM et RVLM (*Pilowsky 2002 ; Guyenet 2006*). Une modification des caractéristiques du baroréflexe peut donc être secondaire à une interaction, au niveau de ces sites, avec d'autres réflexes (réflexe somatique musculaire afférent, réflexe cardio-pulmonaire et chémoréflexe) et/ou avec le système nerveux central (noyaux hypothalamiques, centre mésencéphalique de la locomotion) (*Stephenson et al. 1984 ; Gujic et al. 2007 ; Raven et al. 2006*).

3.1.1. Le Noyau du tractus solitaire (NTS)

Il a été suggéré chez l'animal, qu'une inhibition GABAergique des neurones barosensibles du NTS expliquerait, au moins partiellement, la modulation du baroréflexe (essentiellement son réajustement) durant l'exercice physique (*Potts 2006 ; Raven et al. 2006*) et le stress émotionnel (*Mifflin et al. 1988 ; McDowall et al. 2006b*).

En effet, chez le chat, l'inhibition des neurones barosensibles du NTS peut être obtenue par la stimulation électrique de la zone de défense hypothalamique et cette inhibition semble impliquer des récepteurs GABAergiques (*Mifflin et al. 1988 ; Jordan et al. 1988*). Par ailleurs, *McDowall et al. (2006b)* ont observé chez le rat, un effet progressif de la désinhibition pharmacologique de la zone de défense hypothalamique, sur les caractéristiques

du baroréflexe (réajustement vers des valeurs plus élevées de PA et augmentation de la sensibilité) (Figure 40). Ceci suggère qu'une modulation progressive de l'excitabilité des neurones barosensibles du NTS pourrait être médiée par des influences nerveuses d'origine hypothalamique.

Grâce à des études concordantes, réalisées dans plusieurs espèces (rat, chien, chat, lapin), il a été suggéré que pendant l'exercice physique, le réflexe somatique musculaire (*Potts & Mitchel 1998 ; Yamamoto et al. 2005 ; Potts & Waldrop 2005*) et/ou les centres de la locomotion (*DiCarlo & Bishop 2001 ; Degtyarenko & Kaufman 2006*) pourraient stimuler des neurones GABAergiques au niveau du NTS (*Potts 2006*). Ces derniers inhiberaient les neurones barosensibles du NTS, induisant ainsi une diminution de l'excitabilité de ces neurones, ce qui pourrait être à l'origine d'un réajustement du baroréflexe (*Potts 2006 ; Raven et al. 2006 ; Sheriff 2006*). Il a également été rapporté, chez le rat, que le blocage des récepteurs GABAergiques au niveau du NTS inhibe la modulation du baroréflexe durant la stimulation du réflexe somatique musculaire (*Potts et al. 2003*).

3.1.2. La région caudale ventro-latérale du bulbe rachidien (CVLM)

Une hétérogénéité des récepteurs et des neurotransmetteurs a été observée au niveau des neurones de cette région dans différentes espèces. Ceci suggère des interactions possibles avec d'autres régions du système nerveux central et un rôle potentiel dans l'élaboration de réponses complexes du système nerveux autonome dans différentes conditions (*Schreihofner & Guyenet 2002 ; Pilowsky 1995, 2002 ; Guyenet 2006*). La contribution de cette région à la modulation du baroréflexe dans différentes conditions comportementales reste à élucider.

3.1.3. La région rostrale ventro-latérale du bulbe rachidien (RVLM)

Les neurones de cette région déterminent l'activité des neurones sympathiques qui contrôlent la PA (*Schreihofner & Guyenet 2002*). Grâce à des études réalisées dans plusieurs espèces, il a été suggéré que les neurones de RVLM interviennent dans la modulation du baroréflexe pendant l'exercice, notamment dans le réajustement vers des niveaux d'ANS plus élevés. Il a été suggéré qu'une stimulation du réflexe somatique musculaire induit une excitation de certains neurones au niveau du RVLM (*Potts 2006*).

En revanche, un effet inhibiteur GABAergique au niveau de RVLM, indépendant de la région CVLM (*Moffit et al. 2002*), semble être impliqué dans la sympathoinhibition observée durant l'hypotension orthostatique (*Hasser et al. 2001 ; Moffit et al. 2002*) et pourrait expliquer la diminution de la sensibilité du baroréflexe sympathique dans cette condition (*Moffit et al. 1998, 1999*).

3.2. Conclusion

Les mécanismes responsables de la modulation du baroréflexe sympathique sont probablement complexes et font intervenir différentes composantes centrales et périphériques. Les études futures devront élucider le rôle des différentes régions centrales, des récepteurs membranaires et des neurotransmetteurs participant à ces mécanismes de modulation (*Pilowsky et al. 2002 ; Guyenet 2006*).

4. LE CONTRÔLE BARORÉFLEXE DES ANSs RÉGIONALES

Diverses études ont montré un contrôle différentiel des ANSs régionales en réponse à divers stimuli (*Victor et al. 1989 ; Morrison 2001a ; Miki & Yoshimoto 2005 ; Ramchandra et al. 2006*). En revanche, peu d'études ont examiné le contrôle baroréflexe de deux ou plusieurs ANSs enregistrées simultanément.

4.1. Preuves de l'existence d'un contrôle différentiel

Il est reconnu que l'ANS cutanée (chez le rat, *Häbler et al. 1994* ; chez l'Homme, *Wilson et al. 2001*) et l'ANS du tissu adipeux brun (*Morrison 2001b*) sont faiblement barosensibles mais plutôt thermosensibles (*Guyenet 2006*). Cette observation est renforcée par l'absence de rythmicité à la fréquence cardiaque de l'ANS à destinée cutanée (*Kendrick et al. 1972 ; Hagbarth et al. 1972 ; Huang & Gilbey 2005 ; Wallin 2006 ; Wallin & Charkoudian 2007*) ou du tissu adipeux brun (*Morrison 2001b*). De plus, il a été rapporté que les ANSs cutanée et rénale sont contrôlées par des groupes différents de neurones au niveau bulbaire chez le rat (*Rathner & Mcallen 1999*).

Chez l'Homme, les ANSs à destinée viscérale (rénale, surrénale, cardiaque) ne sont pas accessibles. L'ANS à destinée musculaire, enregistrée par microneurographie au niveau des membres supérieurs (nerf médian au niveau de la fosse cubitale, *Ichinose et al. 2008*) et inférieurs (nerf péronier au niveau de la fosse poplitée, *Ogoh et al. 2007*), est utilisée pour examiner le fonctionnement du système nerveux sympathique dans les conditions physiologiques ou pathologiques (*Grassi & Esler 1999 ; Wallin & Charkoudian 2007*). L'étude directe d'un contrôle baroréflexe différentiel des ANSs régionales à destinée viscérale n'est donc pas possible chez l'Homme.

Chez le rat conscient, l'ANS a été enregistrée séparément au niveau de nerfs innervant différents lits vasculaires, tels que le nerf splanchnique (*Thorén & Ricksten 1979 ; Ricksten & Thoren 1980 ; Persson et al. 1992 ; Stauss et al. 1996*), surrénal (*Unger et al. 1985*), lombaire (*Calhoun et al. 1991 ; Oparil et al. 1991*) et rénal (*Ricksten et al. 1981 ; Lundin & Thoren 1982*). A notre connaissance, l'enregistrement simultané de plusieurs nerfs chez le rat n'a été effectué que sur des animaux anesthésiés. En revanche, ce type d'enregistrement a été réalisé chez le lapin (*Ramchandra et al. 2006*) et le chat (*Ninomiya et al. 1988ab*) vigils.

4.1.1. Approches statiques

Chez le rat anesthésié par l'uréthane, *Scislo et al. (1998, 2008)* ont montré que le baroréflexe exerce un contrôle différent sur les ANSs rénale, lombaire (au niveau de L3-L4) et surrénale. Ainsi, les caractéristiques de la courbe baroréflexe obtenue par la méthode pharmacologique diffèrent entre les ANSs régionales. Comme le montre la Figure 41, la sensibilité maximale du contrôle baroréflexe de l'ANS lombaire est significativement plus faible que celle des autres ANSs. Le contrôle baroréflexe de l'ANS surrénale présente l'intervalle opérationnel le plus large et le plateau de sympathoexcitation le plus élevé. La sensibilité du contrôle baroréflexe de l'ANS rénale est plus élevée que celle de l'ANS lombaire. A notre connaissance, une étude comparable n'a jamais été effectuée chez le rat vigil.

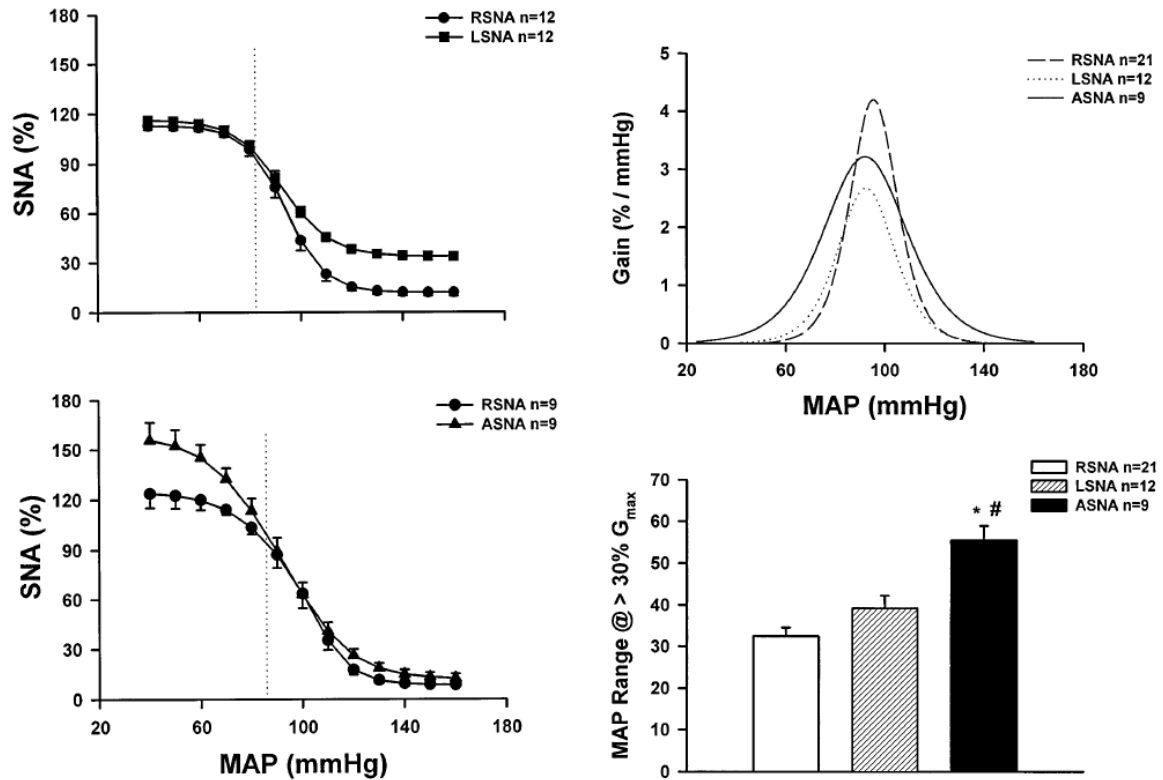


Figure 41. Contrôle baroréflexe des ANSs rénale (RSNA), lombaire (LSNA) et surrénale (ASNA) chez des rats anesthésiés par l'uréthane. La ligne pointillée verticale indique la PA de base avant le test baroréflexe (D'après Scislo *et al.* 1998).

Noter les différences entre les caractéristiques des courbes baroréflexes, les courbes de gain et les intervalles de PA sur lesquels le baroréflexe est opérationnel.

Chez des lapins anesthésiés, vagotomisés et barodénervés, Kamiya *et al.* (2005ab) ont montré que les réponses réflexes des ANSs rénale, cardiaque et musculaire, à des variations statiques de la pression carotidienne, sont similaires (Figure 42).

De même, la manipulation pharmacologique de la PA, par le nitroprussiate de sodium et la phényléphrine, induit des réponses identiques des différentes ANSs (Kamiya *et al.* 2005a). Le même groupe a montré, en utilisant le même modèle expérimental, que le baroréflexe augmente le degré de corrélation entre l'ANS musculaire et les ANSs rénale et cardiaque (Kamiya *et al.* 2006).

Chez les lapins vigils, Ramchandra *et al.* (2006) ont rapporté que les caractéristiques des courbes baroréflexes des ANSs rénale et lombaire, construites avec la méthode pharmacologique, sont similaires.

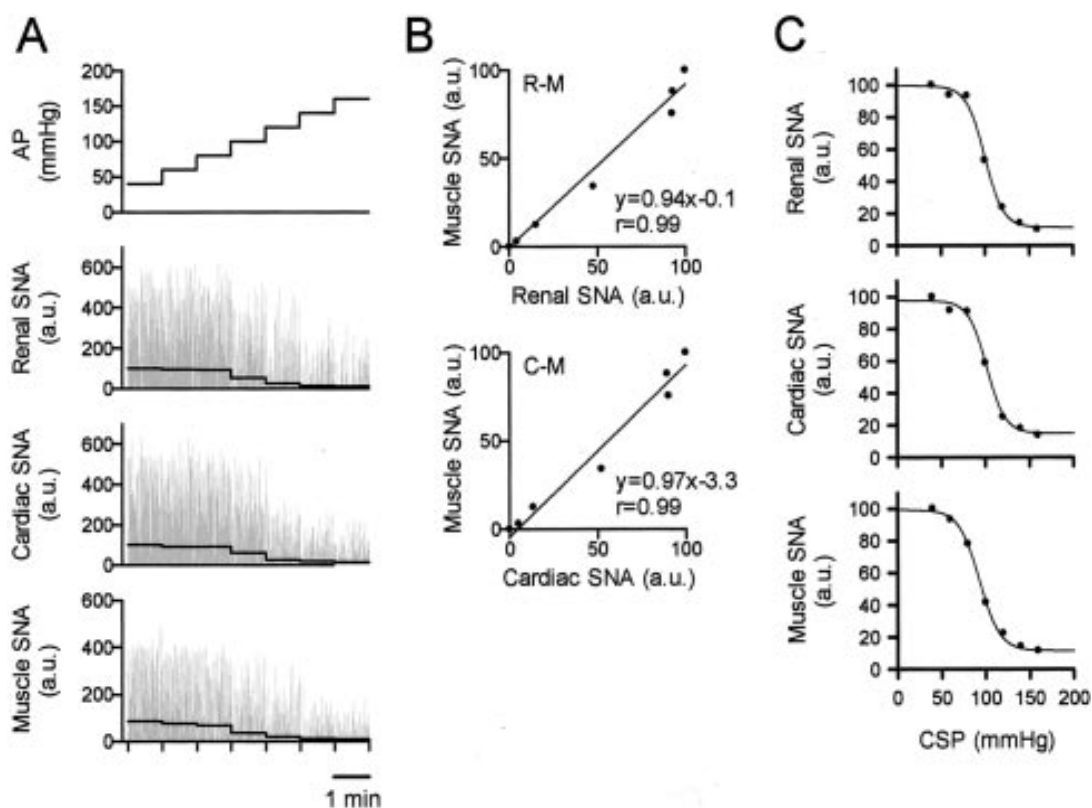


Figure 42. (A) Réponses statiques de l'ANS rénale, cardiaque et musculaire à des modifications de la pression au niveau du sinus carotidien isolé chez des lapins anesthésiés, vagotomisés et barodénervés ($n = 10$). (B) Corrélations entre les réponses réflexes des ANSs rénale et cardiaque avec celles de l'ANS musculaire. (C) Relations sigmoïdes inverses décrivant le contrôle baroréflexe des différentes ANSs (D'après *Kamiya et al. 2005a*).

Noter dans (B) les fortes corrélations entre les variations baroréflexes des ANSs régionales.

Chez des chats anesthésiés au pentobarbital, Ninomiya et al. (1971) ont rapporté que les réponses des ANSs rénale et cardiaque à l'augmentation de la pression aortique induite par occlusion de l'aorte descendante, sont plus faibles que celle de l'ANS splénique. La même équipe a également étudié le contrôle baroréflexe des ANSs rénale et cardiaque par administration intraveineuse de noradrénaline chez des chats vigils. Ils ont noté une sensibilité plus forte pour le contrôle baroréflexe de l'ANS cardiaque que rénale (Ninomiya et al. 1988ab).

4.1.2. Approches dynamiques

Certaines études ont rapporté les caractéristiques dynamiques du contrôle baroréflexe de différentes ANSs. Ainsi, il a été montré chez des lapins anesthésiés, vagotomisés et

barodénervés que la fonction de transfert entre la pression carotidienne et l'ANS rénale présente une pente d'augmentation du gain entre 0,01 et 1 Hz plus faible que les fonctions de transfert ayant pour signal de sortie l'ANS musculaire ou cardiaque (Kawada *et al.* 2001 ; Figure 43, Kamiya *et al.* 2005b). Cette différence de gain se traduit par un contrôle baroréflexe différent pour des variations de la PA dépassant 5 mmHg/s (Kamiya *et al.* 2005b).

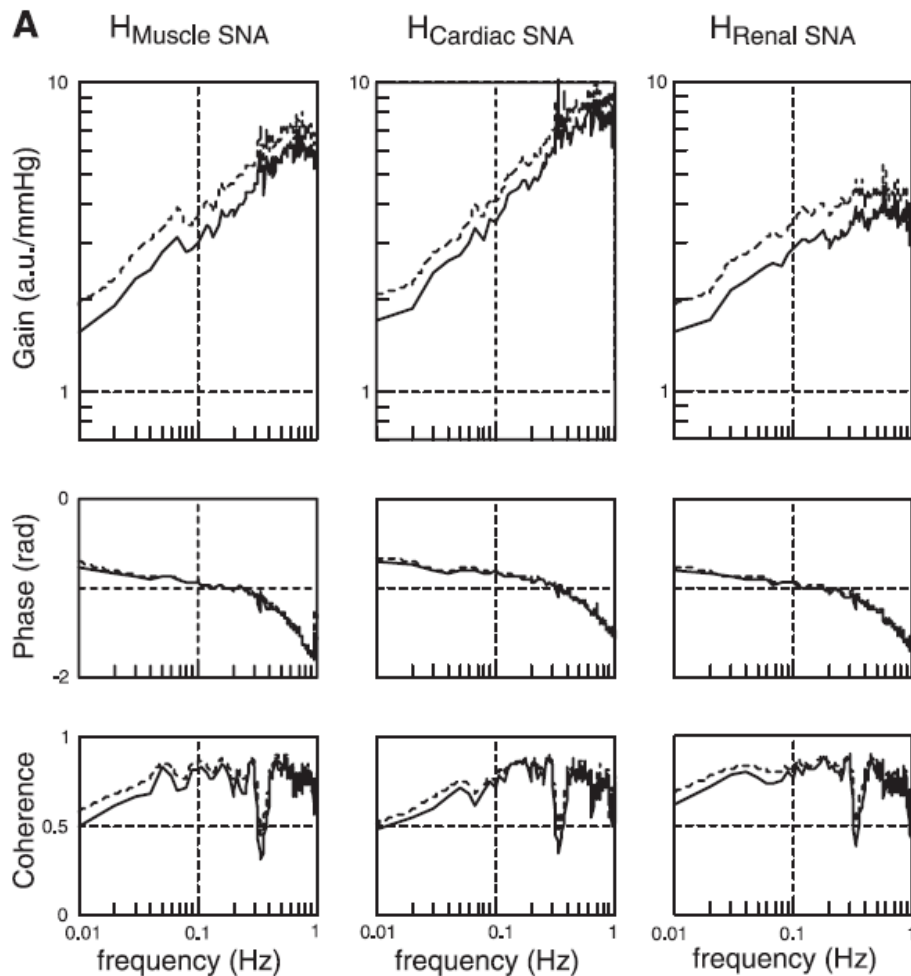


Figure 43. Fonctions de transfert (gain et phase) et fonctions de cohérence entre la pression au niveau du sinus carotidien isolé et les ANSs musculaire, cardiaque et rénale chez des lapins anesthésiés, vagotomisés et barodénervés ($n = 10$) (D'après Kamiya *et al.* 2005b).

Noter que la pente d'augmentation du gain en fonction de la fréquence au niveau de l'ANS rénale est plus faible que celle de l'ANS musculaire et cardiaque.

Chez le chat anesthésié, Harada *et al.* (1991) ont montré que les fonctions de transfert reliant la PA et les ANSs rénale et cardiaque présentent les mêmes propriétés de dérivateur, qui se traduisent par une augmentation similaire du gain entre 0,05 et 0,3 Hz. De même, la phase des

deux fonctions de transfert est légèrement en avance au-delà de 0,05 Hz. La différence de phase entre les deux fonctions de transfert est proche de zéro, indiquant qu'il n'y a pas de différence significative des caractéristiques des deux fonctions.

4.2. Mécanismes proposés afin d'expliquer le contrôle différentiel des ANSs

Différents mécanismes ont été suggérés pour expliquer le contrôle différentiel des ANSs régionales en général et par le baroréflexe en particulier.

- Au niveau des barorécepteurs, il a été suggéré que l'intégration des signaux des barorécepteurs carotidiens et aortiques est différente. Machado *et al.* ont rapporté que le nerf aortique dépresseur chez des rats anesthésiés par l'uréthane joue un rôle dominant dans le contrôle des résistances périphériques au niveau du lit vasculaire musculaire des membres postérieurs, par rapport au contrôle exercé au niveau rénal et mésentérique (Machado *et al.* 1994).
- Au niveau du NTS, différents types de récepteurs ont été impliqués dans la modulation du contrôle baroréflexe des ANSs régionales. Polson *et al.* (2007), sur une préparation de rat décérébré, ont démontré que l'administration d'angiotensine II au niveau du NTS diminue la réponse sympathoinhibitrice au niveau du nerf cardiaque inférieur et de la chaîne thoracique, en réponse à une augmentation de la pression. En revanche, la sympathoinhibition au niveau de la chaîne thoraco-lombaire inférieure n'était pas altérée. Les auteurs ont conclu que l'angiotensine II exerce des effets différentiels sur le contrôle baroréflexe des ANSs régionales. De même, la stimulation des récepteurs à l'adénosine de type A1, au niveau du NTS, induit des modifications différentes des caractéristiques du contrôle baroréflexe des ANSs rénale, lombaire et surrénale chez des rats anesthésiés par l'uréthane (Scislo *et al.* 2008).
- Au niveau de RVLM, il a été proposé que les neurones barosensibles de cette zone contrôlent préférentiellement différents organes (Guyenet 2006). En effet, des microstimulations de différents sites au niveau de la zone RVLM induisent des activations de différents nerfs sympathiques (McAllen & Dampney 1990 ; McAllen & May 1994 ; McAllen *et al.* 1995).

4.3. Conclusion

En conclusion, le baroréflexe pourrait exercer un contrôle différentiel sur les ANSs régionales. Cependant, le contrôle différentiel par le baroréflexe des différentes ANSs et sa modulation spontanée, n'ont pas été étudiés chez l'animal vigile.

5. CONCLUSION GÉNÉRALE

Le baroréflexe sympathique est modulé en fonction de l'activité physique et émotionnelle. Ces observations suggèrent que la sensibilité du baroréflexe n'est pas constante, mais au contraire qu'elle varie spontanément en fonction du temps. Cependant, la méthode pharmacologique, du fait de sa faible résolution temporelle, n'est pas adaptée à la mesure des variations rapides de la sensibilité du baroréflexe. L'étude de cette variabilité nécessite donc le développement de nouveaux index de sensibilité du baroréflexe sympathique.

Deuxième partie

TRAVAIL PERSONNEL

LISTE DES PUBLICATIONS

1. Baroreflex control of renal sympathetic nerve activity during air-jet stress in rats.
Kanbar R, Oréa V, Barrès C, Julien C.
Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 292: R362-R367, 2007.
2. Transfer function analysis between arterial pressure and renal sympathetic nerve activity at cardiac pacing frequencies in the rat.
Oréa V, Kanbar R, Chapuis B, Barrès C, Julien C.
J Appl Physiol 102: 1034-1040, 2007.
3. A transfer function method for the continuous assessment of baroreflex control of renal sympathetic nerve activity in rats.
Kanbar R, Oréa V, Chapuis B, Barrès C, Julien C.
Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 293: R1938-R1946, 2007.
4. Baroreflex control of lumbar and renal sympathetic nerve activity in conscious rats
Kanbar R, Chapuis B, Oréa V, Barrès C, Julien C.
Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 295: R8-R14, 2008.

Avant leur réalisation, tous les protocoles mis en œuvre dans ces études avaient reçu un avis favorable du Comité Régional d’Ethique pour l’Expérimentation Animale Rhône-Alpes (<http://www.dr7.cnrs.fr>). Numéros d’enregistrement respectifs : 070, 092, 043, 101.

CHAPITRE - III

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. ANIMAUX

Des rats mâles de souche Sprague-Dawley âgés de 9 à 12 semaines (Charles River Laboratories, L'Arbresle, France) sont utilisés. Leur poids corporel est compris entre 300 et 400 g. Ils sont maintenus dans des conditions constantes de température ($21 \pm 1^\circ\text{C}$), d'humidité ($60 \pm 10\%$) et d'éclairage (8h à 20h) et, ils reçoivent de l'eau de ville et une nourriture standard *ad libitum*.

2. PROCÉDURES CHIRURGICALES

2.1. Implantation des cathéters

Des cathéters artériel et veineux sont réalisés à partir d'un cathéter en polyéthylène (PE) 10 soudé à un cathéter en PE 50. La partie intra-vasculaire (PE 10) du cathéter artériel est affinée en l'étirant dans l'eau bouillante. Sous anesthésie par l'halothane ou l'isoflurane (1,5 – 2 % dans l'oxygène), un cathéter étiré est introduit dans l'aorte abdominale *via* l'artère fémorale gauche pour la mesure de la PA. Le fait que l'extrémité du cathéter soit étirée réduit considérablement le risque d'ischémie dans le membre cathétérisé. Deux cathéters non étirés sont également implantés dans la veine cave inférieure *via* la veine fémorale gauche pour l'administration de substances. La durée de la procédure d'implantation est d'environ 30 min.

Dans le cas des études réalisées chez le rat éveillé, l'implantation des cathéters est effectuée un jour avant l'étude. Après implantation, les cathéters artériel et veineux sont guidés sous la peau du dos et extériorisés entre les deux omoplates. Le cathéter artériel est rempli d'une solution de polyvinyl-pyrrolidone 40 (500 mg/ml) contenant de l'héparine (200 UI/ml) et du thiamphénicol (0,9 mg/ml). Ceci permet d'éviter la diffusion et la coagulation du sang dans le cathéter. Les cathéters veineux sont remplis avec du sérum physiologique. Tous les cathéters

sont obturés par des bouchons métalliques. Enfin, les rats reçoivent une administration sous-cutanée de 50 000 UI de pénicilline G.

Dans le cas des études réalisées chez le rat anesthésié, après implantation, le cathéter artériel est directement raccordé au système d'enregistrement de la PA et les rats reçoivent une injection d'uréthane (1,5 g/kg, i.v.) afin de maintenir l'anesthésie.

2.2. Implantation des électrodes de mesure de l'ANS

Les ANSs rénale et lombaire sont mesurées grâce à des électrodes bipolaires en platine iridié préparées au laboratoire. Les rats sont anesthésiés au pentobarbital de sodium (60 mg/kg, i.v.) et ils reçoivent des administrations de kétoprofène (5 mg/kg, s.c.) et de pénicilline G (50 000 UI, s.c.). Durant l'anesthésie, ils sont placés sur une couverture chauffante et leur température rectale est maintenue à 37°C.

2.2.1. Implantation de l'électrode de mesure de l'ANS rénale

Le rat est placé en décubitus latéral et le flanc gauche est incisé. L'incision rétropéritonéale permet ainsi d'accéder au carrefour entre l'aorte et l'artère rénale gauche. Le nerf rénal est ensuite débarrassé du tissu conjonctif, en prenant soin de conserver intacts, lorsqu'ils sont visibles, les petits vaisseaux sanguins adjacents au nerf. En effet, la présence de ces vaisseaux permet de retarder la dégénérescence du nerf et donc de prolonger la durée des enregistrements d'ANS. Ensuite, le nerf est placé sur l'électrode de mesure. Lorsque l'activité nerveuse amplifiée et visualisée sur un oscilloscope est jugée de qualité satisfaisante, le nerf et l'extrémité de l'électrode sont enrobés dans un gel isolant (Silgel 604 A et B ; Wacker Chemie, Munich, Allemagne). Une fois le gel durci, l'électrode est fixée sur le muscle psoas par 7 à 8 points de suture. La paroi musculaire est refermée en laissant passer l'électrode, et celle-ci est ensuite guidée sous la peau et son extrémité est extériorisée entre les omoplates. Le fil de terre de l'électrode est laissé libre sous la peau au niveau du dos (*Barrès et al. 1992*). La durée de la procédure d'implantation est de 1h à 1h 30 min.

2.2.2. Implantation de l'électrode de mesure de l'ANS lombaire

Après laparotomie médiane, les intestins sont rétractés et protégés avec une gaze imbibée en permanence de sérum physiologique tiède. L'aorte abdominale et la veine cave inférieure

sont délicatement rétractées afin de visualiser les deux chaînes lombaires qui reposent sur le muscle psoas. Dans la région L3-L4 (Figure 44), une chaîne est disséquée et placée sur l'électrode de mesure (Miki *et al.* 2004).

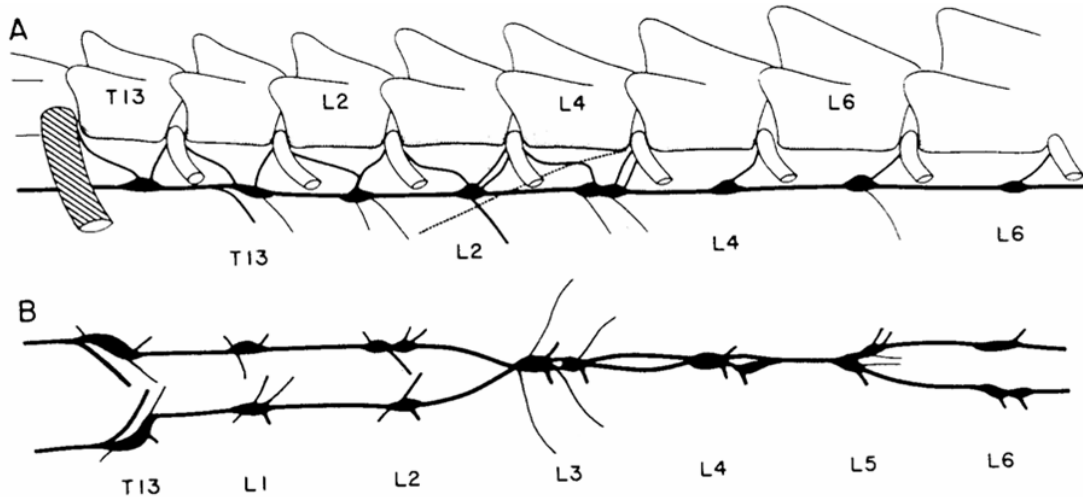


Figure 44. Anatomie de la chaîne lombaire entre T13 et L6 en vue latérale (A) et ventrale (B) chez le rat. La surface hachurée au niveau de T13 indique l'insertion du diaphragme. La bifurcation iliaque se trouve au niveau L5-L6 de la chaîne lombaire (D'après Baron *et al.* 1988).

Noter que les axones des neurones situés entre L3 et L4 innervent surtout les lits vasculaires des membres postérieurs du rat.

Lorsque la qualité du signal amplifié et visualisé sur un oscilloscope est jugée optimale, le nerf et l'électrode sont isolés avec du gel (Silgel 604 A et B) et fixés sur les muscles sous-jacents avec une colle cyanoacrylate. L'électrode est ensuite fixée sur le muscle psoas avec 2 points de suture. La paroi abdominale est refermée et l'électrode est guidée sous la peau et extériorisée entre les omoplates. Le fil de terre de l'électrode est placé sous la peau au niveau de l'abdomen. Comme pour le nerf rénal, la durée de la procédure d'implantation est de 1h à 1h 30 min.

2.3. Implantation de l'électrode de stimulation cardiaque

L'électrode de stimulation est fabriquée au laboratoire. Elle est constituée d'un fil de platine iridié (diamètre = 0,003 mm) inséré dans un cathéter (PE 20) rempli de silicone et d'un fil de terre en argent (diamètre = 0,015 mm). Les deux fils sont soudés séparément à un connecteur. Chez le rat anesthésié par l'uréthane (1,5 g/kg, i.v.), l'électrode unipolaire est

introduite dans la veine jugulaire droite et avancée jusqu'au cœur (*Mangoni et al. 1996*). Elle est fixée en place dès qu'une stimulation électrique délivrée à une fréquence imposée est capable d'entraîner le cœur à cette fréquence. Le fil de terre est placé sous la peau au niveau du cou (ouverture pratiquée pour réaliser une trachéotomie). La durée de la procédure d'implantation est d'environ 20 min.

2.4. Dénervation des barorécepteurs aortiques

L'objectif de cette dénervation sélective des zones barosensibles situées au niveau de la crosse de l'aorte est de pouvoir disposer d'un modèle présentant une réduction partielle de la sensibilité du baroréflexe, dans la mesure où les barorécepteurs sinusaux restent fonctionnels. La dénervation des barorécepteurs aortiques est effectuée selon la technique de dénervation sino-aortique décrite par Krieger (*1964*) avec quelques modifications.

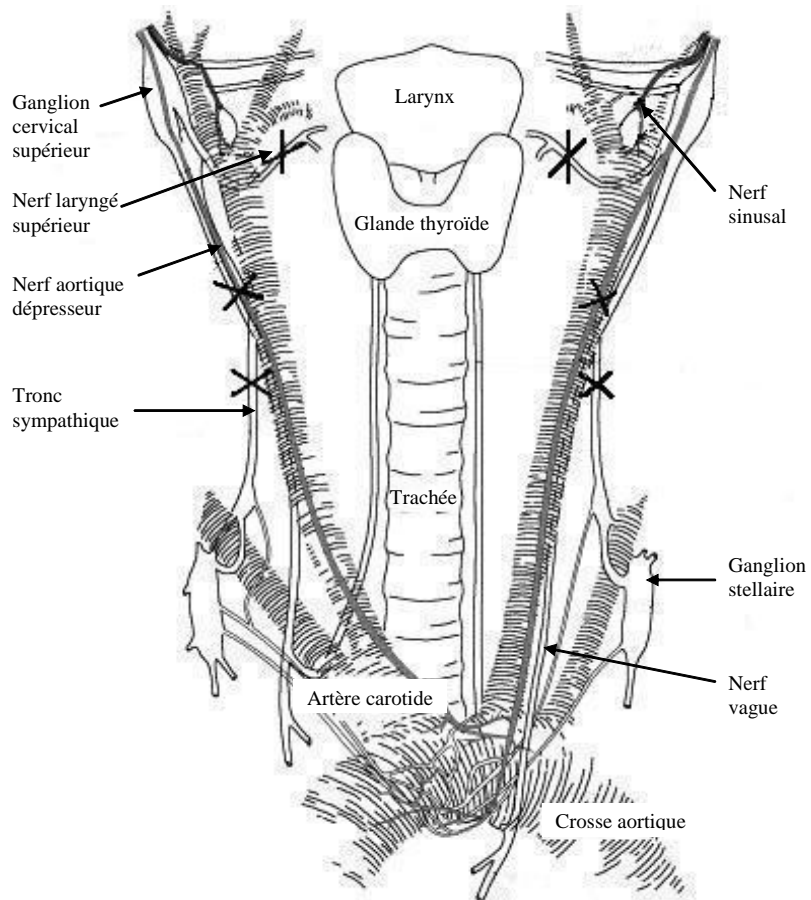


Figure 45. Anatomie de la région du cou montrant les afférences du baroréflexe chez le rat. Les croix indiquent les sections réalisées lors de la dénervation des barorécepteurs aortiques (Modifiée d'après *Chan et al. 2000*).

L'anesthésie est obtenue par l'administration à 15 min d'intervalle de maléate d'acépromazine (12 mg/kg, i.p.) et de chlorhydrate de kétamine (120 mg/kg, i.p.). Une incision médiane de la peau dans la région du cou est réalisée et le muscle sterno-hyoïdien est rétracté afin de visualiser la région comprenant les artères carotides, les nerfs vagues et les nerfs laryngés supérieurs. La dénervation aortique consiste alors à sectionner bilatéralement le nerf aortique dépresseur, le tronc cervical supérieur et le nerf laryngé supérieur (Figure 45). Les rats reçoivent, des administrations sous-cutanées de 50 000 UI de pénicilline G et de kétoprofène (5 mg/kg). La même dose de kétoprofène est injectée 24 h plus tard et les animaux sont étudiés 2 semaines après la dénervation. La durée de la procédure de dénervation est de 1h à 1h 30 min.

3. PROTOCOLE D'ENTRAÎNEMENT CARDIAQUE

Les stimulations électriques appliquées via l'électrode intracardiaque sont des impulsions rectangulaires d'une durée de 2 ms. Elles sont générées à une fréquence donnée par un ordinateur équipé d'un convertisseur analogique-numérique (AT-MIO-16 ; National Instruments, Austin, TX, USA). Le voltage minimal efficace est déterminé et conservé tout le long de l'expérience. Différentes fréquences d'entraînement ont été appliquées, en ordre aléatoire, entre 6 et 9 Hz (360-540 batt/min) avec un incrément de 0,25 Hz (15 batt/min). Pour chaque fréquence, la période de stimulation dure 70 s et est suivie d'une période de récupération de 70 s, avant l'entraînement suivant.

Tous les signaux électriques, générés et enregistrés, passent par un système d'isolation (Modèle SCM5B49 pour la stimulation, et Modèle 5B41 pour l'acquisition, National Instruments). Ce système est indispensable afin d'éviter les artéfacts électriques induits par la stimulation et qui parasitent l'ANS.

4. APPLICATION D'UN STRESS ÉMOTIONNEL

Le stress émotionnel chez le rat est réalisé en soufflant un jet d'air dans la cage à travers un orifice latéral. Ceci est réalisé grâce à un compresseur délivrant de l'air à une pression constante de 2 bars. Au début du stress, le rat sursaute et tourne dans sa cage pour fuir le flux

d'air. Puis, rapidement, il s'immobilise jusqu'à l'arrêt du jet d'air. La durée d'application du stress est de 20 minutes.

5. ENREGISTREMENT INFORMATISÉ DES VARIABLES MESURÉES

5.1. Enregistrement de la PA

Le jour de l'étude, le cathéter artériel est relié à un capteur de pression (TNF-R, Ohmeda, Bilthoven, Pays-Bas) couplé à un amplificateur (modèle 13-4615-52 ; Gould, Cleveland, OH, USA). Le signal amplifié de PA est simultanément enregistré graphiquement (modèle 8802 ; Gould) et numériquement grâce à un ordinateur de type PC, équipé d'un convertisseur analogique-numérique (modèle AT-MIO-16, National Instruments). Avant chaque enregistrement, au moyen d'un manomètre à mercure, une calibration du système de mesure est réalisée entre 0 et 300 mmHg. Au cours des enregistrements, le cathéter artériel est perfusé en permanence (0,5 ml/h) avec une solution de glucose isotonique héparinée (25 UI/ml) afin de prévenir la diffusion du sang dans le cathéter et l'amortissement du signal.

Au moyen d'un logiciel développé au laboratoire, à partir du progiciel LabVIEW 5.0 (National Instruments), la courbe de PA est échantillonnée à la fréquence de 500 Hz et enregistrée. Ce logiciel permet, également en temps réel, la surveillance à l'écran des données de PA mesurées et le calcul de la fréquence cardiaque, par analyse spectrale des 500 valeurs de PA enregistrées chaque seconde (repérage automatique de la fréquence du pic d'amplitude maximale correspondant au battement cardiaque).

5.2. Enregistrement des ANSs

Quelle que soit la nature de l'ANS mesurée (rénale et lombaire), le signal électrique est préalablement amplifié (de 50 000 à 100 000 fois) et filtré (300-3000 Hz ; Modèle P-511J ; Grass, Quincy, MA, USA). Une rectification du signal d'activité électrique est réalisée soit 1/ en temps réel, par un rectificateur analogique comportant un filtre passe-bas ayant une fréquence de coupure de 150 Hz, soit 2/ en temps différé, après l'acquisition numérique du signal d'ANS, grâce à un logiciel développé à partir du progiciel LabVIEW 6i (National Instruments).

Au moyen d'une d'interface analogique-numérique (AT-MIO-16), et du logiciel LabVIEW 5.0 (National Instruments), les signaux d'ANS brute et rectifiée analogiquement sont échantillonnés respectivement à 10 000 et 5 000 Hz puis enregistrés. Dans le cas d'enregistrement simultané des deux ANSs, seuls les signaux bruts échantillonnés à 10 000 Hz sont enregistrés. La rectification s'effectue alors uniquement en temps différé. Les signaux rectifiés analogiquement sont aussi enregistrés graphiquement (modèle 8802 ; Gould).

6. PROTOCOLE PHARMACOLOGIQUE DE MISE EN JEU DU BARORÉFLEXE

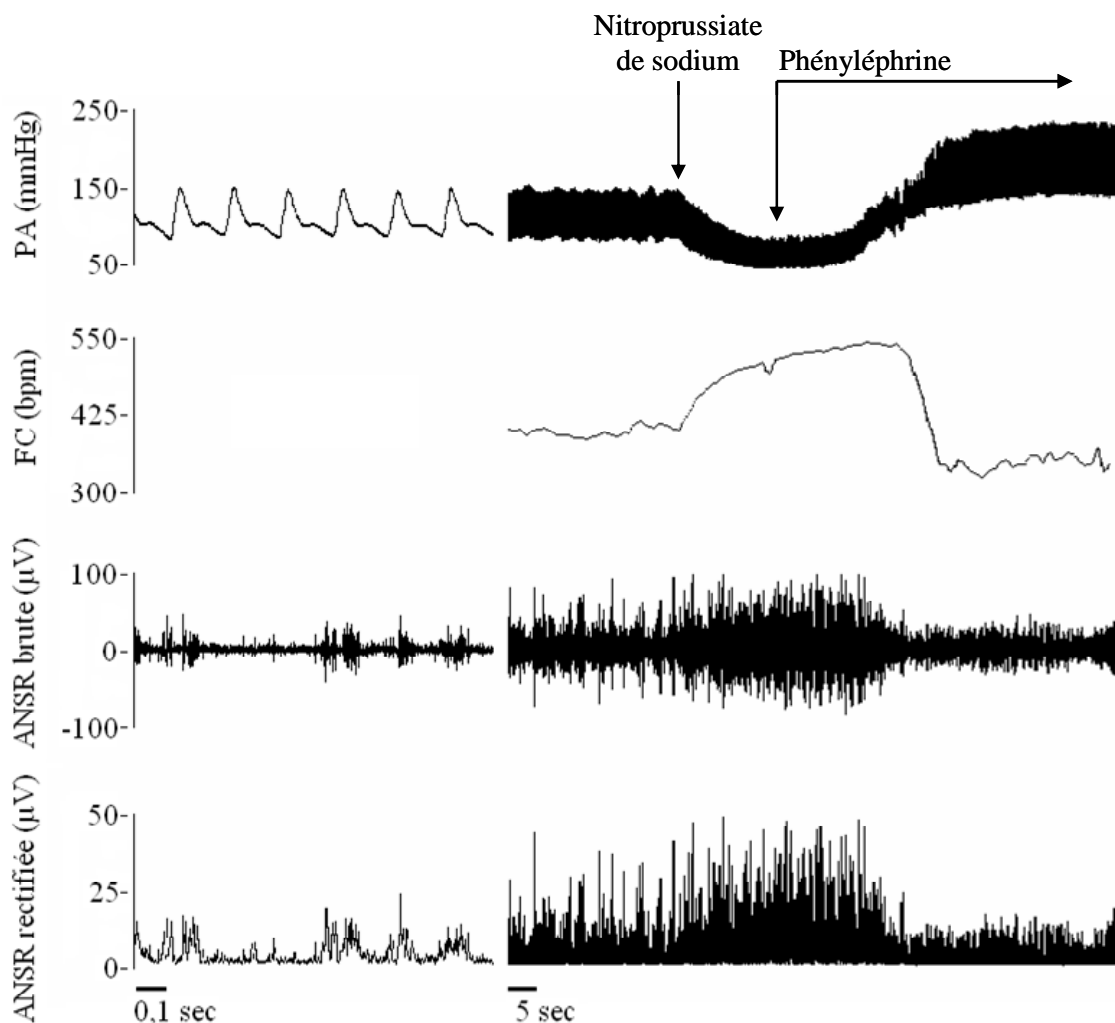


Figure 46. Evolution de la pression artérielle (PA), de la fréquence cardiaque (FC) et de l'activité nerveuse sympathique rénale (ANSR) brute et rectifiée au cours d'un test baroréflexe chez un rat éveillé.

Noter que la durée du test baroréflexe avec l'administration séquentielle des substances vasoactives nécessite 1 à 2 min.

Le baroréflexe est mis en jeu selon la technique décrite par Hinojosa-Laborde *et al.* (1994) qui consiste à induire séquentiellement 1/ une diminution de PA moyenne jusqu'à environ 60 mmHg, grâce à une administration de nitroprussiate de sodium (100 µg/kg, i.v.), puis 2/ une augmentation de PA moyenne, jusqu'à environ 160 mmHg, grâce à une perfusion de phényléphrine (50 µg/kg/min, i.v., pendant environ 1 min) (Figure 46). Ce test n'est réalisé que lorsque les variables cardio-vasculaires sont préalablement stabilisées.

7. ANALYSE DES DONNÉES

7.1. Normalisation des signaux d'ANS

Préalablement à toute analyse, la valeur du bruit de fond électrique des ANSs est mesurée et retranchée de chaque valeur d'ANS. Le bruit de fond de l'ANS rénale est estimé comme étant l'activité électrique résiduelle mesurée sous blocage ganglionnaire (chlorisondamine, 2,5 mg/kg, i.v.) ou *post-mortem*. Une étude antérieure (Bertram *et al.* 2005) a montré qu'il n'existe pas de différence significative entre l'ANS rénale enregistrée dans ces deux conditions chez le rat. Ceci est dû à la nature purement post-ganglionnaire du nerf rénal. En revanche, la chaîne sympathique lombaire, bien que principalement constituée de fibres post-ganglionnaires, contient une proportion non négligeable de fibres pré-ganglionnaires chez le rat. Ainsi, l'ANS lombaire résiduelle sous blocage ganglionnaire représente 10 à 25 % de l'ANS de base (Scislo *et al.* 1998, 2008). Pour cette raison, dans le cas de la normalisation de l'ANS lombaire, le bruit de fond est estimé *post-mortem*.

Ensuite, une valeur moyenne d'ANS est calculée sur une période de référence dans les conditions de base. Toutes les valeurs d'ANS sont par la suite exprimées en pourcentage de cette valeur de référence (unités normalisées, UN) (Burke & Head 2003).

7.2. Quantification de la variabilité tensionnelle

A partir d'une série chronologique de PA, la variabilité tensionnelle est estimée par le calcul 1/ dans le domaine temporel, de l'écart-type de la série et 2/ dans le domaine fréquentiel, de la puissance spectrale.

L'écart-type de la série chronologique exprime la dispersion des valeurs autour de la moyenne, en faisant l'hypothèse de la normalité de la distribution de ces valeurs.

La puissance spectrale est calculée grâce à une analyse spectrale utilisant la transformation de Fourier discrète (*Koopmans 1995*). A partir des séries chronologiques de PA rééchantillonnées à la fréquence de 50 Hz (calcul des moyennes de 10 valeurs consécutives), l'analyse est appliquée à la nouvelle série après soustraction de la tendance linéaire et application d'une fenêtre de Hanning. Un seul spectre est calculé à partir des enregistrements de 3605 s. La résolution fréquentielle est de 0,00028 Hz. La puissance spectrale est calculée comme l'aire sous la courbe dans trois bandes de fréquence : 1/ une bande de basse fréquence (0,00028-0,2699 Hz) contenant les fluctuations lentes de PA, 2/ une bande de moyenne fréquence (0,2702-0,7401 Hz) contenant les ondes de Mayer et, 3/ une bande de haute fréquence (0,7404-2,5001 Hz) contenant les fluctuations respiratoires de PA. La puissance totale est calculée entre 0 et 2,5 Hz.

7.3. Étude des relations PA-ANS

La relation baroréflexe entre la PA et l'ANS est examinée soit par la méthode pharmacologique classique (voir chapitre I, paragraphe 3.1.1) soit, par une méthode basée sur le calcul de la fonction de transfert entre la PA et l'ANS.

7.3.1. Analyse sigmoïde [Gain pharmacologique]

Dans un premier temps, les signaux de PA et d'ANS normalisées sont rééchantillonnés à la fréquence de 1 Hz par le calcul de la valeur moyenne à partir de fenêtres consécutives de 1 s. Le baroréflexe sympathique est ensuite analysé en ajustant l'équation d'une courbe sigmoïde à 4 paramètres (*Head & McCarty 1987*) (SigmaPlot 2000 ; SPSS, Chicago, IL, USA) aux couples de valeurs de PA et d'ANS mesurées pendant l'administration séquentielle de nitroprussiate de sodium et de phényléphrine (Chapitre III, paragraphe 6). La qualité de l'ajustement est estimée par le coefficient de détermination (R^2). Les paramètres dérivés, ainsi que le gain maximal et le gain opérationnel, sont calculés comme décrit précédemment dans le chapitre I, paragraphe 3.1.1.b.

7.3.2. Analyse utilisant la fonction de transfert PA-ANS [Gain spontané]

Cette analyse est utilisée pour calculer le gain de la fonction de transfert entre la PA et l'ANS à la fréquence cardiaque. Elle est appliquée sur des périodes successives de 1 minute.

Tout d'abord, les signaux sont rééchantillonnés à la fréquence de 50 Hz par le calcul des moyennes de 10 valeurs consécutives pour la PA et de 100 valeurs consécutives pour l'ANS rectifiée. La période d'enregistrement sélectionnée est ensuite segmentée en périodes d'environ 1 minute (61,4 s) et chaque période est à son tour segmentée en 11 périodes de 10,24 s (se recouvrant par moitié), c'est-à-dire de 512 points chacune.

a) Détection de la fréquence cardiaque

Sur une période de 1 minute, une analyse spectrale simple de la PA est effectuée pour chaque sous-période de 10,24 s par transformée de Fourier rapide (*Cerutti et al. 1994*). La tendance linéaire est retranchée et un fenêtrage de Hanning est appliqué. La densité spectrale de puissance (exprimée en mmHg²/Hz) est calculée entre 0 et 10 Hz. La résolution fréquentielle est de 0,0977 Hz. Les spectres obtenus pour chacune des 11 périodes sont ensuite moyennés. Le maximum de la densité spectrale, dans la bande de fréquence contenant la fréquence cardiaque (en général comprise entre 5 et 8 Hz), est détecté et sa fréquence est alors notée.

b) Calcul du gain de la fonction de transfert à la fréquence cardiaque

Sur chaque période de 1 minute, une analyse spectrale croisée est effectuée par transformée de Fourier rapide (*Cerutti et al. 1994*) sur les mêmes 11 périodes de 10,24 s, afin d'étudier les relations dans le domaine fréquentiel entre la PA (signal d'entrée) et une ANS (signal de sortie). Cette analyse permet de calculer le spectre de cohérence, le spectre de gain exprimé en unité normalisée / mmHg et le spectre de phase exprimée en degré.

A la fréquence détectée (fréquence cardiaque), le gain, la phase et la cohérence sont extraits. Seules les valeurs de gain et de phase associées à une cohérence significative sont prises en compte pour les analyses ultérieures.

Le seuil de significativité de la cohérence dépend du nombre de périodes adjacentes utilisées pour le calcul des spectres moyens (*Barrès et al. 2004*). Ce seuil indique la valeur de cohérence au dessus duquel cette cohérence est significativement différente de zéro. Dans nos études, compte tenu du nombre de périodes analysées et du type de fenêtrage utilisé, le seuil de significativité ($P < 0,05$) de la cohérence est de 0,348.

CHAPITRE - IV

CONTRÔLE BARORÉFLEXE DE L'ACTIVITÉ NERVEUSE SYMPATHIQUE RÉNALE DURANT UN STRESS ÉMOTIONNEL CHEZ LE RAT

Article : Baroreflex control of renal sympathetic nerve activity during air-jet stress in rats.

Kanbar R, Oréa V, Barrès C, Julien C.

Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 292: R362-R367, 2007.

Chez le rat, le baroréflexe artériel, et plus particulièrement sa composante sympathique, pourrait limiter les effets hypertenseurs associés à un stress émotionnel (*Zhang et al. 1996*). Il a cependant été proposé que ce type de stress inhibe, voire abolit, l'activité du système baroréflexe (*Cooté et al. 1979*). Dans ce contexte, l'objectif de cette étude est de déterminer l'effet d'un stress émotionnel aigu sur le contrôle baroréflexe de l'ANS rénale chez le rat.

La PA et l'ANS rénale sont enregistrées simultanément chez 11 rats adultes éveillés, avant (période de base) et pendant l'application d'un stress émotionnel d'intensité modérée induit par un jet d'air soufflé dans la cage pendant 20 min. La PA et l'ANS rénale sont échantillonnées respectivement aux fréquences de 500 et 5 000 Hz et enregistrées. Le contrôle baroréflexe de l'ANS rénale est étudié grâce à l'administration séquentielle de nitroprussiate de sodium (100 µg/kg, i.v.) et de phényléphrine (50 µg/kg/min, i.v., pendant 30 à 40 s). Ce test est effectué deux fois à 1 h d'intervalle pendant la période de base et 8 à 10 min après le début de l'épreuve de stress. Les courbes baroréflexes reliant l'ANS rénale à la PA sont construites en ajustant une fonction sigmoïde aux valeurs de PA et d'ANS rénale mesurées pendant le test baroréflexe.

L'application d'un stress émotionnel aigu augmente significativement la PA, la fréquence cardiaque et l'ANS rénale. Les deux courbes baroréflexes obtenues à 1 h d'intervalle, dans les conditions de base pendant que les rats sont éveillés et calmes, sont similaires et les paramètres qui les décrivent ne diffèrent pas significativement entre eux. Les courbes baroréflexes obtenues pendant le stress sont déplacées vers des niveaux de PA plus élevés.

Cet effet s'accompagne d'une augmentation du gain maximal, elle-même secondaire à une augmentation de l'étendue des variations maximales de l'ANS rénale. De plus, l'étendue opérationnelle du baroréflexe sympathique, c'est-à-dire l'intervalle de PA sur lequel le réflexe est susceptible de modifier l'ANS rénale, est significativement élargi. Enfin, l'augmentation de la PA, pendant le stress, tend à être inversement reliée au gain maximal mesuré pendant la période de base.

En conclusion, pendant l'exposition à un stress émotionnel chez le rat, le contrôle baroréflexe de l'ANS rénale est sensibilisé et agit sur un intervalle de PA plus large. Ce résultat indique que les résistances vasculaires rénales, et probablement la PA, sont efficacement contrôlées par le système nerveux sympathique dans ces conditions.

Baroreflex control of renal sympathetic nerve activity during air-jet stress in rats

Roy Kanbar, Valérie Oréa, Christian Barrès, and Claude Julien

Université de Lyon, Lyon, F-69008, France; Université Lyon I, Lyon, F-69008, France,
ISPB, Département de Physiologie et Pharmacologie Clinique

Submitted 13 June 2006; accepted in final form 10 September 2006

Kanbar R, Oréa V, Barrès C, Julien C. Baroreflex control of renal sympathetic nerve activity during air-jet stress in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 292: R362–R367, 2007. First published September 14, 2006; doi:10.1152/ajpregu.00413.2006.—The effects of acute emotional stress on the sympathetic component of the arterial baroreceptor reflex have not yet been described in conscious animals and humans. Arterial pressure (AP) and renal sympathetic nerve activity (RSNA) were simultaneously recorded in 11 conscious rats before and during exposure to a mild environmental stressor (jet of air). Baroreflex function curves relating AP and RSNA were constructed by fitting a sigmoid function to RSNA and AP measured during sequential nitroprusside and phenylephrine administrations. Stress increased mean AP from 112 ± 2 to 124 ± 2 mmHg, heart rate from 381 ± 10 to 438 ± 18 beats/min, and RSNA from 0.80 ± 0.14 to 1.49 ± 0.23 μ V. The RSNA-AP relationship was shifted toward higher AP values, and its maximum gain was significantly ($P < 0.01$) increased from 9.0 ± 1.3 to 16.2 ± 2.1 normalized units (NU)/mmHg. The latter effect was secondary to an increase ($P < 0.01$) in the range of the RSNA variation from 285 ± 33 to 619 ± 59 NU. In addition, the operating range of the reflex was increased ($P < 0.01$) from 34 ± 2 to 41 ± 3 mmHg. The present study indicates that in rats, the baroreflex control of RSNA is sensitized and operates over a larger range during emotional stress, which suggests that renal vascular tone, and possibly AP, are very efficiently controlled by the sympathetic nervous system under this condition.

arterial pressure; baroreceptor reflex; gain; sympathetic nervous system

IN LABORATORY ANIMALS AND human subjects, emotional stress evokes parallel increases in arterial pressure (AP), heart rate (HR), and sympathetic nerve activity (SNA) (1, 2, 17). In sleeping or quiet resting subjects, pharmacologically induced increases in AP result in reflex decreases in HR and SNA. From this simple observation, it is logical to hypothesize that emotional stress inhibits or even suppresses the arterial baroreceptor reflex. Support to this hypothesis came initially from studies performed on anesthetized animals. Specifically, electrical stimulation of the hypothalamic defense area of cats, which mimics the cardiovascular and autonomic effects of emotional stress (8), was shown to inhibit baroreceptive neurons in the nucleus tractus solitarius (22). In the latter study, however, it could not be excluded that electrical stimulation had activated fibers of passage. Therefore, the question was recently revisited by using a pharmacological approach. It was found that in urethane-anesthetized rats, disinhibition of neurons of the defense area with a GABA_A receptor antagonist

induced a rightward shift of the renal SNA (RSNA) baroreflex function curve and increased its sensitivity (20).

It is amazing that the effects of emotional stress on the characteristics of the sympathetic baroreceptor reflex have not yet been reported. However, indirect evidence has been obtained in conscious rats that the sympathetic vascular component of the baroreceptor reflex is still operating during stress because pressor and regional vasoconstrictor responses to air-jet stress are enhanced in sinoaortic baroreceptor denervated rats (29). This would imply that the amplitude of the pressor response accompanying exposure to emotional and psychological stressors is, at least partly, determined by the sensitivity of the sympathetic baroreceptor reflex. This question is of importance from a (patho)physiological point of view simply because stress-induced pressor episodes probably contribute to the spontaneous variability of AP (14), and because AP variability is increasingly recognized as a cardiovascular risk factor, especially in hypertensive patients (18, 21, 25).

The aim of the present study was, therefore, to examine the effects of emotional stress on the sympathetic baroreflex function curve. For this purpose, RSNA and AP were simultaneously recorded in conscious rats under resting conditions and during acute exposure to a mild environmental stressor (jet of air).

METHODS

Animals and surgery. Experiments were performed on 11 male Sprague-Dawley rats aged 9 to 10 wk (Charles River Laboratories, L'Arbresle, France). Animals were housed individually with free access to food and water and were maintained on a 12:12-h light-dark cycle. All experiments were approved by the local Animal Ethics Committee.

The day before the study, rats were anesthetized with halothane (2% in oxygen) and received a single prophylactic injection of penicillin G (50,000 IU sc). One femoral arterial and two femoral venous catheters were inserted into the lower abdominal aorta and the inferior vena cava for AP measurement and drug administration, respectively. Catheters were routed subcutaneously and exteriorized between the scapulae. Then, 4 to 6 h later, rats were reanesthetized with pentobarbital sodium (60 mg/kg ip), and the left renal nerve was exposed via a flank incision. After careful isolation, a major branch of the renal nerve was placed on a bipolar platinum-iridium electrode and insulated with a silicone gel (604A and B; Wacker Chemie, Munich, Germany). The electrode cable was secured to back muscles and exteriorized at the same site as the catheters. The plug was protected in a small cap sewn to the skin. Rats received an injection of ketoprofen (2 mg/kg ip) and were allowed 16–18 h to recover from anesthesia (28).

Address for reprint requests and other correspondence: C. Julien, Faculté de Pharmacie, 8, Ave. Rockefeller, 69373 Lyon Cedex 08, France (e-mail: julien@univ-lyon1.fr).

The costs of publication of this article were defrayed in part by the payment of page charges. The article must therefore be hereby marked "advertisement" in accordance with 18 U.S.C. Section 1734 solely to indicate this fact.

Data acquisition and experimental protocol. AP was measured by connecting the arterial catheter to a precalibrated pressure transducer (TNF-R; Ohmeda, Bithoven, The Netherlands) coupled to an amplifier (model 13-4615-52; Gould, Cleveland, OH). RSNA was amplified ($\times 50,000$), band-pass filtered (300–3,000 Hz; model P-511J; Grass, Quincy, MA), and rectified by an analog homemade rectifier including a low-pass filter with a cut-off frequency of 150 Hz. Using a computer equipped with an analog-to-digital converter (model AT-MIO-16; National Instruments, Austin, TX), and LabVIEW 5.1 software (National Instruments), we sampled the AP and RSNA signals at 500 and 5,000 Hz, respectively.

AP and RSNA were simultaneously and continuously recorded before (baseline) and during application of a mild emotional stress elicited by means of a jet of air blown into the cage (2, 14, 29) for 20 min. The baroreflex control of RSNA was assessed under baseline conditions in the awake resting state (twice at a 60-min interval) and 10 min after starting the air-jet stress. Baroreflex testing consisted of first decreasing mean AP (MAP) to ~ 50 mmHg with a bolus injection of sodium nitroprusside (100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ iv) and then increasing MAP from that level to ~ 160 mmHg with an infusion of phenylephrine (50 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ iv for 30 to 40 s) (Ref. 7; see Fig. 3). At the end of the recording session, the long-acting ganglionic blocker chlorisondamine was administered (2.5 mg/kg iv). On completion of the experiment, the rats were euthanized with an intravenous overdose of pentobarbital sodium, and RSNA was recorded for an additional 25- to 30-min period.

Data analysis. AP and RSNA time series were resampled at 1 Hz by averaging data over consecutive 1-s periods. Average values of 1 s of AP are referred to as MAP values in the following of the text. Within each 1-s segment, HR was estimated as the mean interbeat interval. Since there was no significant difference between postmortem RSNA values and those measured after chlorisondamine administration, the background noise level was taken as the mean value calculated over a 2-min period under ganglionic blockade. This value was then subtracted from all RSNA data for subsequent analyses. A reference RSNA value was obtained by calculating the mean of the two 2-min average values measured just before each baroreflex testing under baseline conditions. RSNA was then expressed as a percentage of this reference value, which was taken to equal 100 normalized units (NU).

The RSNA-MAP baroreflex relationship was assessed by analyzing data collected from the maximum nitroprusside-induced fall in AP up to the maximum phenylephrine-induced rise in AP. The duration of the whole AP variation was ~ 60 s. A sigmoid function was then fitted to the MAP-RSNA data pairs (see Fig. 4) by an iterative least-squares procedure (SigmaPlot 2000; SPSS, Chicago, IL): $\text{RSNA} = P_1 / \{1 + \exp[P_2(\text{MAP} - P_3)]\} + P_4$, where P_1 is the full range of RSNA changes, i.e., the difference between the upper (calculated maximum RSNA activation) and lower (calculated maximum RSNA inhibition) plateaus; P_2 is a slope coefficient; P_3 is MAP at half the RSNA range (which is also the inflection point of the sigmoid curve where the slope is maximum); and P_4 is the lower plateau. From these parameters, the upper plateau ($P_1 + P_4$), the threshold pressure ($P_{\text{thr}} = P_3 - 2/P_2$), the saturation pressure ($P_{\text{sat}} = P_3 + 2/P_2$) and the operating range ($P_{\text{sat}} - P_{\text{thr}}$) were derived. P_{thr} and P_{sat} are MAP values at the points where the tangent at inflection point of the sigmoid curve intersects with the upper and lower plateaus, respectively. At these points, RSNA lies 11.9% (of the RSNA range) below and above the upper and lower plateaus, respectively (6, 19). The operating range indicates the range of MAP over which RSNA is responsive. The first derivative of the sigmoid function was computed to determine the baroreflex gain across the full range of MAP variations, including the maximum gain (G_{max}), which can also be calculated as $P_1 P_2 / 4$.

Statistics. Values are means \pm SE. Paired comparisons were performed using the nonparametric Wilcoxon signed rank test.

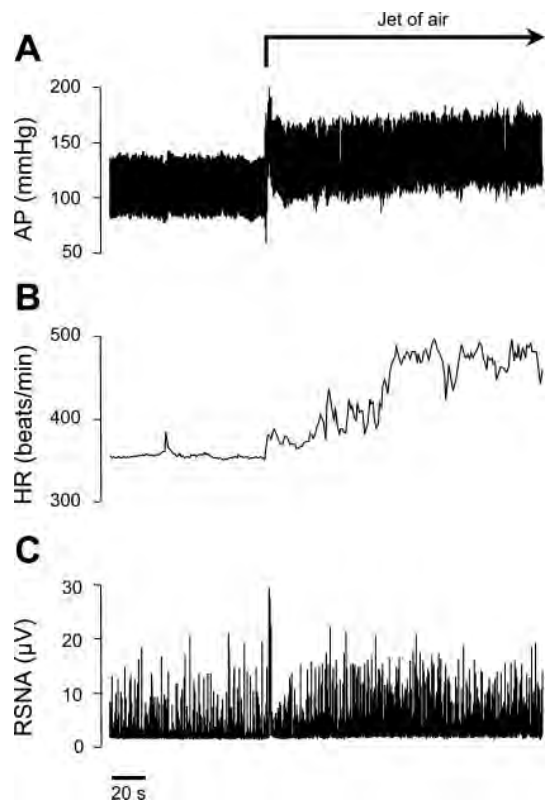


Fig. 1. Acute effects of air-jet stress on arterial pressure (AP; A), heart rate (HR; B) and renal sympathetic nerve activity (RSNA; C) in 1 conscious rat. Note the transient AP and RSNA responses at the very beginning of the stress trial and the progressive increase in HR.

RESULTS

Effects of emotional stress on cardiovascular variables. Behavioral responses to stress were consistent between animals. When the jet of air was suddenly blown into the cage, there was a startle response and AP rose to a maximum (Fig. 1). Thereafter, rats usually moved until they found a place in the cage where they stayed immobile for the rest of the test. AP and RSNA stabilized 7 to 8 min after the onset of the stress trial, thus allowing the assessment of the baroreflex control of RSNA under stable conditions (Fig. 2A and C). By contrast, HR increased progressively and did not reach a stable level after 10 min of exposure to the air jet (Fig. 2B). When considering the 2-min average values recorded immediately before baroreflex testing (i.e., 2 h and 1 h before, and at 8–10 min after the onset of the stress), it was observed that MAP increased from 112 ± 2 to 124 ± 2 mmHg, HR from 381 ± 10 to 438 ± 18 beats/min and RSNA from 0.80 ± 0.14 to 1.49 ± 0.23 μV . Differences are significant ($P = 0.003$ in all cases).

Effects of emotional stress on the sympathetic component of the baroreceptor reflex. Under both baseline and stress conditions, RSNA showed clear changes in response to drug-induced alterations of AP (Fig. 3). A four-parameter sigmoid equation could be satisfactorily fitted to all MAP-RSNA baroreflex relationships (Fig. 4), as demonstrated by high coefficients of determination (Table 1). The two baroreflex curves obtained under baseline conditions at a 1-h interval were very similar (Fig. 5), and their describing parameters did

not differ significantly. These parameters were therefore averaged (Table 1).

Baroreflex curves obtained during stress were shifted toward higher MAP levels (Fig. 5A and Table 1). The increases in

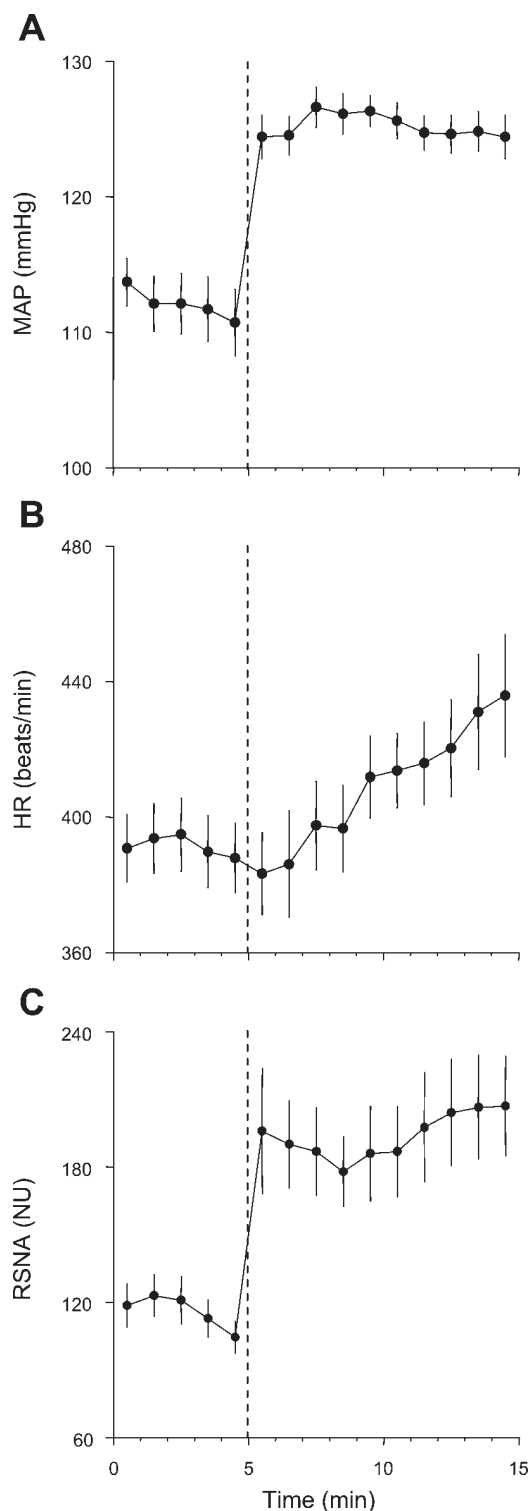


Fig. 2. Effects of air-jet stress on mean AP (MAP; A), HR (B), and RSNA (C). Data were averaged over 1-min consecutive periods. NU, normalized units. Vertical dashed lines show the beginning of the stress trial. Data points are group average values \pm SE for 11 rats.

midrange MAP (P_3) and reference MAP did not differ significantly (9.5 ± 2.6 mmHg vs. 12.3 ± 1.8 mmHg, respectively; $P = 0.155$) and were positively and linearly related ($R = 0.68$, $P = 0.022$). In addition, the upper plateau was increased and the lower plateau was decreased so that the range of RSNA variations (P_1) was more than doubled (Fig. 5A and Table 1). As a consequence, the maximum gain of the MAP-RSNA baroreflex curve was increased by $\sim 80\%$ during stress (Fig. 5B and Table 1). The operating range of the sympathetic baroreflex was also significantly increased due to an increase in the saturation MAP (Table 1). Finally, it was observed that the stress-induced increase in MAP tended to be inversely related to the maximum gain measured under baseline conditions ($R = -0.58$, $P = 0.063$).

The effects of emotional stress on the cardiac component of the baroreceptor reflex could not be assessed with the method used in this study. After sodium nitroprusside administration, HR remained elevated when AP had returned to, or even was higher than, baseline levels during phenylephrine infusion (Fig. 3A and B). This resulted in a marked hysteresis in the HR response to AP changes, which precluded a proper analysis of baroreflex curves.

DISCUSSION

Emotional stress in rats resets the AP-RSNA baroreflex function curve to higher AP levels and increases its maximum gain and its operating range. Taken together, these observations suggest that renal vascular tone, and possibly AP, are very efficiently controlled by the sympathetic component of the arterial baroreceptor reflex during acute exposure to an emotional stressor.

Methodological aspects. In the present study, baseline baroreflex testing was performed in awake, quiet rats. Under this condition, the characteristics of the AP-RSNA baroreflex function curves showed a good reproducibility at a 1-h interval, thus allowing safe comparisons with curves obtained under stressful conditions after a similar time interval. During air-jet stress, rats stayed motionless so that changes in baroreflex function curves most probably reflected the purely "emotional" effects of stress. One limitation of the method, however, is that it was not appropriate for the study of the cardiac component of the baroreceptor reflex, due to a marked hysteresis in the HR response to the sequence of AP changes. The reasons for this hysteresis are unclear. It is possible that the profound fall in AP induced by sodium nitroprusside evoked a reflex release of adrenomedullary catecholamines. Circulating catecholamines have longer half-lives than neurally released catecholamines and thus might have opposed and retarded the subsequent vagally mediated slowing of HR induced by phenylephrine infusion. Experiments performed on adrenal demedullated rats would be necessary to clarify this point. In practice, it might be advisable to allow a recovery period between the administrations of vasoactive drugs to assess the baroreflex control of HR (11, 23, 24).

Effects of emotional stress on the sympathetic baroreflex. Air-jet stress increased both MAP and RSNA. This was accompanied by a resetting of the AP-RSNA baroreflex function curve toward higher AP levels. This result accords with previous studies in conscious rats reporting significant rightward shifts of the AP-RSNA curve during treadmill exercise (23)

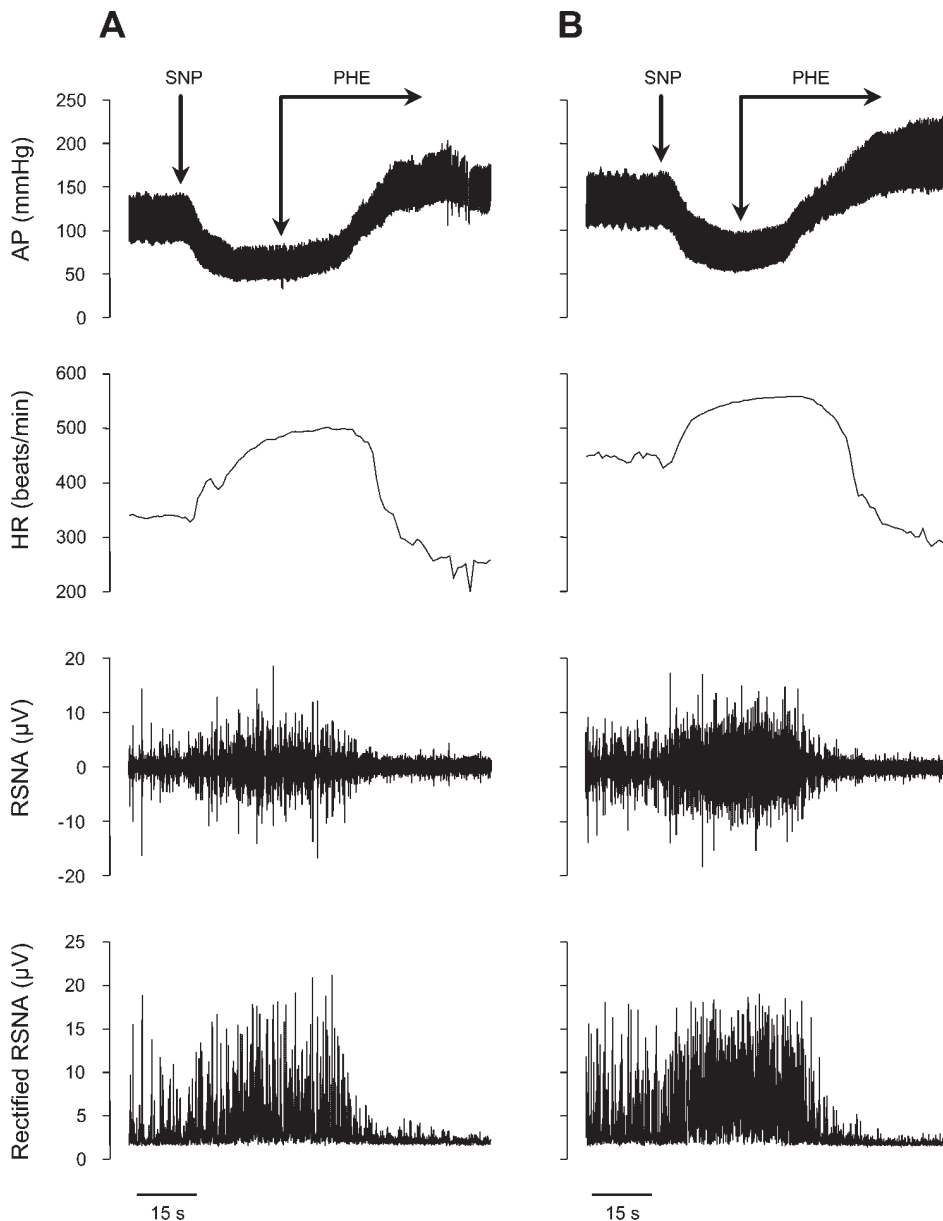


Fig. 3. Time course of changes in AP, HR, and RSNA induced by the sequential administration of sodium nitroprusside (SNP) and phenylephrine (PHE) in 1 conscious rat, under baseline conditions (A) and during air-jet stress (B).

and grooming (24). A significant resetting of the AP-HR baroreflex function curve has also been reported during air-jet stress in borderline hypertensive rats (13) and in rabbits (26). Another major effect of air-jet stress was a range-dependent increase in the maximum baroreflex gain. Again, this was consistent with a previous report in exercising rats (23). Stress-induced alterations in the AP-RSNA baroreflex function curve are probably of central origin as very similar changes in the characteristics of the reflex have been reported in anesthetized rats during pharmacological disinhibition of neurons of the defense area (20).

The marked stress-induced increase in RSNA observed in this and previous (2, 17) studies probably resulted in renal vasoconstriction. An increase in renal and mesenteric vascular resistances has been observed during air-jet stress in rats (16, 29). Despite concomitant vasodilatation in skeletal muscles (16, 29), the net hemodynamic effect of air-jet stress is an

increase in vascular resistances in the lower part of the body, as could be demonstrated by Doppler blood flow measurements at the level of the subdiaphragmatic aorta (29). This hemodynamic effect is probably responsible for a large part of the stress-induced increase in AP. The present finding that the sympathetic component of the baroreceptor reflex still operates during emotional stress is consistent with our previous observations in sinoaortic baroreceptor denervated rats that led us to propose that the baroreflex system limits renal and splanchnic vasoconstriction while enhancing vasodilatation in the skeletal muscles, hence favoring the hyperemic response in the latter circulation while reducing its cost in terms of pressor effect and thus, workload on the heart (29). However, this hypothesis does not require that the gain of the reflex should be increased and its operating range enlarged. We are therefore left with speculations about the necessity for the cardiovascular system to be prepared to face stronger challenges during "fight or

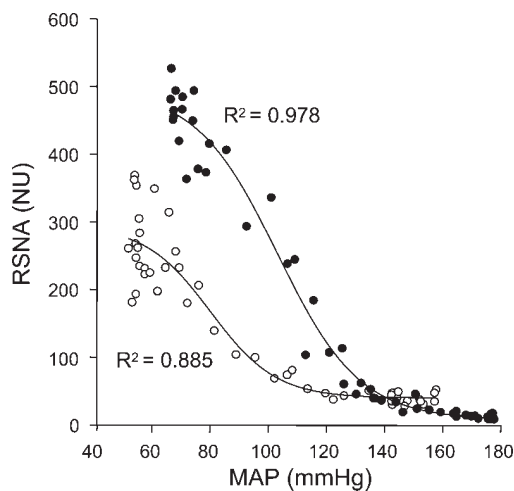


Fig. 4. Example of baroreflex function curves constructed by fitting a sigmoid function to RSNA and MAP measured during sequential SNP and PHE administrations, before (○) and during (●) air-jet stress. Data are from the same rat as in Fig. 3. R^2 , coefficient of determination (observed vs. predicted values).

flight" behavior. An enhanced baroreflex function would possibly be beneficial to regional and systemic hemodynamic adjustments accompanying such behavior. This hypothesis is supported by a study in rabbits demonstrating that air-jet stress increases the blood loss necessary to produce hypotension (27).

Limitations of the study. The absence of data on the cardiac component of the baroreceptor reflex might be disappointing to the reader. However, such data have already been reported in the literature (13, 26). Furthermore, in conscious rats, HR variations play little role in controlling spontaneous AP fluctuations, which is demonstrated by the lack of effect of acute cardiac autonomic blockade on AP variability (3). It is of note, however, that a buffering effect of HR variability on AP variability can be unmasked in rats with chronic sympathectomy (10).

Table 1. Effects of emotional stress on the characteristics of the MAP-RSNA baroreflex function curve

	Baseline	Stress	<i>P</i>
<i>Fitted Model Parameters</i>			
R^2	0.899±0.009	0.974±0.004	0.003
P_1 , NU	285±33	619±59	0.003
P_2 , mmHg ⁻¹	0.13±0.01	0.10±0.01	0.010
P_3 , mmHg	99±3	109±2	0.004
P_4 , NU	31±4	13±4	0.033
<i>Derived Model Parameters</i>			
Upper plateau, NU	316±32	633±58	0.004
P_{thr} , mmHg	82±3	88±3	0.110
P_{sat} , mmHg	116±3	130±2	0.003
Operating range, mmHg	34±2	41±3	0.006
G_{max} , NU/mmHg	9.0±1.3	16.2±2.1	0.008

Values are means ± SE ($n = 11$ rats). Baseline parameters were averaged from the 2 baroreflex curves. R^2 , coefficient of determination (observed vs. predicted values); P_1 , RSNA range; P_2 , slope coefficient; P_3 , mean arterial pressure (MAP) at midrange; P_4 , lower plateau; P_{thr} , threshold MAP; P_{sat} , saturation MAP; G_{max} , maximum gain; NU, normalized units. *P* values refer to comparisons between baseline and stress conditions.

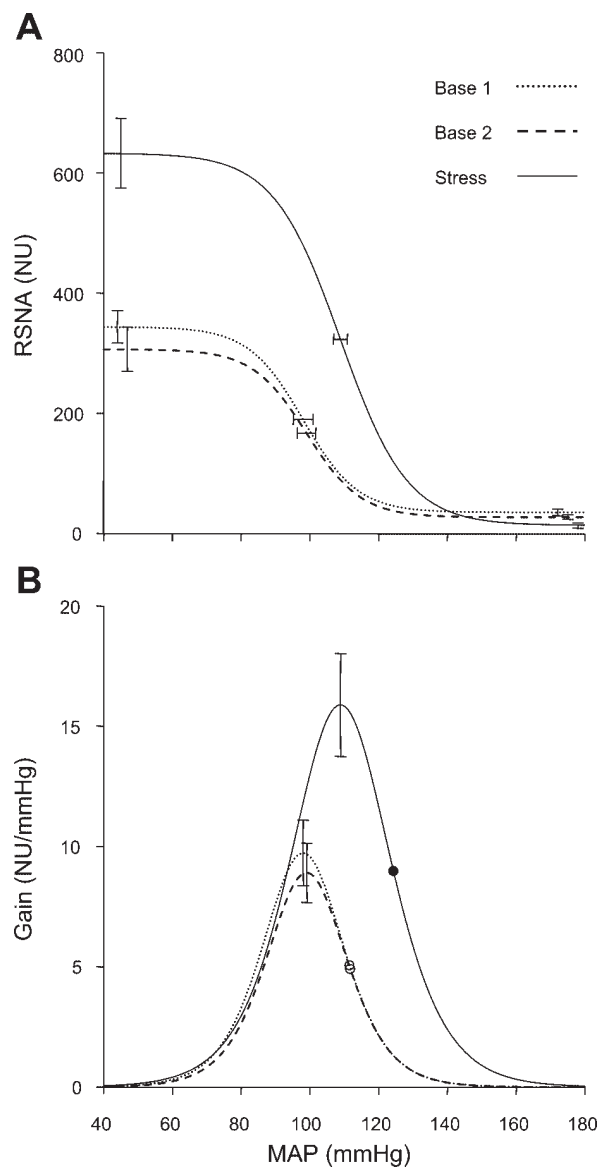


Fig. 5. Baroreflex relationships between MAP and RSNA determined under baseline conditions (*base 1* and *base 2*) and during air-jet stress. Group average ($n = 11$ rats) parameters were used to generate baroreflex function curves (A) and their first derivative (B). In B, white and black circles show the gain observed at the reference MAP value under baseline and stress conditions, respectively.

We did not analyze the effects of air-jet stress on AP variability. The reason is twofold. First, effects of air-jet stress on fast rhythms of AP have been thoroughly described in rats (2, 4, 12). Secondly, an increased sympathetic baroreflex gain is expected to attenuate low and very low frequency components of AP variability (5, 15). The experimental protocol used in the present study did not allow analysis of AP fluctuations with periods longer than 3–4 min. More importantly, the behavioral effects of air-jet stress eliminated the movement-related component of AP variability, which is a major source of slow AP perturbations in rats (10, 30). The latter effect of air-jet stress would thus have biased any comparison with AP variability observed under baseline conditions in freely behaving rats.

Perspectives

The present study provides the first demonstration that the sympathetic baroreceptor reflex is reset and sensitized during emotional stress. This result, taken together with previous reports in rats during exercise (23) and grooming (24), raises the possibility that the characteristics of the sympathetic baroreceptor reflex might vary spontaneously during daily life, e.g., with changes in behavioral and emotional states. A proper evaluation of this hypothesis would require developing a continuous index of sympathetic baroreflex sensitivity. Such indices are available for the cardiac component of the baroreceptor reflex, and it has indeed been shown recently that a spontaneous index of vagal baroreflex gain exhibits large, slow fluctuations in humans (9).

From a clinical perspective, it is worth noting that baseline baroreflex gain tended to be inversely related to the amplitude of the pressor response to stress. This observation needs to be confirmed in a larger series of animals, and could also be investigated in humans.

ACKNOWLEDGMENTS

Present address for V. Oréa: Unité Mixte de Recherche Centre National de la Recherche Scientifique 5123, Physiologie Intégrative, Cellulaire et Moléculaire, Université Claude Bernard Lyon 1, 8 rue Raphaël Dubois, 69622 Villeurbanne Cedex, France.

REFERENCES

1. Anderson EA, Sinkey CA, Mark AL. Mental stress increases sympathetic nerve activity during sustained baroreceptor stimulation in humans. *Hypertension* 17: III43–III49, 1991.
2. Barrès C, Cheng Y, Julien C. Steady-state and dynamic responses of renal sympathetic nerve activity to air jet stress in sinoaortic denervated rats. *Hypertension* 43: 629–635, 2004.
3. Bertram D, Barrès C, Julien C. Effect of desipramine on spontaneous arterial pressure oscillations in the rat. *Eur J Pharmacol* 378: 265–271, 1999.
4. Blanc J, Grichois ML, Vincent M, Elghozi JL. Spectral analysis of blood pressure and heart rate variability in response to stress from air-jet in the Lyon rat. *J Auton Pharmacol* 14: 37–48, 1994.
5. Chapuis B, Vidal-Petiot E, Oréa V, Barrès C, Julien C. Linear modelling analysis of baroreflex control of arterial pressure variability in rats. *J Physiol* 559: 639–649, 2004.
6. Chen HI, Chang KC. Assessment of threshold and saturation pressure in the baroreflex function curve: a new mathematical analysis. *Jpn J Physiol* 41: 861–877, 1991.
7. Cheng Y, Cohen B, Oréa V, Barrès C, Julien C. Baroreflex control of renal sympathetic nerve activity and spontaneous rhythms at Mayer wave's frequency in rats. *Auton Neurosci* 111: 80–88, 2004.
8. Coote JH, Hilton SM, Perez-Gonzalez JF. Inhibition of the baroreceptor reflex on stimulation in the brain stem defence centre. *J Physiol* 288: 549–560, 1979.
9. Eckberg DL, Kuusela TA. Human vagal baroreflex sensitivity fluctuates widely and rhythmically at very low frequencies. *J Physiol* 567: 1011–1019, 2005.
10. Ferrari AU, Franzelli C, Daffonchio A, Perlini S, Dirienzo M. Sympathovagal interplay in the control of overall blood pressure variability in unanesthetized rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 270: H2143–H2148, 1996.
11. Foley CM, Mueller PJ, Hasser EM, Heesch CM. Hindlimb unloading and female gender attenuate baroreflex-mediated sympathoexcitation. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 289: R1440–R1447, 2005.
12. Gaudet E, Blanc J, Elghozi JL. Role of angiotensin II and catecholamines in blood pressure variability responses to stress in SHR. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 270: R1265–R1272, 1996.
13. Hatton DC, Brooks V, Qi Y, McCarron DA. Cardiovascular response to stress: baroreflex resetting and hemodynamics. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 272: R1588–R1594, 1997.
14. Julien C, Cerutti C, Kandza P, Barrès C, Su D, Vincent M, Sassard J. Cardiovascular response to emotional stress and spontaneous blood pressure variability in genetically hypertensive rats of the Lyon strain. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 15: 533–538, 1988.
15. Julien C, Chapuis B, Cheng Y, Barrès C. Dynamic interactions between arterial pressure and sympathetic nerve activity: role of arterial baroreceptors. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 285: R834–R841, 2003.
16. Kapusta DR, Knardahl S, Koepke JP, Johnson AK, DiBona GF. Selective central α -2 adrenoceptor control of regional haemodynamic responses to air jet stress in conscious spontaneously hypertensive rats. *J Hypertens* 7: 189–194, 1989.
17. Lundin S, Ricksten SE, Thoren P. Interaction between “mental stress” and baroreceptor reflexes concerning effects on heart rate, mean arterial pressure and renal sympathetic activity in conscious spontaneously hypertensive rats. *Acta Physiol Scand* 120: 273–281, 1984.
18. Mancia G, Parati G, Castiglioni P, Tordi R, Tortorici E, Glavina F, Di Rienzo M. Daily life blood pressure changes are steeper in hypertensive than in normotensive subjects. *Hypertension* 42: 277–282, 2003.
19. McDowall LM, Dampney RA. Calculation of the threshold and saturation points of sigmoidal baroreflex function curves. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 291: H2003–H2007, 2006.
20. McDowall LM, Horiuchi J, Killinger S, Dampney RA. Modulation of the baroreceptor reflex by the dorsomedial hypothalamic nucleus and perifornical area. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 290: R1020–R1026, 2006.
21. Miao CY, Xie HH, Zhan LS, Su DF. Blood pressure variability is more important than blood pressure level in determination of end-organ damage in rats. *J Hypertens* 24: 1137–1146, 2006.
22. Mifflin SW, Spyer KM, Withington-Wray DJ. Baroreceptor inputs to the nucleus tractus solitarius in the cat: modulation by the hypothalamus. *J Physiol* 399: 369–387, 1988.
23. Miki K, Yoshimoto M, Tanimizu M. Acute shifts of baroreflex control of renal sympathetic nerve activity induced by treadmill exercise in rats. *J Physiol* 548: 313–322, 2003.
24. Nagura S, Sakagami T, Kakiuchi A, Yoshimoto M, Miki K. Acute shifts in baroreflex control of renal sympathetic nerve activity induced by REM sleep and grooming in rats. *J Physiol* 558: 975–983, 2004.
25. Parati G, Valentini M. Prognostic relevance of blood pressure variability. *Hypertension* 47: 137–138, 2006.
26. Schadt JC, Hasser EM. Hemodynamic effects of acute stressors in the conscious rabbit. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 274: R814–R821, 1998.
27. Schadt JC, Hasser EM. Defense reaction alters the response to blood loss in the conscious rabbit. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 280: R985–R993, 2001.
28. Toon S, Rowland M. Structure-pharmacokinetic relationships among the barbiturates in the rat. *J Pharmacol Exp Ther* 225: 752–763, 1983.
29. Zhang ZQ, Julien C, Barrès C. Baroreceptor modulation of regional haemodynamic responses to acute stress in rat. *J Auton Nerv Syst* 60: 23–30, 1996.
30. Zhang ZQ, Julien C, Gustin MP, Cerutti C, Barrès C. Hemodynamic analysis of arterial pressure lability in sympathectomized rat. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 267: H48–H56, 1994.

CHAPITRE - V

INFLUENCE DE LA FRÉQUENCE CARDIAQUE SUR LA FONCTION DE TRANSFERT RELIANT LA PRESSION ARTÉRIELLE ET L'ACTIVITÉ NERVEUSE SYMPATHIQUE RÉNALE CHEZ LE RAT

Article : Transfer function analysis between arterial pressure and renal sympathetic nerve activity at cardiac pacing frequencies in the rat.

Oréa V, Kanbar R, Chapuis B, Barrès C, Julien C.

J Appl Physiol 102: 1034-1040, 2007.

A la fréquence cardiaque, l'ANS rénale présente une forte rythmicité d'origine baroréflexe (*Kunitake & Kannan 2000 ; Petiot et al. 2001*). A cette fréquence (5-8 Hz chez le rat), le système baroréflexe peut être considéré comme fonctionnant en boucle ouverte puisque les fluctuations de l'ANS n'induisent pas de fluctuations synchrones de PA, du fait des propriétés de filtre passe-bas de l'arbre vasculaire (*Julien et al. 2001*). A partir de ces observations, il est donc légitime de postuler que l'amplitude des oscillations de l'ANS rénale à la fréquence cardiaque peut dépendre de la pulsativité cardiaque et de la sensibilité du baroréflexe sympathique. En conséquence, à cette fréquence particulière, l'analyse de l'amplitude des fluctuations spontanées de PA et d'ANS devrait permettre d'obtenir un index spontané de la sensibilité du baroréflexe sympathique. La détermination de cet index repose donc sur le calcul du gain de la fonction de transfert entre la PA et l'ANS à la fréquence cardiaque.

Cependant, une étude antérieure a suggéré que, au voisinage de la fréquence cardiaque, la fréquence avec laquelle le système baroréflexe est sollicité (fréquence des fluctuations du signal d'entrée, la PA) peut influencer l'amplitude des réponses baroréflexes (signal de sortie, ANS) (*Petiot et al. 2001*). Une première étape indispensable consiste donc à préciser l'influence du rythme cardiaque sur le gain de la fonction de transfert entre la PA et l'ANS.

Chez des rats adultes anesthésiés par l'uréthane, la PA et l'ANS rénale sont enregistrées simultanément dans les conditions de base et pendant l'entraînement du cœur par des stimulations électriques à des fréquences comprises entre 6 et 9 Hz, avec un incrément de 0,25

Hz. La fonction de transfert (gain et phase) et la fonction de cohérence entre la PA et l'ANS rénale ont été calculées pour chaque fréquence de stimulation, sur des périodes de 61,4 s segmentées en 11 périodes de 10,24 s se recouvrant par moitié.

Les résultats montrent que la cohérence entre la PA et l'ANS rénale à la fréquence cardiaque (spontanée ou imposée) est élevée. Le gain de la fonction de transfert n'est pas influencé par la fréquence cardiaque entre 6 et 9 Hz. En revanche, la phase diminue progressivement et linéairement en fonction de la fréquence, mettant ainsi en évidence un délai fixe entre la PA et l'ANS rénale de 97 ± 6 ms ($n = 7$).

En conclusion, dans une bande de fréquences comprise entre 6 et 9 Hz chez le rat, les propriétés dynamiques du baroréflexe artériel n'affectent pas le gain de la fonction de transfert entre la PA et l'ANS rénale.

Transfer function analysis between arterial pressure and renal sympathetic nerve activity at cardiac pacing frequencies in the rat

Valérie Oréa, Roy Kanbar, Bruno Chapuis, Christian Barrès, and Claude Julien

Université de Lyon, F-69008, France; Université Lyon 1, Lyon, F-69008, France, ISPB, Département de Physiologie et Pharmacologie Clinique

Submitted 22 September 2006; accepted in final form 21 November 2006

Oréa V, Kanbar R, Chapuis B, Barrès C, Julien C. Transfer function analysis between arterial pressure and renal sympathetic nerve activity at cardiac pacing frequencies in the rat. *J Appl Physiol* 102: 1034–1040, 2007. First published November 22, 2006; doi:10.1152/jappphysiol.01064.2006.—This study examined the possible influence of changes in heart rate (HR) on the gain of the transfer function relating renal sympathetic nerve activity (RSNA) to arterial pressure (AP) at HR frequency in rats. In seven urethane-anesthetized rats, AP and RSNA were recorded under baseline conditions (spontaneous HR = 338 ± 6 beats/min, i.e., 5.6 ± 0.1 Hz) and during 70-s periods of cardiac pacing at 6–9 Hz applied in random order. Cardiac pacing slightly increased mean AP (0.8 ± 0.2 mmHg/Hz) and decreased pulse pressure (-3.6 ± 0.3 mmHg/Hz) while leaving the mean level of RSNA essentially unaltered ($P = 0.680$, repeated-measures ANOVA). The gain of the transfer function from AP to RSNA measured at HR frequency was always associated with a strong, significant coherence and was stable between 6 and 9 Hz ($P = 0.185$). The transfer function gain measured under baseline conditions [2.44 ± 0.28 normalized units (NU)/mmHg] did not differ from that measured during cardiac pacing (2.46 ± 0.27 NU/mmHg). On the contrary, phase decreased linearly as a function of HR, which indicated the presence of a fixed time delay (97 ± 6 ms) between AP and RSNA. In conclusion, the dynamic properties of arterial baroreflex pathways do not affect the gain of the transfer function between AP and RSNA measured at HR frequency in the upper part of the physiological range of HR variations in the rat.

baroreceptor reflex; cardiac related; pulse synchronous; sympathetic nervous system

THE MOST PROMINENT RHYTHM in sympathetic nerve activity is the cardiac-related rhythm (17, 22). It is still not clear whether cardiac-related bursts of sympathetic nerve activity (SNA) result from entrainment of centrally generated bursts or from periodic inhibition of a randomly generated activity by pulse-synchronous baroreceptor activity (18). The latter hypothesis is usually favored in the case of renal SNA (RSNA) in rats, because it has been shown in this species that the cardiac-related rhythm is abolished and RSNA is fully desynchronized in the high-frequency range (4–20 Hz) acutely (23) and chronically (14) after sinoaortic baroreceptor denervation. Furthermore, clear oscillations of RSNA can be evoked in urethane-anesthetized, sinoaortic-denervated rats by application of sinusoidal stimulation to the aortic depressor nerve at frequencies close to spontaneous heart rate (HR) (23). In the latter study, the amplitude of RSNA oscillations showed a strong but complex dependence on the frequency of aortic nerve stimulation, especially in the vicinity of the heartbeat frequency and

of its first harmonic, i.e., between 6 and 12 Hz. The main limitation of this study, however, is that the experimental model excluded the arterial baroreceptors themselves, insofar as aortic afferents were directly stimulated, while it is known that rat aortic baroreceptors show dynamic properties that might be important at frequencies >1 Hz (5).

The amplitude of the cardiac-related oscillation of RSNA depends on the size of the triggering signal, i.e., the arterial pressure (AP) pulse (11), and on the gain of the transfer function relating RSNA to AP at the frequency of the heartbeat (4). Because of the low-pass filter characteristics of the AP response to RSNA (6, 26), the peripheral path of the baroreflex negative-feedback loop is virtually opened at the frequency of the heartbeat. This might justify the calculation of the open-loop transfer function gain under baroreflex closed-loop conditions and, hence, the use of this gain as an index of the sympathetic baroreflex sensitivity. However, because of the spontaneous lability of HR in the conscious rat (16, 24), a prerequisite step in the assessment of the validity of this index is the evaluation of the influence of HR variations on the AP-RSNA transfer gain.

The aim of the present study was, therefore, to determine the effect of controlled, stable changes in HR induced by cardiac pacing on the gain of the AP-RSNA transfer function in the rat. The study was carried out in anesthetized rats to avoid the possible confounding influence of changes in sympathetic baroreflex sensitivity associated with changes in behavioral and emotional states (10, 21). Rats were anesthetized with urethane, which has been shown to exert little effect on the baroreflex control of RSNA (27).

METHODS

Animals and surgery. Male Sprague-Dawley rats (Charles River Laboratories, L'Arbresle, France) weighing 330–360 g (10–11 wk of age) were used. All experiments were performed in accordance with the guidelines of the French Ministry of Agriculture for animal experimentation and were approved by the local Animal Ethics Committee.

Under isoflurane anesthesia (2% in oxygen), one polyethylene catheter was inserted into the abdominal aorta via the left femoral artery for AP measurement, and two catheters (a heat-stretched section of PE-10 tubing fused to a PE-50 extension) were inserted into the inferior vena cava via the ipsilateral femoral vein for the administration of drugs (4). The rat then received an intravenous injection of urethane (1.5 g/kg, supplemented with 0.1 g/kg iv as needed) and was placed on a heating blanket to maintain rectal temperature at 37°C. A unipolar platinum catheter electrode was advanced into the right

Address for reprint requests and other correspondence: C. Julien, Faculté de Pharmacie, 8, Ave. Rockefeller, 69373 Lyon Cedex 08, France (e-mail: julien@univ-lyon1.fr).

The costs of publication of this article were defrayed in part by the payment of page charges. The article must therefore be hereby marked "advertisement" in accordance with 18 U.S.C. Section 1734 solely to indicate this fact.

internal jugular vein until an efficient pacing of the heart could be obtained (see below). Through a laparotomy, a branch of the left renal sympathetic nerve was dissected free, placed on a bipolar platinum-iridium electrode, and insulated with silicone gel (catalog nos. 604A and 604B, Wacker-Chemie, Munich, Germany) for RSNA recording (23). Throughout the experiment, the rat was ventilated through a tracheal cannula (7–8 ml/kg at 72 cycles/min) with ~80% oxygen-20% room air.

Data acquisition and experimental protocol. For measurement of AP, the arterial catheter was connected to a precalibrated pressure transducer (model TNF-R, Ohmeda, Bithoven, The Netherlands) coupled to an amplifier (model 13-4615-52, Gould, Cleveland, OH). RSNA was amplified ($\times 50,000$) and band-pass filtered (300–3,000 Hz; model P-511J, Grass, Quincy, MA). All signals were digitized using a computer equipped with an analog-to-digital converter (model AT-MIO-16, National Instruments, Austin, TX) and LabVIEW 5.1 software (National Instruments). The AP signal was sampled at 500 Hz. The RSNA signal was sampled 1) at 10,000 Hz without analog preprocessing and 2) at 5,000 Hz after full-wave rectification and low-pass filtering (150-Hz cut-off frequency).

For pacing the heart, 2-ms impulses were delivered by the computer through the analog output of the converter board at a fixed voltage intensity (1.10 ± 0.15 V in the 7 rats of the study). The stimulation signal was sampled at 10,000 Hz. To avoid contamination of RSNA by an artifact due to the stimulation, all signals generated or recorded by the computer passed through an isolation device [models SCM5B49 (for stimulation) and 5B41 (for data acquisition), National Instruments]. HR was varied according to a randomly chosen sequence of values ranging from 6 to 9 Hz (360–540 beats/min) with an increment of 0.25 Hz (15 beats/min). Pacing trials lasted 70 s and were separated by ≥ 70 s of recovery.

For verification that the baroreflex control of RSNA was preserved under the particular experimental conditions of the study, AP-RSNA baroreflex function curves were constructed using the pharmacological method (8, 10). Briefly, AP was first decreased with a bolus injection of sodium nitroprusside (100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ iv) and then increased with an infusion of phenylephrine (50 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ iv for ~60 s).

At the end of the recording session, the long-acting ganglionic blocker chlorisondamine was administered (2.5 mg/kg iv), and the heart was paced at 7 Hz to verify the absence of contamination of the RSNA signal by the stimulus (Fig. 1). On completion of the experiment, the rat was euthanized with an intravenous overdose of pentobarbital sodium.

Data analysis. The background noise of RSNA (residual activity after chlorisondamine administration) was subtracted from the rectified RSNA signal, which was then resampled at 50 Hz by calculation of average values over 100 consecutive points. Under baseline and pacing conditions, 62-s periods were selected for further analysis, which consisted of 1) beat-to-beat calculation of mean values of systolic AP, diastolic AP, mean AP, pulse pressure, and HR, and 2) calculation of coherence and transfer functions. In the latter case, each 62-s period was split into 11 data segments of 512 points (10.24 s) overlapping by half. The frequency resolution was 0.0976 Hz, which is sufficient to discriminate between cardiac pacing frequencies. Cross-spectral techniques using a fast Fourier transform algorithm were used to calculate coherence, gain, and phase between AP (input signal, resampled at 50 Hz) and RSNA (output signal) at HR frequency. The significance threshold ($P < 0.001$) for coherence was 0.627 (2). Gain values were normalized by the mean RSNA value calculated over baseline periods and are therefore expressed in normalized units (NU) per millimeter Hg.

The RSNA-AP baroreflex relation was assessed as previously described (8, 10). AP and RSNA time series were resampled at 1 Hz by an averaging procedure, and a four-parameter sigmoid function was fitted to AP-RSNA data pairs collected from the maximum nitroprusside-induced fall in AP to the maximum phenylephrine-induced rise in AP by an iterative least-squares procedure (SigmaPlot

2000, SPSS, Chicago, IL). The maximum gain was estimated as the slope of the tangent at the inflection point of the sigmoid curve.

Statistics. Values are means \pm SE. One-way ANOVA for repeated measures was used to evaluate the stability of baseline values over time, as well as the effect of cardiac pacing frequency. Paired comparisons (pacing vs. baseline) were performed using the Wilcoxon signed rank test. $P < 0.05$ was taken to indicate statistical significance.

RESULTS

Baseline values of cardiovascular variables. Spontaneous AP and HR showed very little variability over time (Table 1). RSNA displayed slightly larger variations, but these fluctuations were not reproducible among animals. Only pulse pressure exhibited reproducible, albeit small, fluctuations, as revealed by repeated-measures ANOVA (Table 1). Baseline coherence values computed between AP and RSNA at spontaneous HR were high (0.957 ± 0.007) and varied little over time [variation coefficient (VC) = $1.66 \pm 0.31\%$] without a systematic trend between rats ($P = 0.520$), which demonstrates a strong, reproducible coupling between fluctuations of both variables at this frequency (5.6 ± 0.1 Hz). The gain of the transfer function relating AP and RSNA at spontaneous HR was 2.44 ± 0.28 NU/mmHg. It was relatively stable over time (VC = $8.98 \pm 1.02\%$) and did not show consistent fluctuations among animals ($P = 0.806$). The phase of the transfer function computed at the same frequency was $-33 \pm 10^\circ$. It tended to fluctuate over time (VC = $17.6 \pm 5.7\%$), but these fluctuations were not reproducible between rats ($P = 0.376$).

Effect of cardiac pacing on cardiovascular variables. Cardiac pacing efficiently set HR at the desired frequency, as illustrated by Fig. 1 and demonstrated by the linear regression analysis performed between the frequency of impulses delivered by the computer and the actual HR measured beat-to-beat over the 62-s periods used for analysis ($R^2 = 1$, HR = impulse frequency + 0.0007 Hz).

Cardiac pacing slightly but significantly ($P = 0.0014$) increased mean AP, and this effect was mainly due to an increase ($P < 0.0001$) in diastolic AP (Fig. 2A). The group-average slope of the linear regression line relating mean AP to HR was 0.8 ± 0.2 mmHg/Hz. Cardiac pacing decreased the pulse pressure ($P < 0.0001$, slope = -3.6 ± 0.3 mmHg/Hz; Fig. 2B) while leaving the RSNA level essentially unaltered ($P = 0.680$; Fig. 2C).

Coherence between AP and RSNA was not affected by cardiac pacing ($P = 0.149$) and remained high (0.959 ± 0.006) across the HR range of 6–9 Hz (Fig. 3A). The transfer gain was also unaffected by changing HR ($P = 0.185$; Fig. 3B), and its mean value was 2.46 ± 0.27 NU/mmHg, which does not differ significantly ($P = 0.800$) from the baseline value. By contrast, phase decreased as a function of frequency ($P < 0.0001$; Fig. 3C). In most cases, this tendency was linear at frequencies ≥ 6.75 Hz ($R^2 = 0.981 \pm 0.005$, $n = 10 \pm 1$ data points), which indicates the presence of a fixed time delay (97 ± 6 ms) between AP and RSNA.

Baroreflex control of RSNA. The RSNA response to drug-induced changes in AP could satisfactorily be fitted by a four-parameter sigmoid function ($R^2 = 0.972 \pm 0.006$; Fig. 4A). The maximum gain reached 5.7 ± 0.2 NU/mmHg (Fig. 4B). Resting mean AP lay close to mean AP at the midrange of the curve (Fig. 4B), so that the operational gain (5.0 ± 0.5 NU/mmHg) was close to the maximum gain.

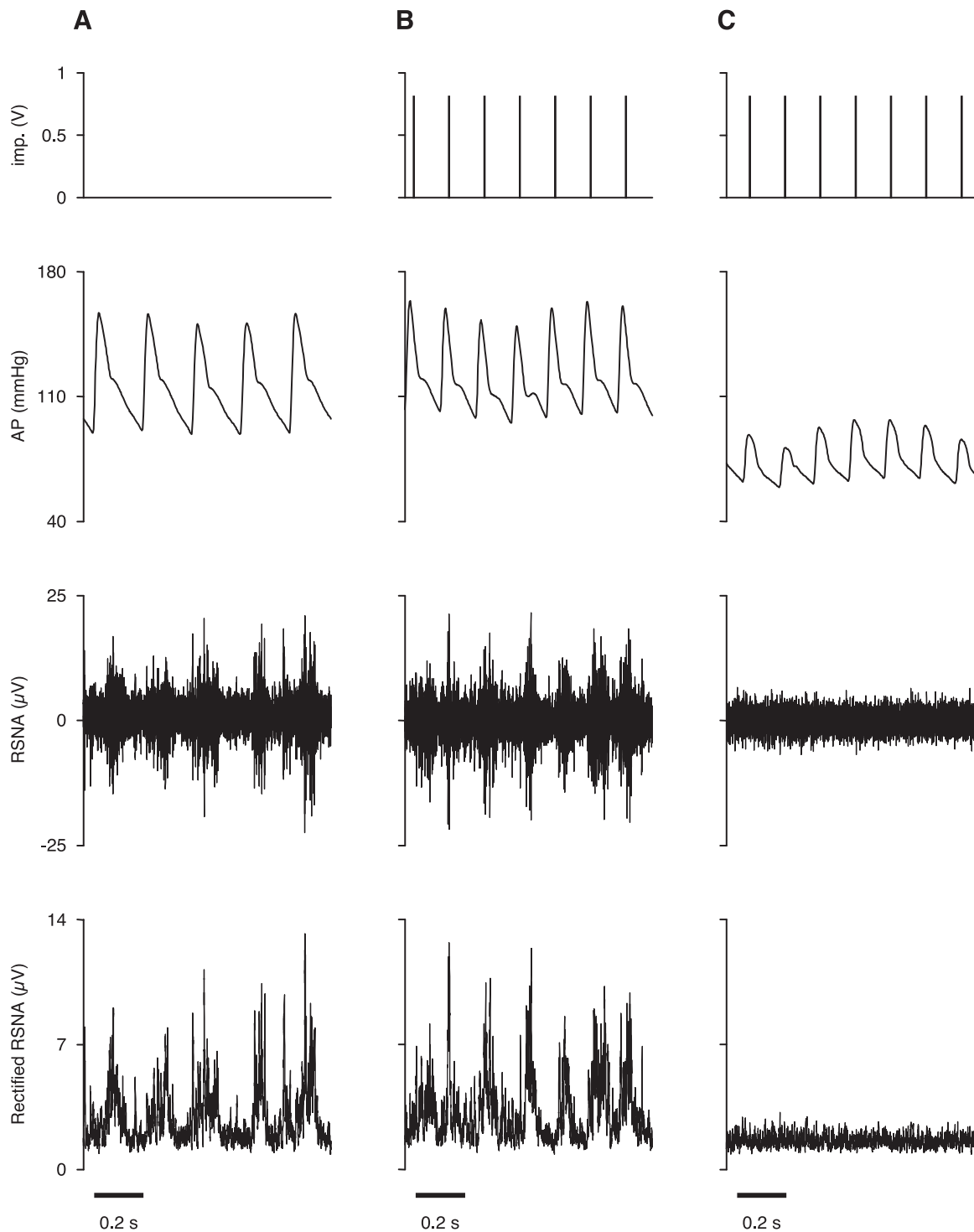


Fig. 1. Original 1-s recordings of impulses (imp) delivered to the heart through a jugular electrode, arterial pressure (AP), and renal sympathetic nerve activity (RSNA) in 1 conscious rat. Data were collected under baseline conditions (A) and during cardiac pacing at 7 Hz, before (B) and after (C) ganglionic blockade achieved with chlorisondamine administration. Note cardiac-related bursts of RSNA at spontaneous and paced heart rate. Note also disappearance of these bursts after ganglionic blockade, demonstrating the absence of contamination of the RSNA signal by the electrical stimulus.

DISCUSSION

The main finding of the present study is that the gain of the transfer function relating RSNA to AP at the frequency of the heartbeat is almost constant from 5.6 to 9 Hz. The practical implication of this finding is that, in this frequency range, HR

fluctuations do not confound the interpretation of the transfer gain, especially if it is intended to serve as an index of sympathetic baroreflex sensitivity.

Methodological aspects. Cardiac pacing with a jugular electrode catheter very quickly and efficiently set HR at the desired

Table 1. Baseline cardiovascular values

	Mean	Variation Coeff, %	P
AP, mmHg			
Systolic	143.0±3.7	0.94±0.17	0.6261
Diastolic	83.5±2.1	1.09±0.22	0.9634
Mean	107.9±2.5	0.91±0.18	0.8814
Pulse pressure, mmHg	59.5±2.0	1.41±0.17	0.0117
HR, beats/min	338±6	1.29±0.25	0.7665
RSNA, NU	100	4.49±0.80	0.9104

Values are means ± SE ($n = 7$ rats). AP, arterial pressure; HR, heart rate; RSNA, renal sympathetic nerve activity; NU, normalized units. Variation coefficient quantifies variations over time of baseline values ($n = 13$ in each rat). Statistical significance (P) of these variations was determined by 1-way repeated-measures ANOVA.

frequency, and the return of HR to its spontaneous level was almost immediate after the cessation of stimulation. However, pacing the heart at frequencies below spontaneous HR invariably resulted in the appearance of ectopic beats, and thus, in most animals, the AP-RSNA transfer function could not be studied at frequencies below 5.6 Hz. We are not aware of a simple method to address this question, because decreasing HR by any pharmacological (e.g., β -adrenoceptor blockade and cholinergic muscarinic stimulation) or nonpharmacological (e.g., hypothermia and electrical vagal stimulation) means would also potentially alter RSNA and its baroreflex control, either directly or indirectly, through changes in AP (12, 25). With use of the present method, HR could be increased up to 9 Hz without evoking significant change in the mean RSNA level. This observation would be consistent with the recent finding that the mean discharge of aortic and carotid sinus baroreceptors of anesthetized rabbits changes very little in the presence of substantial changes in HR (3). However, pacing-induced tachycardia was accompanied by hemodynamic changes. The progressive increase in mean AP, although of modest amplitude, would be expected to induce a reflex decrease in the RSNA level, which was not observed. On the other hand, there was an HR-dependent reduction of the pulse pressure during cardiac pacing. It is possible that this decrease in the pulse pressure might have affected the amplitude of the systolic-diastolic variations in aortic and carotid artery diameters, such that it would have compensated for the effect of the slight increase in mean AP. Changes in the deformation of baroreceptive areas have indeed been shown to occur and engage the baroreceptor reflex, even in the absence of noticeable changes in AP, e.g., during nonhypotensive hypovolemia (15, 29).

An important observation was that the rhythmic bursting of RSNA at HR frequency was not an artifact of the electrical stimulus delivered through the jugular electrode, because it was absent after ganglionic blockade. A strong indication that cardiac-related oscillations of RSNA were of baroreflex origin derives from the analysis of the phase function between AP and RSNA during cardiac pacing. The time delay that was estimated from the linear fitting of these phase values (~ 97 ms) was very close to the time delay (~ 101 ms) calculated when a three-element model was applied to the phase of the transfer function relating RSNA to aortic depressor nerve stimulation in the 0.03- to 20-Hz frequency range (23). This observation is consistent with the previous report that arterial baroreceptors respond with a negligible time delay to AP changes (7).

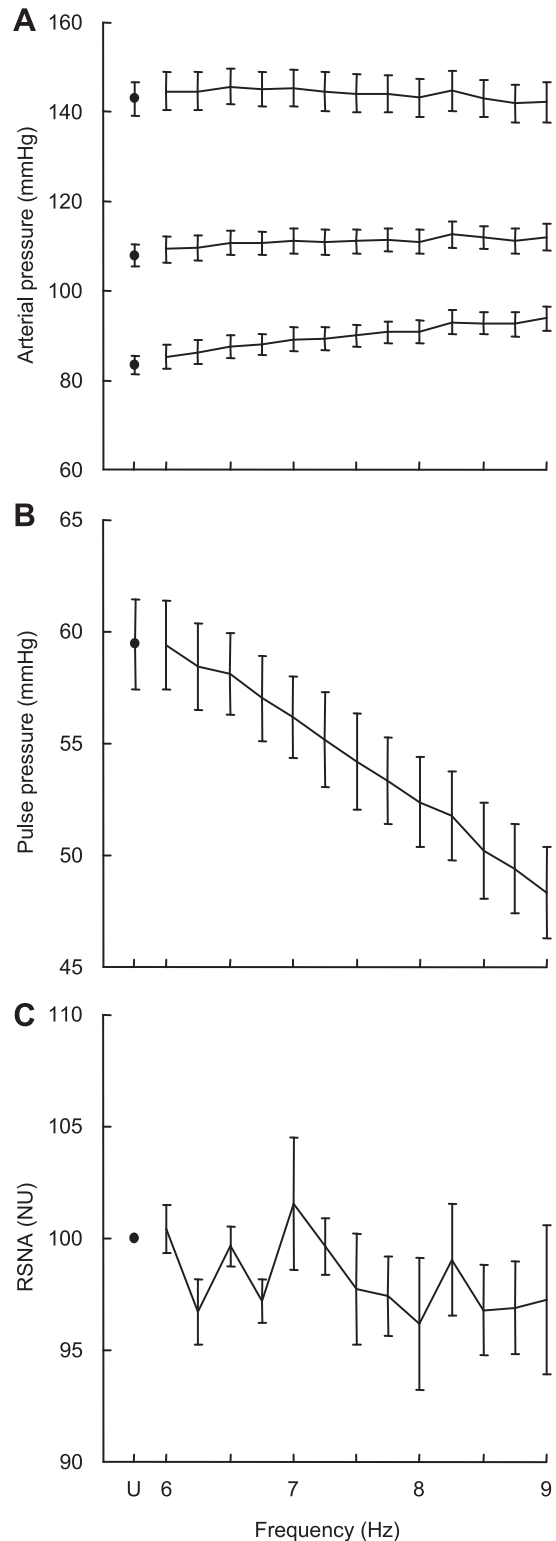


Fig. 2. Effect of cardiac pacing at frequencies ranging from 6 to 9 Hz on systolic, mean, and diastolic AP (A), pulse pressure (B), and RSNA (C) in 7 conscious rats. ●, Spontaneous unpaced (U) values. RSNA data were normalized [normalized units (NU)] by the mean RSNA value calculated over baseline periods. Values are means ± SE.

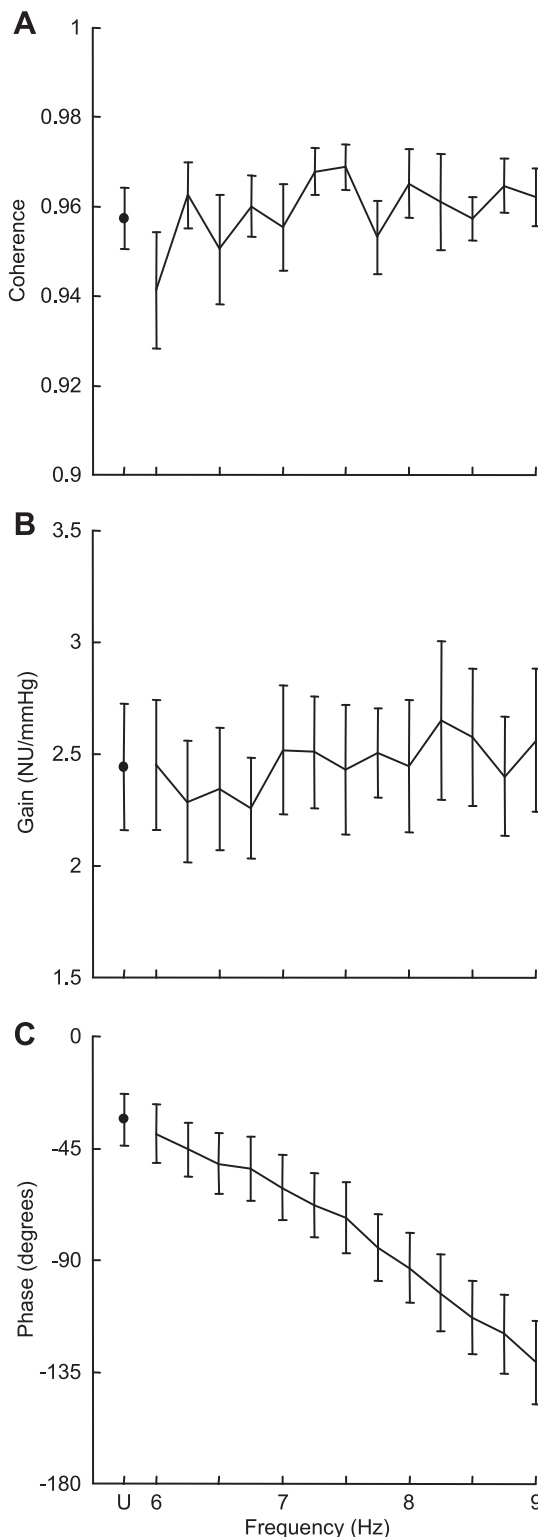


Fig. 3. Effect of cardiac pacing at frequencies ranging from 6 to 9 Hz on coherence (A), transfer gain (B), and phase (C) computed between AP and RSNA at the frequency of the heartbeat in 7 conscious rats. ●, Spontaneous unpaced (U) values. Transfer gain was normalized by the mean RSNA value calculated over baseline periods. Values are means \pm SE.

Effect of cardiac pacing on the transfer function. A study performed on anesthetized rabbits has suggested that the amplitude of the cardiac-related oscillation of RSNA might be inversely related to HR (28). However, this conclusion was based on selective observations made after administration of a single dose of propranolol and isoprenaline to a single rabbit. A detailed analysis of the transfer function of the neural limb of the baroreceptor reflex (from carotid sinus pressure to left cardiac SNA) has been carried out in anesthetized rabbits (13). In this study, it was reported that the transfer gain increased up to 0.8 Hz and then declined beyond this frequency. However, coherence approached zero at frequencies >3 Hz, and thus the transfer function could not be studied in the frequency range encompassing spontaneous HR in conscious rabbits (3–5 Hz). In anesthetized rats, the transfer function from carotid sinus pressure to RSNA has been described from 0.01 to 1 Hz (26).

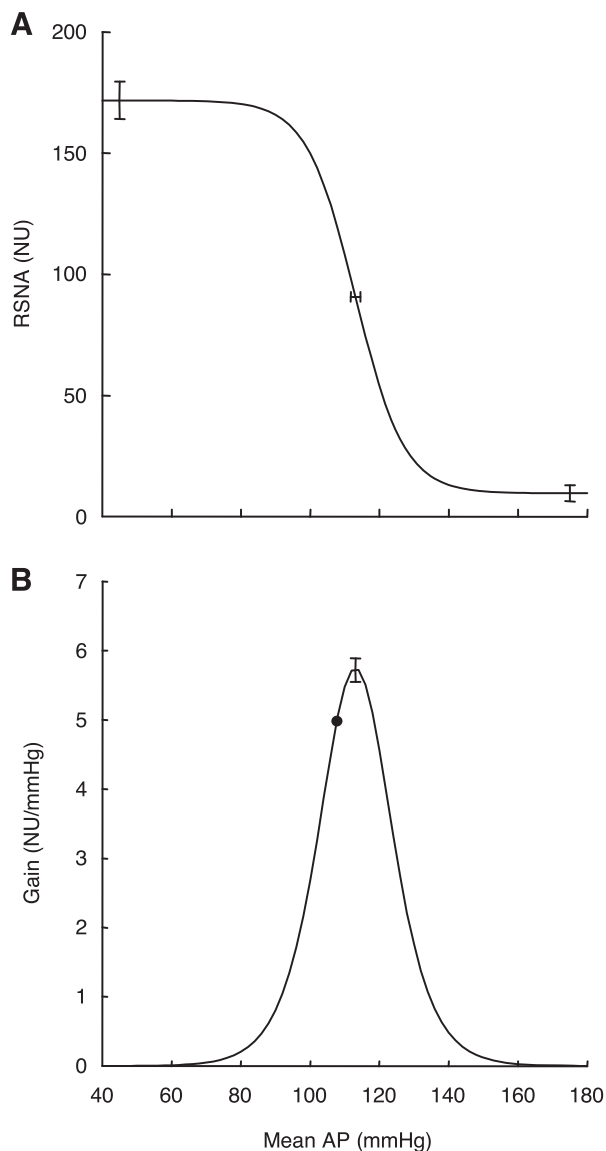


Fig. 4. Baroreflex relation between mean AP and RSNA determined during sequential injections of sodium nitroprusside and phenylephrine. Group average ($n = 7$) parameters were used to generate baroreflex function curves (A) and their first derivative (B). ●, Gain observed at reference mean AP.

In the latter study, the transfer gain increased up to 0.8 Hz. As far as we know, the behavior of the transfer function relating SNA to baroreceptor pressure has not been described at frequencies >1 Hz in rats. This transfer function combines the properties of the transfer function from baroreceptor pressure to baroreceptor afferent nerve activity and those of the transfer function from afferent nerve activity to efferent SNA. The latter has been described by studying the effect of rhythmic electrical stimulation of the aortic depressor nerve on RSNA in anesthetized rats (23). The study has revealed that central nervous pathways of the baroreceptor reflex show derivative properties that result in amplification and acceleration of RSNA responses in the 0.03- to 1-Hz frequency range. At higher frequencies, low-pass filter properties become predominant, so that the transfer gain declines regularly with a slope of -20 dB/decade, which is the hallmark of a first-order low-pass filter or the combination of a derivative gain and a second-order low-pass filter. However, this decrease in gain is interrupted between 6 and 12 Hz, so that the gain function shows a local maximum near 10 Hz. This phenomenon might be related to the properties of brain stem neuronal networks responsible for the generation of SNA, as described by Barman et al. (1) in anesthetized cats. In summary, it is difficult to predict from the existing data in the literature the shape of the gain function of the neural limb of the baroreceptor reflex in the frequency range encompassing spontaneous HR in the rat. By using an isolated rat aortic arch preparation, Brown et al. (5) were able to study the gain of the transfer function relating baroreceptor discharge to baroreceptor pressure from 0.1 to 20 Hz. The transfer gain increased from 1 to 10 Hz for myelinated baroreceptor fibers, whereas it decreased monotonically from 0.1 Hz for unmyelinated fibers. In the present study, the transfer gain was relatively stable between 5.6 and 9 Hz, which was unexpected if one considers the particular properties of the central transfer function mentioned above. A tentative explanation would be that the low-pass filter properties of arterial baroreceptors cancelled the amplification of the gain provided by central nervous structures at these frequencies. This hypothesis would be consistent with reports of the predominance of unmyelinated over myelinated axons in the carotid sinus (19) and aortic depressor (9) nerves of the rat ($\geq 4:1$ axon ratio). Another observation supports this hypothesis. In the aortic nerve stimulation experiments (23), the transfer gain in the 6- to 9-Hz frequency range was near or slightly above the static gain, i.e., the gain measured at the lowest stimulation frequency (0.03 Hz). In the present study, the transfer gain in the same frequency range was about one-half of the static gain measured by the pharmacological method, pointing to a significant attenuation of RSNA responses.

The influence of nonlinearities in baroreflex relations might also be considered. For example, an increase in pulse pressure is supposed to decrease the transfer gain due to the saturation effect, and vice versa (11). However, the importance of this effect depends on the location of resting AP on the baroreflex function curve. In the present study, resting AP was close to the midpoint of the curve (Fig. 4). It is thus unlikely that changes in the pulse pressure would have markedly affected the transfer gain.

Limitations of the study. As mentioned above, the pacing technique used in this study did not allow assessment of the transfer function at low HR values (<330 beats/min). This

might appear as a serious limitation of the study, because the HR of a conscious, quiet rat frequently falls below 330 beats/min, especially when it is measured using a radiotelemetry system (16). However, it must be recalled that the HR of a rat equipped with a renal electrode rarely shows such slow values, even when recordings are performed several days after surgery (20). Therefore, the limitations of the present study will grossly coincide with those of the techniques available for direct recording of RSNA in conscious rats.

Conclusions and perspectives. The present study indicates that HR does not affect the gain of the AP-RSNA transfer function at HR frequency in the upper part of the physiological range of HR variations in the anesthetized rat. It remains to be determined whether the transfer gain is insensitive to spontaneous HR fluctuations under physiological conditions, i.e., in the conscious, freely behaving rat.

ACKNOWLEDGMENTS

Present address of V. Oréa: Unité Mixte de Recherche Centre National de la Recherche Scientifique 5123, Physiologie Intégrative, Cellulaire et Moléculaire, Université Claude Bernard Lyon 1, 8 rue Raphaël Dubois, 69622 Villeurbanne Cedex, France.

REFERENCES

1. Barman SM, Orer HS, Gebber GL. A 10-Hz rhythm reflects the organization of a brainstem network that specifically governs sympathetic nerve discharge. *Brain Res* 671: 345–350, 1995.
2. Barrès C, Cheng Y, Julien C. Steady-state and dynamic responses of renal sympathetic nerve activity to air jet stress in sinoaortic denervated rats. *Hypertension* 43: 629–635, 2004.
3. Barrett CJ, Bolter CP. The influence of heart rate on baroreceptor fibre activity in the carotid sinus and aortic depressor nerves of the rabbit. *Exp Physiol* 91: 845–852, 2006.
4. Bertram D, Oréa V, Chapuis B, Barrès C, Julien C. Differential responses of frequency components of renal sympathetic nerve activity to arterial pressure changes in conscious rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 289: R1074–R1082, 2005.
5. Brown AM, Saum WR, Yasui S. Baroreceptor dynamics and their relationship to afferent fiber type and hypertension. *Circ Res* 42: 694–702, 1978.
6. Chapuis B, Vidal-Petiot E, Oréa V, Barrès C, Julien C. Linear modelling analysis of baroreflex control of arterial pressure variability in rats. *J Physiol* 559: 639–649, 2004.
7. Charlton JD, Baertschi AJ. Responses of aortic baroreceptors to changes of aortic blood flow and pressure in rat. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 242: H520–H525, 1982.
8. Cheng Y, Cohen B, Oréa V, Barrès C, Julien C. Baroreflex control of renal sympathetic nerve activity and spontaneous rhythms at Mayer wave's frequency in rats. *Auton Neurosci* 111: 80–88, 2004.
9. Fazan VP, Salgado HC, Barreira AA. A descriptive and quantitative light and electron microscopy study of the aortic depressor nerve in normotensive rats. *Hypertension* 30: 693–698, 1997.
10. Kanbar R, Oréa V, Barrès C, Julien C. Baroreflex control of renal sympathetic nerve activity during air-jet stress in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 292: R362–R367, 2007.
11. Kawada T, Uemura K, Kashiwara K, Kamiya A, Sugimachi M, Sunagawa K. A derivative-sigmoidal model reproduces operating point-dependent baroreflex neural arc transfer characteristics. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 286: H2272–H2279, 2004.
12. Kawada T, Yamazaki T, Akiyama T, Li M, Ariumi H, Mori H, Sunagawa K, Sugimachi M. Vagal stimulation suppresses ischemia-induced myocardial interstitial norepinephrine release. *Life Sci* 78: 882–887, 2006.
13. Kawada T, Zheng C, Yanagiya Y, Uemura K, Miyamoto T, Inagaki M, Shishido T, Sugimachi M, Sunagawa K. High-cut characteristics of the baroreflex neural arc preserve baroreflex gain against pulsatile pressure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 282: H1149–H1156, 2002.
14. Kunitake T, Kannan H. Discharge pattern of renal sympathetic nerve activity in the conscious rat: spectral analysis of integrated activity. *J Neurophysiol* 84: 2859–2867, 2000.

15. **Lacolley PJ, Pannier BM, Slama MA, Cuche JL, Hoeks AP, Laurent S, London GM, Safar ME.** Carotid arterial haemodynamics after mild degrees of lower-body negative pressure in man. *Clin Sci (Lond)* 83: 535–540, 1992.
16. **Makino M, Hayashi H, Takezawa H, Hirai M, Saito H, Ebihara S.** Circadian rhythms of cardiovascular functions are modulated by the baroreflex and the autonomic nervous system in the rat. *Circulation* 96: 1667–1674, 1997.
17. **Malpas SC.** The rhythmicity of sympathetic nerve activity. *Prog Neurobiol* 56: 65–96, 1998.
18. **McAllen RM, Malpas SC.** Sympathetic burst activity: characteristics and significance. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 24: 791–799, 1997.
19. **McDonald DM.** Morphology of the rat carotid sinus nerve. II. Number and size of axons. *J Neurocytol* 12: 373–392, 1983.
20. **Miki K, Kosho A, Hayashida Y.** Method for continuous measurements of renal sympathetic nerve activity and cardiovascular function during exercise in rats. *Exp Physiol* 87: 33–39, 2002.
21. **Miki K, Yoshimoto M, Tanimizu M.** Acute shifts of baroreflex control of renal sympathetic nerve activity induced by treadmill exercise in rats. *J Physiol* 548: 313–322, 2003.
22. **Morrison SF.** Differential control of sympathetic outflow. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 281: R683–R698, 2001.
23. **Petiot E, Barrès C, Chapuis B, Julien C.** Frequency response of renal sympathetic nervous activity to aortic depressor nerve stimulation in the anaesthetized rat. *J Physiol* 537: 949–959, 2001.
24. **Rubini R, Porta A, Baselli G, Cerutti S, Paro M.** Power spectrum analysis of cardiovascular variability monitored by telemetry in conscious unrestrained rats. *J Auton Nerv Syst* 45: 181–190, 1993.
25. **Sabharwal R, Coote JH, Johns EJ, Egginton S.** Effect of hypothermia on baroreflex control of heart rate and renal sympathetic nerve activity in anaesthetized rats. *J Physiol* 557: 247–259, 2004.
26. **Sato T, Kawada T, Inagaki M, Shishido T, Sugimachi M, Sunagawa K.** Dynamics of sympathetic baroreflex control of arterial pressure in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 285: R262–R270, 2003.
27. **Shimokawa A, Kunitake T, Takasaki M, Kannan H.** Differential effects of anesthetics on sympathetic nerve activity and arterial baroreceptor reflex in chronically instrumented rats. *J Auton Nerv Syst* 72: 46–54, 1998.
28. **Suzuki S, Ando S, Imaizumi T, Takeshita A.** Effects of anesthesia on sympathetic nerve rhythm: power spectral analysis. *J Auton Nerv Syst* 43: 51–58, 1993.
29. **Taylor JA, Halliwill JR, Brown TE, Hayano J, Eckberg DL.** “Non-hypotensive” hypovolaemia reduces ascending aortic dimensions in humans. *J Physiol* 483: 289–298, 1995.



CHAPITRE - VI

MESURE EN CONTINU DE LA SENSIBILITÉ DU BARORÉFLEXE SYMPATHIQUE CHEZ LE RAT - VALIDATION D'UN NOUVEL INDEX

Article : A transfer function method for the continuous assessment of baroreflex control of renal sympathetic nerve activity in rats.

Kanbar R, Oréa V, Chapuis B, Barrès C, Julien C.

Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 293: R1938-R1946, 2007.

La méthode la plus classique pour étudier le baroréflexe sympathique est la méthode pharmacologique, qui consiste à mesurer les variations de l'ANS en réponse à des modifications de PA provoquées par l'administration de substances vasoactives (généralement phényléphrine et nitroprussiate de sodium). Néanmoins, cette méthode présente plusieurs inconvénients. D'une part, les substances vasoactives peuvent altérer la décharge des barorécepteurs par leur action directe au niveau des zones barosensibles (*Peveler et al. 1983 ; Parati et al. 2004*). D'autre part, pour construire la courbe baroréflexe dans son entier et donc évaluer correctement la sensibilité du réflexe, il faut que les variables cardio-vasculaires soient stables pendant plusieurs minutes. En conséquence, cette méthode est mal adaptée à l'étude des variations spontanées de la sensibilité du baroréflexe, particulièrement les variations rapides. Comme il a déjà été indiqué dans le chapitre I, l'ANS rénale chez le rat présente une forte rythmicité à la fréquence cardiaque, qui est entièrement générée par le baroréflexe artériel (*Kunitake & Kannan 2000 ; Petiot et al. 2001*). D'où l'objectif de ce travail qui est d'examiner la possibilité d'utiliser le gain de la fonction de transfert entre la PA et l'ANS rénale, à la fréquence cardiaque, comme un index de sensibilité du baroréflexe sympathique.

Pour cela, la PA et l'ANS rénale sont enregistrées simultanément chez des rats éveillés, contrôles ou ayant subi 2 semaines avant l'étude une dénervation des barorécepteurs aortiques. Cette procédure doit permettre de diminuer, sans l'abolir, la sensibilité du baroréflexe sympathique et donc, d'élargir l'étendue de ses variations inter-individuelles. Les rats contrôles ont subi un simulacre d'opération sans dénervation des barorécepteurs. Grâce à

une analyse spectrale croisée entre la PA et l'ANS rénale, le gain de la fonction de transfert à la fréquence cardiaque est calculé sur 58 périodes adjacentes de 61,4 s (segmentées chacune en périodes plus courtes de 10,24 s se recouvrant par moitié). Seules les valeurs de gain associées à une cohérence significative, témoignant d'une relation linéaire entre les 2 variables, sont incluses dans le calcul.

Les principaux résultats montrent que :

- le gain de la fonction de transfert entre la PA et l'ANS, à la fréquence cardiaque, est capable de mettre en évidence une altération de la sensibilité du baroréflexe sympathique (induite par la dénervation partielle des barorécepteurs), d'une manière comparable à la méthode pharmacologique ;
- le gain de la fonction de transfert est positivement et linéairement corrélé à l'estimation pharmacologique de la sensibilité du baroréflexe sympathique ;
- puisque le baroréflexe sympathique contrôle la PA à court terme en diminuant sa variabilité, une corrélation inverse est attendue entre la sensibilité du baroréflexe sympathique et la variabilité tensionnelle. Effectivement, cette relation inverse existe, que la variabilité tensionnelle soit exprimée par l'écart type ou par la puissance spectrale totale de PA calculée entre 0 et 2,5 Hz.

Par ailleurs, il a été observé que le gain de la fonction de transfert augmente pendant un stress émotionnel induit par jet d'air, conformément à ce qui a été déjà démontré avec la méthode pharmacologique (Chapitre IV).

En conclusion, la méthode fondée sur le calcul du gain de la fonction de transfert entre la PA et l'ANS rénale à la fréquence cardiaque permet d'obtenir un index continu de la sensibilité du baroréflexe sympathique. En outre, cet index montre que la sensibilité du baroréflexe sympathique fluctue largement et rapidement en fonction du temps.

A transfer function method for the continuous assessment of baroreflex control of renal sympathetic nerve activity in rats

Roy Kanbar, Valérie Oréa, Bruno Chapuis, Christian Barrès, and Claude Julien

Université de Lyon, Lyon, F-69008, France; Université Lyon 1, Lyon, F-69008, France, ISPB, Département de Physiologie et Pharmacologie Clinique

Submitted 28 May 2007; accepted in final form 31 August 2007

Kanbar R, Oréa V, Chapuis B, Barrès C, Julien C. A transfer function method for the continuous assessment of baroreflex control of renal sympathetic nerve activity in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 293: R1938–R1946, 2007. First published September 5, 2007; doi:10.1152/ajpregu.00374.2007.—The present study examined whether the gain of the transfer function relating cardiac-related rhythm of renal sympathetic nerve activity (RSNA) to arterial pressure (AP) pulse might serve as a spontaneous index of sympathetic baroreflex sensitivity (BRS). AP and RSNA were simultaneously recorded in conscious rats, either baroreceptor-intact (control, $n = 11$) or with partial denervation of baroreflex afferents [aortic baroreceptor denervated (ABD; $n = 10$)] during 1-h periods of spontaneous activity. Transfer gain was calculated over 58 adjacent 61.4-s periods (segmented into 10.2-s periods). Coherence between AP and RSNA was statistically ($P < 0.05$) significant in $90 \pm 3\%$ and $56 \pm 10\%$ of cases in control and ABD rats, respectively. Transfer gain was higher ($P = 0.0049$) in control [2.39 ± 0.13 normalized units (NU)/mmHg] than in ABD (1.48 ± 0.22 NU/mmHg) rats. In the pooled study sample, transfer gain correlated with sympathetic BRS estimated by the vasoactive drug injection technique ($R = 0.75$; $P < 0.0001$) and was inversely related to both time- (standard deviation; $R = -0.74$; $P = 0.0001$) and frequency-domain [total spectral power (0.00028–2.5 Hz); $R = -0.82$; $P < 0.0001$] indices of AP variability. In control rats, transfer gain exhibited large fluctuations (coefficient of variation: $34 \pm 3\%$) that were not consistently related to changes in the mean level of AP, heart rate, or RSNA. In conclusion, the transfer function method provides a continuous, functionally relevant index of sympathetic BRS and reveals that the latter fluctuates widely over time.

arterial pressure; baroreceptor reflex; sympathetic nervous system

IN BOTH HUMANS AND RATS, THE baroreflex control of sympathetic nerve activity (SNA) is commonly assessed by the so-called pharmacological method that is based on the measurement of SNA changes in response to arterial pressure (AP) changes evoked by the intravenous administration of vasoactive drugs, usually phenylephrine and sodium nitroprusside (9, 32, 45, 47). This method, however, has several limitations, among which are baroreceptor facilitation by α_1 -adrenoceptor stimulation (15) and direct mechanical effects of the drugs on barosensitive areas (43). In addition, a proper description of baroreflex curves requires that several injections be performed under stationary conditions, which makes it difficult to use this technique for continuously evaluating changes in the characteristics of the reflex under daily life conditions. These limitations have prompted some investigators to develop other methods using spontaneous rather than evoked AP changes. While

these methods have mostly been used for investigating the baroreflex control of heart rate (HR) (36, 39), a few studies have been devoted to the baroreflex control of SNA (20, 34, 44, 50, 51). In these studies, the sympathetic baroreflex sensitivity (BRS) was estimated by relating SNA to beat-to-beat values of AP recorded over several heart beats. Over such time scales, baroreflex operation is closed loop (4, 12), which complicates the interpretation of SNA-AP relationships (25). Moreover, it is likely that respiratory-related rhythms of AP and SNA interfere with the observed relations, while it is well established that the respiratory fluctuations of SNA have a mixed central and baroreflex origin (1, 16, 30). In both humans and rats, SNA contains at least two rhythms that derive from the activity of the arterial baroreceptor reflex: a fast one synchronous with the cardiac beat (~ 1 Hz in humans; 5–7 Hz in rats), and a slower one accompanying the vasomotor waves of AP usually termed Mayer waves (~ 0.1 Hz in humans; ~ 0.4 Hz in rats). It has been shown in rats that sinoaortic baroreceptor denervation abolishes both rhythms when SNA is recorded from a renal nerve (22, 28, 42). However, only the pulse-synchronous oscillation can be regarded as reflecting the open-loop operation of the baroreceptor reflex because of the low-pass filter properties of the resistance vasculature that prevent fluctuations of SNA to be translated into corresponding fluctuations of AP at frequencies above 1 Hz (21, 23). It is therefore tempting to speculate that the amplitude of the cardiac-related oscillation of SNA depends both on the amplitude of the AP pulse and on the sympathetic BRS. The amplitude ratio between AP and SNA fluctuations at the frequency of the heart beat would thus provide an index of the sympathetic BRS.

The reference method for quantifying the amplitude of an oscillation in a cardiovascular signal is power spectral analysis (41). The ratio between the amplitude of two oscillations can be derived either from the power spectra of both signals or from the gain of the transfer function computed between the two signals. The latter method has the advantage of taking into account the degree of linear correlation between oscillations of the two signals, i.e., the coherence (48). We recently used this method to show that, in urethane anaesthetized rats, the transfer gain between AP and renal SNA (RSNA) computed at HR frequency is insensitive to changes in the mean HR level in the 5.6–9 Hz frequency range (37).

The specific objective of the present study was to examine the possibility of deriving a continuous index of sympathetic BRS from the calculation of the gain of the transfer function

Address for reprint requests and other correspondence: R. Kanbar, Département de Physiologie et Pharmacologie Clinique, Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques (ISPB)—Faculté de Pharmacie, 8, Ave. Rockefeller, 69373 Lyon Cedex 08, France (e-mail: roy.kanbar@sante.univ-lyon1.fr).

The costs of publication of this article were defrayed in part by the payment of page charges. The article must therefore be hereby marked “advertisement” in accordance with 18 U.S.C. Section 1734 solely to indicate this fact.

between AP and RSNA at the frequency of the heart beat in conscious rats. In an attempt to enlarge the range of variation of sympathetic BRS, the study included rats with partial (aortic) arterial baroreceptor denervation (35). Rats with complete baroreceptor denervation were not included in the study because this procedure would have eliminated the cardiac-related RSNA oscillation, which would have resulted in low coherence values (42) and thus, would not have allowed the computation of reliable transfer gain values. Modeling analysis predicts an inverse relationship between AP variability and sympathetic BRS (8, 49). The ability of the new index to predict buffering of AP fluctuations was therefore examined and taken as an indication of its functional relevance.

METHODS

Animals and surgery. All experiments were approved by the local Animal Ethics Committee. Male Sprague-Dawley rats were purchased from Charles River Laboratories (L'Arbresle, France). They were 10- to 11-wk-old at the time of the first surgery.

Surgical procedures have been previously described in detail (3, 5, 22, 24). Two weeks before the study, rats were anesthetized with a mixture of acepromazine maleate (12 mg/kg ip) and ketamine hydrochloride (120 mg/kg ip), and received a prophylactic injection of penicillin G (50,000 IU sc). They then underwent denervation of aortic baroreceptors (ABD group, $n = 10$) or a sham surgery (control group, $n = 11$). To alleviate postoperative pain and improve recovery, the nonsteroidal anti-inflammatory drug, ketoprofen (5 mg/kg sc) was given just after surgery and 24 h later. One day before the study, rats were anesthetized with halothane (2% in oxygen) and received an injection of penicillin G. Femoral arterial and venous polyethylene catheters were inserted for AP measurement and drugs administration, respectively. Rats were reanesthetized 4 to 6 h later, with pentobarbital sodium (60 mg/kg ip), and a branch of the left renal nerve was exposed retroperitoneally, placed on a bipolar electrode, and insulated with a silicone gel for RSNA measurement. Both catheters and electrode were led subcutaneously to exit at the back of the neck. Rats received an injection of ketoprofen (2.5 mg/kg sc) and were allowed 16–18 h to recover from anesthesia.

Data collection and experimental protocol. AP was measured by using a pressure transducer (model TNF-R; Becton Dickinson, Sandy, UT) coupled to an amplifier (model 13–4615-52; Gould, Cleveland, OH). RSNA was band-pass filtered (300–3,000 Hz) and amplified with a gain of 50,000 (model P-511J; Grass, Quincy, MA). The RSNA signal was then full-wave rectified and low-pass filtered (cut-off frequency: 150 Hz) with a custom-made device. All signals were digitized by using a computer equipped with an analog-to-digital converter (model AT-MIO-16; National Instruments, Austin, TX) and LabVIEW 5.0 software (National Instruments). The AP and RSNA signals were sampled at 500 and 5,000 Hz, respectively.

AP and RSNA were continuously recorded in conscious, freely behaving rats for at least 3 h. The baroreflex control of RSNA was then assessed in the awake resting state by means of sequential injections of sodium nitroprusside and phenylephrine, as previously described (9, 24). Baroreflex testing was repeated after a time interval sufficient to allow complete return of cardiovascular variables to predrug levels, usually 30 min. Finally, the background noise level of RSNA was estimated as the residual electrical activity obtained after administration of the ganglionic blocker chlorisondamine (2.5 mg/kg iv). This activity incorporated possible movement artifacts and, as the nerve was not cut distal to the electrode, afferent renal nerve activity, if present. On completion of the experiments, rats were euthanized with an intravenous overdose of pentobarbital sodium.

Data analysis. Offline processing of data was performed with LabVIEW 6i software. AP and RSNA were resampled at 50 Hz by averaging over consecutive 20-ms periods. These 50-Hz time series were split into data segments of 512 points (10.24 s). Cross-spectral techniques using a fast Fourier transform algorithm were employed to calculate the coherence and transfer functions between AP (input signal) and RSNA (output signal) over 11 segments overlapping by half, which corresponded to a total duration of 61.4 s. The fast Fourier transform was also used to compute autospectra of AP that served to locate the frequency at which maximum spectral power density occurred in the frequency band encompassing HR (usually 5–8 Hz). Coherence, gain and phase were then noted at this particular frequency. However, only gain and phase values associated with a significant coherence were retained for further calculations. The significance threshold for coherence is the limit above which the observed coherence is statistically different from zero, and thus, a linear relationship between oscillations of two variables can be assumed. It is determined by the number of nonoverlapping segments used for computing spectra (6 in this case) and the shape of the window used to taper data (Hanning window in this case) (2). In the present study, the significance threshold for coherence was 0.348 at $P < 0.05$. Mean values of AP, HR, and RSNA were calculated over the same 61.4-s periods as those used for spectral analyses. HR was derived from the mean interbeat interval. From the total recording period, one continuous 60-min period free of artifacts was selected for analysis so that a maximum of 58 gain and phase values (depending on the coherence) could be obtained in each rat (Fig. 1). The mean of the transfer gain values was calculated and will be referred to as the spontaneous gain in the following text. The mean RSNA value calculated over the entire 60-min period was taken as the reference value for normalizing RSNA data in all computations [normalized gain = (raw gain \times 100)/mean RSNA].

Pharmacological estimates of the sympathetic BRS were obtained by fitting a four-parameter sigmoid function to AP-RSNA data pairs collected from the maximum nitroprusside-induced fall in AP up to the maximum phenylephrine-induced rise in AP (18, 24). For this purpose, AP and RSNA time series were resampled at 1 Hz by averaging over consecutive 1-s periods. RSNA data were normalized by the mean RSNA value calculated over the 1-min period preceding baroreflex testing. This analysis provided the full range of RSNA variation (P_1), a slope coefficient (P_2), AP at half the RSNA range (P_3), and the lower plateau of the curve (P_4), where sympathoinhibition is maximal (Fig. 2). The first derivative of the sigmoid function was computed to determine the baroreflex gain across the full range of AP, including the maximum gain, which could also be calculated as $-P_1P_2/4$. However, for comparing with the transfer function gain, which takes no sign, only the absolute values of the maximum gain were used and are referred to as the pharmacological gain in the following text. In each rat, baroreflex parameters were usually the mean of two determinations.

The spontaneous cardiac BRS was estimated using the transfer function method (29). The purpose of this analysis was to compare the evolution over time of the spontaneous indices of cardiac and sympathetic BRS. Beat-to-beat mean AP and pulse interval were calculated and resampled at 50 Hz after spline interpolation. The cardiac BRS was estimated as the gain of the transfer function between mean AP (input signal) and pulse interval (output signal) in the midfrequency band (0.3–0.6 Hz). In this band, coherence between AP and HR oscillations has been shown to be mediated by the baroreceptor reflex because it is abolished after sinoaortic baroreceptor denervation (7). The transfer gain was calculated over the same 61.44-s periods as those used for sympathetic BRS computation. To include a sufficient number of full cycles, these periods were split into segments of 20.48-s segments overlapping by half. The maximum coherence in the band was detected, and the gain was taken at this frequency. Only gain values associated with a significant coherence were retained for

further calculations. The significance threshold ($P < 0.05$) for coherence was 0.631 in this case.

Indices of AP variability were obtained from the 60-min period used for transfer function analysis. A time-domain estimate of overall AP variability was obtained by calculating the standard deviation of

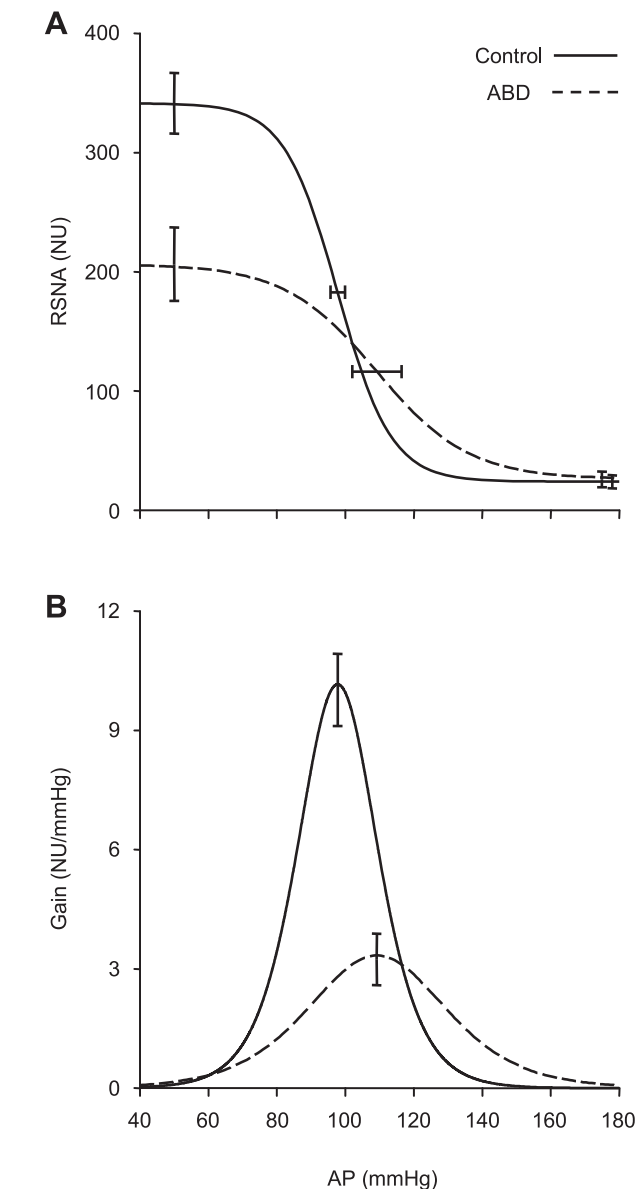
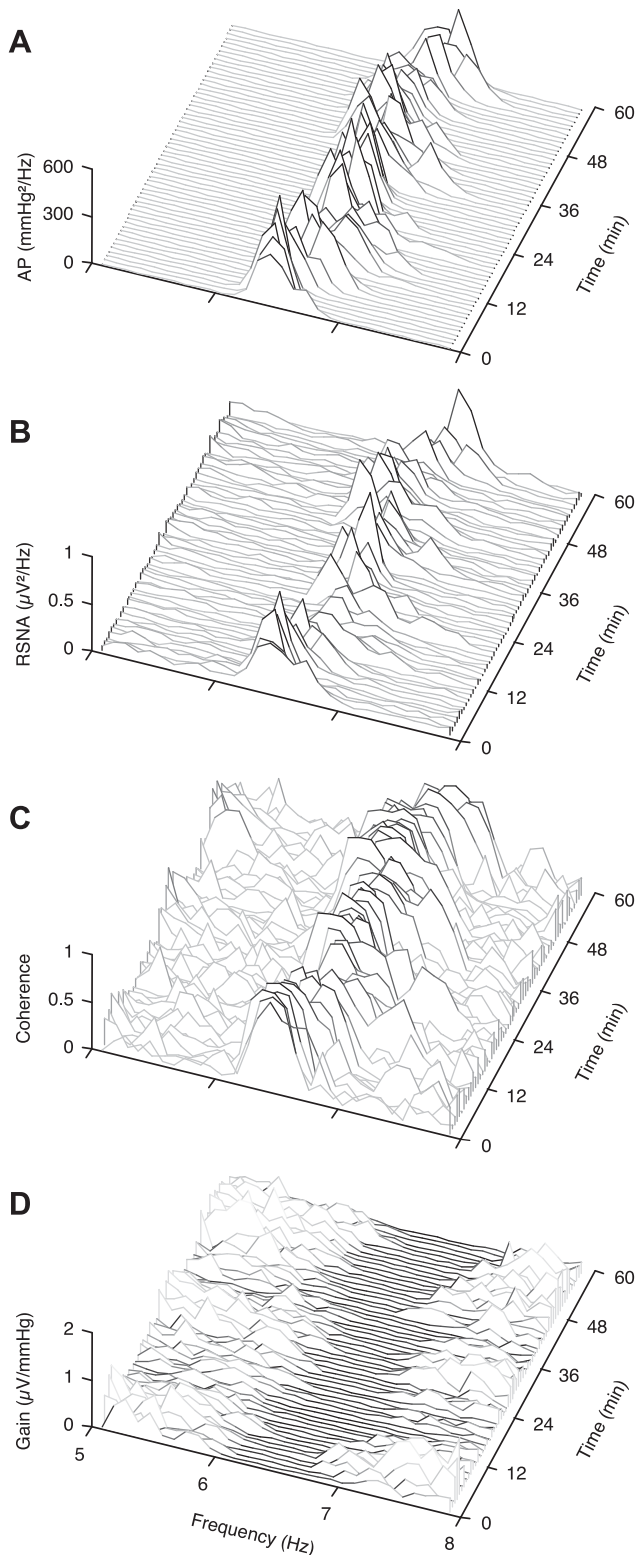


Fig. 2. Effect of aortic baroreceptor denervation on AP-RSNA baroreflex function curves. Group-average parameters were used to generate baroreflex function curves (A) and their first derivative (B) in control ($n = 11$) and aortic baroreceptor denervated (ABD; $n = 10$) rats. In A, error bars show SE for the upper and lower plateaus and for AP at midrange of the curve. In B, error bars show SE for the maximum gain. Note that the absolute value of the gain functions is shown.

beat-to-beat mean AP values. A frequency domain estimate was obtained by using the discrete Fourier transform to calculate a single autospectrum of AP. Total spectral power was then calculated by integrating power spectral density from 0.00028 to 2.5 Hz.

Fig. 1. Example of spectral and cross-spectral analysis of arterial pressure (AP) and renal sympathetic nerve activity (RSNA) in 1 control rat. Autospectra of AP (A) and RSNA (B) were computed from 58 adjacent 61.4-s periods (segmented into 10.2-s periods) taken from a continuous recording in a conscious, baroreceptor-intact rat. In this example, HR was relatively stable so that a sharp peak centered slightly above 6 Hz was observed in both the AP and RSNA spectra. The coherence function (C) showed a maximum at the same frequency so that reliable estimates of the transfer function gain (D) could be obtained throughout the 1-h recording period.

Statistics. All data are presented as means \pm SE. Statistical comparisons between control and ABD rats were performed using the nonparametric Mann-Whitney *U*-test.

RESULTS

On the day of the recording session, control ($n = 11$) and ABD ($n = 10$) rats had similar body weights (359 ± 7 and 344 ± 9 g, respectively).

Effect of chronic aortic baroreceptor denervation on sympathetic baroreflex function curves, mean value, and variability of AP. As shown in Fig. 2 and Table 1, aortic baroreceptor denervation decreased the baroreflex pharmacological gain by almost 70%. This effect was a consequence of a decrease in the upper plateau of the baroreflex curve (Fig. 2A), and hence, in the range of RSNA variation (P_1), combined with a decrease in the slope coefficient (P_2).

The 1-h mean values of beat-to-beat mean AP and HR did not differ significantly between control (115 ± 2 mmHg and 394 ± 4 beats/min) and ABD (116 ± 3 mmHg and 404 ± 9 beats/min) rats. The spontaneous variability of AP was increased in ABD rats compared with control rats, considering either the standard deviation (9.6 ± 0.5 vs. 5.9 ± 0.4 mmHg, $P = 0.0001$) or the total spectral power (75 ± 6 vs. 32 ± 4 mmHg², $P = 0.0002$).

Effect of chronic aortic baroreceptor denervation on the AP-RSNA transfer function at HR frequency. The frequency at which maximum power spectral density was observed in the high-frequency band of 1-min AP spectra did not differ significantly between control and ABD rats (Table 2), thus confirming that the denervation procedure had no noticeable effect on HR. In control rats, coherence between AP and RSNA was significant in 90% of cases at that frequency and, consequently, transfer function gain and phase could be estimated at the 95% confidence level during 90% of the time. This percentage dropped to 56% in ABD rats. The mean transfer gain at HR frequency was significantly reduced by 38% in ABD rats compared with control rats, whereas the transfer phase remained unchanged (Table 2).

Linear correlation analysis. In the pooled study sample ($n = 21$), the spontaneous gain correlated positively with the pharmacological gain (Fig. 3A). The pharmacological gain (Fig. 3B) and the spontaneous gain (Fig. 3C) showed significant inverse relationships with overall indices of AP variability, considering either the standard deviation of beat-to-beat

Table 2. Effect of ABD on the coherence and transfer functions computed between AP and RSNA at HR frequency in conscious rats

	Control	ABD	<i>P</i> Value
<i>n</i>	11	10	
Frequency of AP spectral peak, Hz	6.5 ± 0.1	6.7 ± 0.2	0.4813
Percentage occurrence of significant coherence values, %	90 ± 3	56 ± 10	0.0067
Mean of significant coherence values	0.73 ± 0.02	0.56 ± 0.03	0.0007
Transfer function phase, degrees	-33 ± 7	-29 ± 10	0.5184
Transfer function gain, NU/mmHg	2.39 ± 0.13	1.48 ± 0.22	0.0049

Values are means \pm SE. *P* values refer to comparisons between control and ABD rats.

data or the spectral power computed from 50-Hz time series. The correlation coefficients tended to be higher for the correlations with the spontaneous gain, but this did not reach significance (31).

Variability of the spontaneous index of sympathetic BRS. In control rats, 1-min transfer gain values were plotted as a function of time (Fig. 4). Visual examination of these chronograms revealed that this index of sympathetic BRS varied widely over time without showing any obvious rhythmic patterns. The variation coefficient of these consecutive gain values ($n = 52 \pm 2$; range: 40 to 58) was $34 \pm 3\%$. To examine whether changes in AP, HR, or RSNA played any role in the fluctuations of the transfer gain, linear regressions between 61.4-s mean values of these variables and corresponding transfer gains were calculated in each control rat. It was found that the transfer gain was significantly ($P < 0.05$) related to the mean level of 1) AP in five of eleven cases (4 negative correlations), 2) HR in five of eleven cases (all negative), and 3) RSNA in seven of eleven cases (all positive).

The spontaneous cardiac BRS was calculated using the transfer function method over the same 61.4-s periods as those used for computing the spontaneous sympathetic BRS, with the aim of comparing the time course of the two indices. The spontaneous cardiac BRS could be reliably estimated during 57 and 25% of the time in control and ABD rats, respectively. In control rats, the maximum significant coherence (0.77 ± 0.01) was detected at 0.42 ± 0.01 Hz. Linear regression analysis included gain values that were associated with a significant coherence for both indices. Consequently, this analysis included 30 ± 4 data pairs (from a maximum of 58) in control rats. There was no significant relation between the sympathetic and cardiac BRS in nine of eleven rats ($R = -0.09 \pm 0.05$). In the remaining two rats, significant, but directionally opposite, correlations were disclosed (one positive correlation: $n = 33$, $R = 0.476$, $P = 0.0051$, and one negative correlation $n = 16$, $R = -0.523$, $P = 0.0375$).

DISCUSSION

In conscious, freely moving rats, the gain of the transfer function relating RSNA and AP at the frequency of the heart beat can be reliably estimated during $\sim 90\%$ of the time when it is computed over consecutive 1-min periods. The validity of the transfer gain as a spontaneous index of sympathetic BRS is supported by three lines of evidence: 1) in rats with partial baroreceptor denervation, the transfer gain either could not be determined or was markedly attenuated; 2) the transfer and

Table 1. Effect of ABD on the characteristics of the AP-RSNA baroreflex function curve in conscious rats

	Control	ABD	<i>P</i> Value
<i>n</i>	11	10	
R^2	0.91 ± 0.02	0.77 ± 0.02	0.0006
P_1 , NU	317 ± 29	180 ± 30	0.0075
P_2 , mmHg ⁻¹	0.13 ± 0.01	0.07 ± 0.01	0.0006
P_3 , mmHg	98 ± 2	109 ± 7	0.6221
P_4 , NU	24 ± 5	26 ± 6	>0.9999
G_{\max} , NU/mmHg	10.0 ± 0.9	3.2 ± 0.7	0.0003

Values are means \pm SE. ABD, aortic baroreceptor denervation; AP, arterial pressure; RSNA, renal sympathetic nerve activity; R^2 , coefficient of determination (observed versus predicted values); P_1 , RSNA range; P_2 , slope coefficient; P_3 , AP at midrange; P_4 , lower plateau; G_{\max} , absolute value of the maximum gain; NU, normalized units. *P* values refer to comparisons between control and ABD rats.

pharmacological gains differed in absolute values but were positively correlated; 3) the transfer gain was inversely related to AP variability. The latter observation points to the functional relevance of the new index with respect to the short-term control of AP.

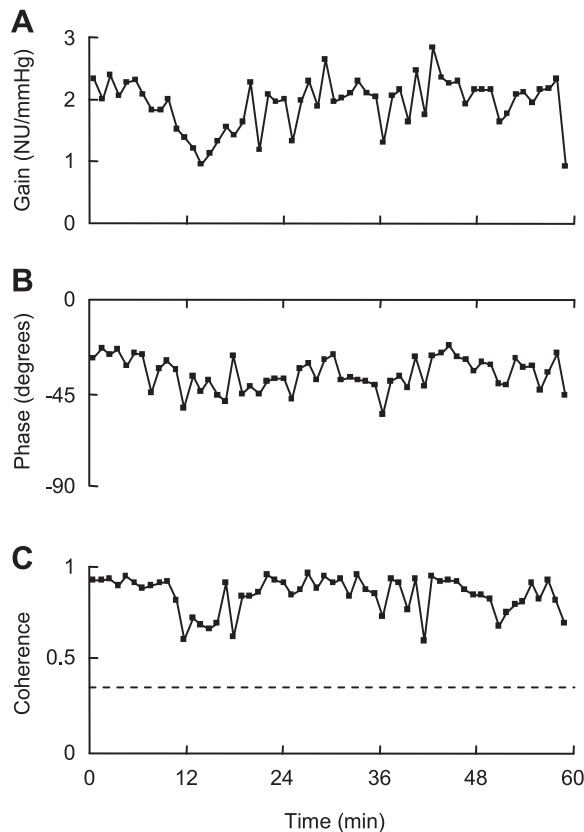
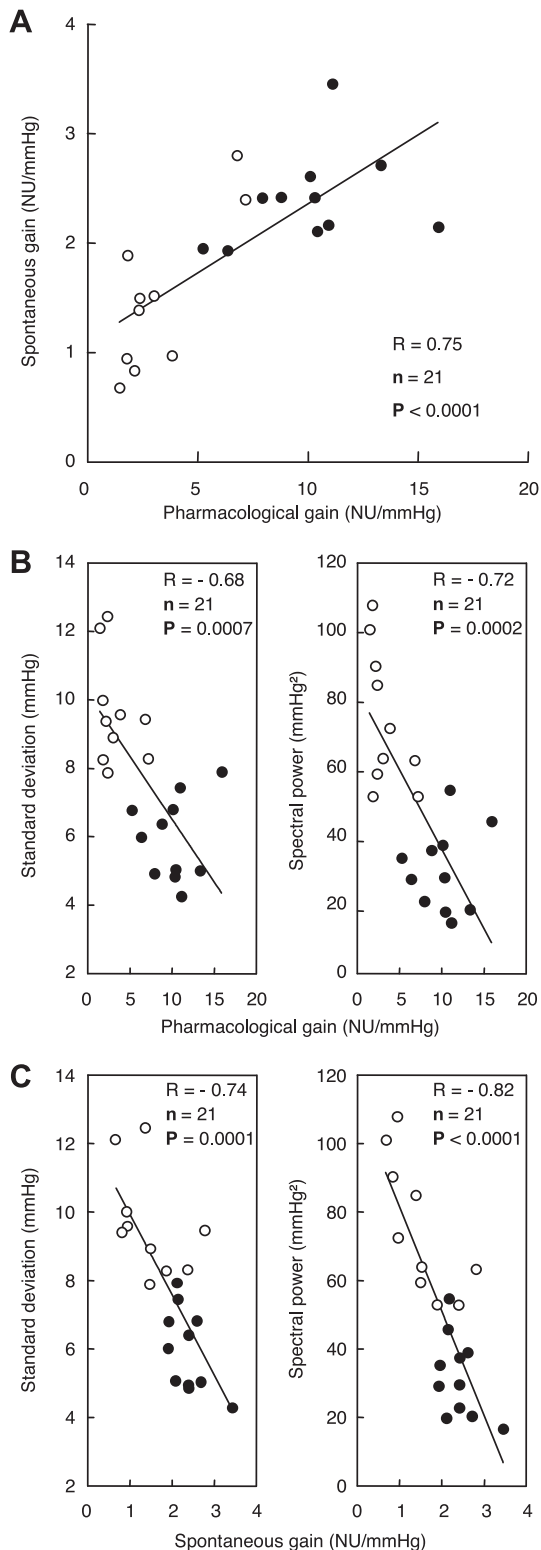


Fig. 4. Example of chronogram of the spontaneous index of sympathetic BRS. Transfer function gain (A) and phase (B) were computed over 58 adjacent 61.4-s periods. C: horizontal dotted line shows the significance threshold ($P < 0.05$) for coherence. Data are from the same conscious, baroreceptor-intact rat as in Fig. 1. Gain was normalized by the 1-h mean RSNA value ($1.67 \mu\text{V}$ in this case).

Effects of aortic baroreceptor denervation. As mentioned in the introduction, there is a strong rationale behind the hypothesis that the AP-RSNA transfer function gain at HR frequency might provide an index of sympathetic BRS in rats, simply because the cardiac-related RSNA rhythm is abolished by both acute (42) and chronic (28) sinoaortic baroreceptor denervation. Accordingly, chronically ABD rats of the present study had markedly reduced coherence and transfer gain values, which points to an overall decrease in the occurrence frequency and/or amplitude of cardiac-related oscillations of RSNA. On the other hand, phase between AP and RSNA at HR frequency did not differ between control and ABD rats, which indicates that the lead/lag relationship between AP and RSNA at HR frequency was not altered by the denervation procedure.

Fig. 3. Correlation analysis. A: relation between the spontaneous and pharmacological estimates of the sympathetic baroreflex sensitivity (BRS). B and C: relations between the overall indices of AP variability and the pharmacological and spontaneous estimates of sympathetic BRS, respectively. The pharmacological gain is expressed as the absolute value of the maximum gain. In each rat, indices of AP variability were obtained from a 1-h continuous recording and were computed as the standard deviation of beat-to-beat mean AP values and as the spectral power of AP in the 0.00028–2.5 Hz frequency range. Filled and open symbols show data from control ($n = 11$) and ABD ($n = 10$) rats, respectively.

While there have been several reports on the effects of aortic baroreceptor denervation on the cardiac component of the baroreceptor reflex in rats (13, 14, 38), only one study has been devoted to the sympathetic component of the reflex (35). In the latter study, AP-RSNA baroreflex function curves were constructed in chloralose anesthetized rats after sequential transection of aortic depressor and carotid sinus nerves. It was found that aortic baroreceptor denervation alone produced a 58% decrease in the pharmacological BRS, while subsequent removal of carotid sinus baroreceptor influences abolished the remaining reflex RSNA responses. In ABD rats of the present study, the pharmacological and spontaneous estimates of sympathetic BRS were reduced by 68 and 38%, respectively. We therefore confirm that aortic baroreceptor denervation is a valid approach for achieving a partial reduction of the sympathetic BRS in rats. Moreover, in both control and ABD rats, there was a rather large scattering of pharmacological and spontaneous gain values, which resulted in some degree of overlap between the two sets of data. For this reason, correlations could be calculated using the pooled study sample.

Comparison between pharmacological and spontaneous gains. In both control and ABD rats, pharmacological gains were higher than spontaneous gains. There are at least two simple explanations for this difference. First, the pharmacological gain was defined as the maximum gain of the baroreflex curve, which is the most widely used procedure for estimating sympathetic BRS with the vasoactive drug injection technique (24, 32, 33). In conscious rats, however, the maximum gain is usually observed at AP values lower than the reference AP (9). Consequently, the gain measured at this reference AP is lower than the maximum gain, which was indeed the case in the present study. Gains corresponding to the 1-h mean values of AP were 3.9 ± 0.7 and 1.7 ± 0.3 NU/mmHg in control and ABD rats, respectively. These values are only slightly higher than the transfer gains, which by definition are computed at spontaneous AP values. The second explanation for the difference between pharmacological and spontaneous gains is that low-pass filter properties of arterial baroreceptors are important in the frequency range encompassing spontaneous HR (6, 27) and thus, probably contribute to attenuate RSNA responses to AP changes. As a consequence, transfer gains computed at these frequencies are lower than steady-state gains (37).

The correlation between pharmacological and spontaneous gains was far from being perfect. First, the linear regression line did not pass through the origin, contrary to what would be expected when one considers that rats with complete sinoaortic baroreceptor denervation have no measurable RSNA responses to drug-induced changes in AP (null pharmacological gain) and no cardiac-related oscillations of RSNA (null spontaneous gain) (42). The relationship between the two estimates of sympathetic BRS is thus probably curvilinear, and indeed, the correlation coefficient was slightly improved ($R = 0.82$) when a curvilinear equation ($y = a \cdot x^b$) was fitted to the data set. Secondly, some data pairs were clear outliers, especially in control rats. This might reflect the fact that pharmacological testing of the baroreflex was performed in resting rats, whereas the transfer function gain was an average value calculated over periods of rest and activity. Changes in behavioral and emotional states have been shown to alter the characteristics of sympathetic baroreflex curves (24, 32, 33) and are probably accompanied by changes in the spontaneous gain as well (see

below). In summary, it appears that pharmacological and spontaneous estimates of sympathetic BRS both explore baroreflex function while not being interchangeable.

The correlation between spontaneous gain and AP variability. The spontaneous gain was inversely related to overall AP variability. AP variability is largely the result of the continuous interplay between hemodynamic perturbations and the corrective action provided by the sympathetic component of the baroreceptor reflex (8, 49). It is therefore not surprising that interanimal differences in BRS would account for part of interanimal differences in AP variability, especially large differences such as those observed when pooling data from control and ABD rats. In this regard, it is worth noting that both estimates of sympathetic BRS were inversely and similarly related to AP variability, which suggests that both indices are indicators of the AP buffering capacity of the baroreceptor reflex.

Two different indices were used for estimating AP variability: the standard deviation of beat-to-beat mean AP time series and the total spectral power calculated over one single auto-spectrum of AP. In the latter case, the upper frequency limit was set at 2.5 Hz. Therefore, both indices incorporated all AP fluctuations slower than the cardiac cycle. It must be recalled, however, that AP variability is mainly secondary to slow (i.e., low-frequency) fluctuations (8, 19, 22). Spectral power calculated in the low-frequency band (0.00028–0.27 Hz) accounted for 81 ± 3 and $92 \pm 1\%$ of the total power in control and ABD rats, respectively. For this reason, the correlation between AP spectral power and spontaneous gain was only marginally improved when considering low-frequency power instead of total power (data not shown). It should be mentioned that spectral power in the midfrequency band containing Mayer waves was not significantly related to the spontaneous gain. This means that the sympathetic BRS is not the sole determinant of Mayer wave's amplitude, in accordance with a previous report in anesthetized rats (9).

Variability of the spontaneous gain. The spontaneous gain showed rather large fluctuations in control rats. This feature was not investigated in ABD rats because transfer gains were calculated, on average, during only one-half of the recording time, due to the constraint imposed by the coherence significance threshold. Spontaneous fluctuations of the transfer gain could not be ascribed to any specific behavioral changes as behavior was not rigorously monitored. It should be mentioned, however, that one important criterion for the selection of the 1-h periods used for analysis was that the rats displayed the normal pattern of common behaviors, as indicated by the routine watching of the animals during the recording sessions. Under these conditions, cardiovascular variables showed fluctuations that could be compared with those of the spontaneous gain. No systematic association could be found between the 1-min mean levels of AP, HR, and RSNA and the spontaneous gain computed over the same periods. The lack of correlation with HR fluctuations is not surprising. We have thoroughly investigated this question in anesthetized rats and reported that no relation exists between the transfer gain and HR at cardiac pacing frequencies ranging from 5.6 to 9 Hz (37), which is a frequency range relevant to the present study. On the other hand, a correlation with AP fluctuations could have been expected. In a previous study, we were able to show that there was a strong dependence of the amplitude of cardiac-related

oscillations of RSNA on the AP level in conscious resting rats (5). Specifically, changes in RSNA power at HR frequency were characterized by a bell curve reaching a maximum at 22 mmHg below basal AP. This relation was explained on the basis of the nonlinear properties of baroreceptor activity during the cardiac cycle, in particular, the existence of a threshold AP for baroreceptor discharge (5). The present study clearly indicates that forced and spontaneous AP changes exert differential effects on the cardiac-related RSNA rhythm. One tentative explanation would implicate a continuous resetting of baroreflex relationships linked to behavioral changes and locomotor activity. Such a resetting has indeed been observed in rats during exercise (32), grooming (33), and exposure to a mild emotional stressor (24). Finally, it is of note that the spontaneous gain was positively related to the RSNA level in seven of eleven rats. It is possible that in these animals, some stress reactions had contributed to this relationship (10). To examine the latter hypothesis, we reanalyzed our previously published data demonstrating an 80% increase in the pharmacological estimate of sympathetic BRS associated with an 86% increase in RSNA during air-jet stress in conscious rats (24). By using the method described in the present paper, the AP-RSNA transfer function gain at HR frequency was calculated and averaged over the five periods preceding, and the fifth to ninth periods following, the onset of the stress trial (Fig. 5). The transfer gain increased during stress [from 3.14 ± 0.32 to 5.12 ± 0.51 NU/mmHg; ($n = 11$); $P = 0.0044$]. This was accompanied by an increase in coherence (from 0.79 ± 0.03 to 0.89 ± 0.02 ; $P = 0.0033$) and a decrease in phase (from -27 ± 9 to -45 ± 9 degrees; $P = 0.0208$). The latter effect was probably secondary to the stress-induced increase in HR (24). The positive relationship between changes in pharmacological and spontaneous estimates of sympathetic BRS did not reach statistical significance ($R = 0.50$, $P = 0.1196$). The variations of the transfer gain were positively correlated with changes in the mean RSNA level ($R = 0.71$; $P = 0.0152$). These observations further confirm the value of the novel index for measuring variations in sympathetic BRS, and provide a potentially important mechanism responsible for spontaneous changes in sympathetic BRS.

Finally, as the cardiac and sympathetic vascular components of the baroreceptor reflex share some common determinants, the evolution over time of both spontaneous indices of baroreflex function was compared. The absence of relation between the two indices could result from the complex regulation of regional sympathetic outflows and from the differential control of the heart by the parasympathetic and sympathetic efferent limbs of the baroreceptor reflex. Indeed, Kawada et al. (26) have reported that the neural arc of the baroreceptor reflex may exert differential effects on the cardiac and renal SNA in response to dynamic baroreflex activation in anesthetized rabbits. In addition to the dissociation between cardiac and non-cardiac SNA, Simms et al. (46) showed that the cardiac parasympathetic baroreflex is active over a higher range of AP values in an artificially perfused in situ rat preparation, thus concluding that there is a hierarchical recruitment of the output limbs of the reflex with a sympathetic predominance at lower AP values. Moreover, it has already been shown by using the pharmacological method that efferent limbs of the baroreceptor reflex are differently affected by exercise [cardiac BRS is unaltered and sympathetic BRS is increased (32)], the rapid-eye-movement stage of sleep [cardiac BRS is unaltered and sym-

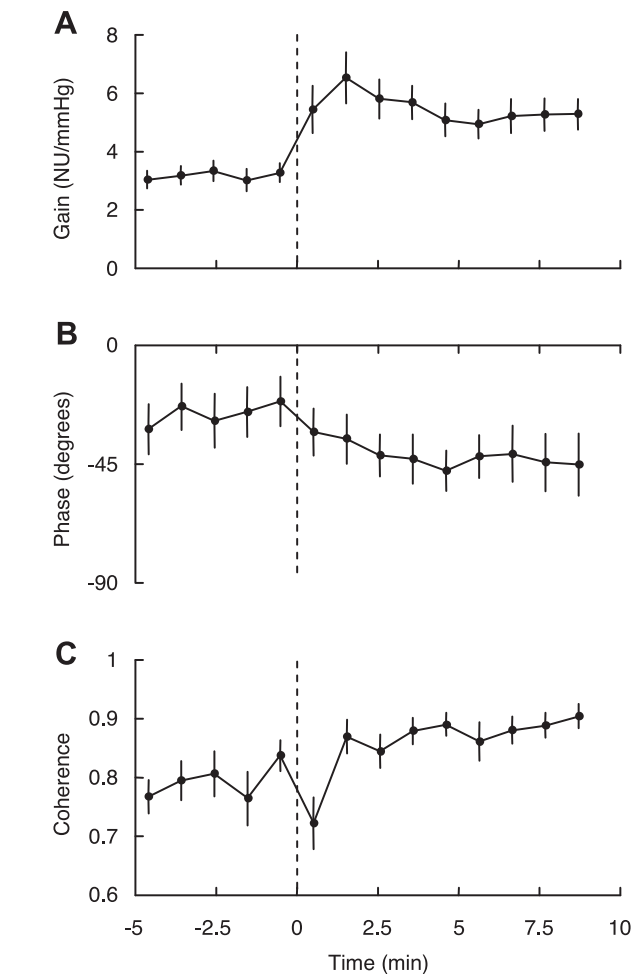


Fig. 5. Effects of air-jet stress on the spontaneous index of sympathetic BRS. Gain (A), phase (B), and coherence (C) data were obtained from 61.4-s consecutive periods. Vertical dashed lines show the beginning of the stress trial. Data points are group-average values (\pm SE) for 11 conscious, baroreceptor-intact rats (data from Ref. 24).

thetic BRS is decreased (33)], and air-jet stress [cardiac BRS is unaltered (17) and sympathetic BRS is increased (24)] in rats.

Methodological issues. The temporal resolution of the transfer function method is limited by physiological and computational factors. The amplitude of cardiac-related oscillations is rhythmically altered by AP Mayer waves (data not shown). Therefore, the duration of the segments used for computation must be at least equal to that of the period of Mayer waves, i.e., about 2.5 s. That would produce a frequency resolution of ~ 0.4 Hz, which is not appropriate for a precise calculation of the transfer gain in the 5–9 Hz frequency band. A minimum duration of 5 s is therefore advisable. A fundamental algorithmic requirement is the use of at least three nonoverlapping segments for computing coherence. Taken together, these considerations imply that the temporal resolution of the method has an absolute minimum of about 15 s.

Conclusion and Perspectives

By using the so-called “spontaneous” methods, it has been possible to show that the cardiac BRS exhibits large fluctuations in humans (11, 40) and in rats (36). The present study

provides a demonstration that the sympathetic BRS also exhibits large spontaneous fluctuations.

It is likely that in both humans and rats, the sympathetic vascular component of the baroreceptor reflex plays the most critical role in determining the potency of the reflex in buffering AP perturbations (8, 49). Fluctuations of sympathetic BRS are thus of great functional relevance to the short-term control of AP. Future studies will have to examine whether these fluctuations are linked to changes in behavioral and emotional states. It would also be important to prolong the recording periods to investigate slow and long-lasting changes in sympathetic BRS that might possibly be linked to changes in homeostatic states.

ACKNOWLEDGMENTS

Present address of V. Oréa: Unité Mixte de Recherche Centre National de la Recherche Scientifique 5123, Physiologie Intégrative, Cellulaire et Moléculaire, Université Lyon 1, 8 rue Raphaël Dubois, 69622 Villeurbanne Cedex, France.

REFERENCES

1. Badra LJ, Cooke WH, Hoag JB, Crossman AA, Kuusela TA, Tahvanainen KU, Eckberg DL. Respiratory modulation of human autonomic rhythms. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 280: H2674–H2688, 2001.
2. Barrès C, Cheng Y, Julien C. Steady-state and dynamic responses of renal sympathetic nerve activity to air-jet stress in sinoaortic denervated rats. *Hypertension* 43: 629–635, 2004.
3. Barrès C, Lewis SJ, Jacob HJ, Brody MJ. Arterial pressure lability and renal sympathetic nerve activity are dissociated in SAD rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 263: R639–R646, 1992.
4. Bertram D, Barrès C, Cuisinaud G, Julien C. The arterial baroreceptor reflex of the rat exhibits positive feedback properties at the frequency of Mayer waves. *J Physiol* 513: 251–261, 1998.
5. Bertram D, Oréa V, Chapuis B, Barrès C, Julien C. Differential responses of frequency components of renal sympathetic nerve activity to arterial pressure changes in conscious rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 289: R1074–R1082, 2005.
6. Brown AM, Saum WR, Yasui S. Baroreceptor dynamics and their relationship to afferent fiber type and hypertension. *Circ Res* 42: 694–702, 1978.
7. Cerutti C, Barrès C, Paultre C. Baroreflex modulation of blood pressure and heart rate variabilities in rats: assessment by spectral analysis. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 266: H1993–H2000, 1994.
8. Chapuis B, Vidal-Petiot E, Oréa V, Barrès C, Julien C. Linear modelling analysis of baroreflex control of arterial pressure variability in rats. *J Physiol* 559: 639–649, 2004.
9. Cheng Y, Cohen B, Oréa V, Barrès C, Julien C. Baroreflex control of renal sympathetic nerve activity and spontaneous rhythms at Mayer wave's frequency in rats. *Auton Neurosci* 111: 80–88, 2004.
10. DiBona GF, Jones SY. Analysis of renal sympathetic nerve responses to stress. *Hypertension* 25: 531–538, 1995.
11. Eckberg DL, Kuusela TA. Human vagal baroreflex sensitivity fluctuates widely and rhythmically at very low frequencies. *J Physiol* 567: 1011–1019, 2005.
12. Fagius J, Wallin BG. Sympathetic reflex latencies and conduction velocities in normal man. *J Neurol Sci* 47: 433–448, 1980.
13. Fink GD, Kennedy F, Bryan WJ, Werber A. Pathogenesis of hypertension in rats with chronic aortic baroreceptor deafferentation. *Hypertension* 2: 319–325, 1980.
14. Franchini KG, Krieger EM. Carotid chemoreceptors influence arterial pressure in intact and aortic-denervated rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 262: R677–R683, 1992.
15. Goldman WF, Saum WR. A direct excitatory action of catecholamines on rat aortic baroreceptors in vitro. *Circ Res* 55: 18–30, 1984.
16. Häbler HJ, Bartsch T, Jänig W. Two distinct mechanisms generate the respiratory modulation in fibre activity of the rat cervical sympathetic trunk. *J Auton Nerv Syst* 61: 116–122, 1996.
17. Hatton DC, Brooks V, Qi Y, McCarron DA. Cardiovascular response to stress: baroreflex resetting and hemodynamics. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 272: R1588–R1594, 1997.
18. Hinojosa-Laborde C, Jones SY, DiBona GF. Hemodynamics and baroreflex function in rats with nephrotic syndrome. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 267: R953–R964, 1994.
19. Holstein-Rathlou NH, He J, Wagner AJ, Marsh DJ. Patterns of blood pressure variability in normotensive and hypertensive rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 269: R1230–R1239, 1995.
20. Ichinose M, Saito M, Wada H, Kitano A, Kondo N, Nishiyasu T. Modulation of arterial baroreflex control of muscle sympathetic nerve activity by muscle metaboreflex in humans. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 286: H701–H707, 2004.
21. Julien C. The enigma of Mayer waves: facts and models. *Cardiovasc Res* 70: 12–21, 2006.
22. Julien C, Chapuis B, Cheng Y, Barrès C. Dynamic interactions between arterial pressure and sympathetic nerve activity: role of arterial baroreceptors. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 285: R834–R841, 2003.
23. Julien C, Malpas SC, Stauss HM. Sympathetic modulation of blood pressure variability. *J Hypertens* 19: 1707–1712, 2001.
24. Kanbar R, Oréa V, Barrès C, Julien C. Baroreflex control of renal sympathetic nerve activity during air-jet stress in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 292: R362–R367, 2007.
25. Kawada T, Sugimachi M, Sato T, Miyano H, Shishido T, Miyashita H, Yoshimura R, Takaki H, Alexander J Jr, Sunagawa K. Closed-loop identification of carotid sinus baroreflex open-loop transfer characteristics in rabbits. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 273: H1024–H1031, 1997.
26. Kawada T, Shishido T, Inagaki M, Tatewaki T, Zheng C, Yanagiya Y, Sugimachi M, Sunagawa K. Differential dynamic baroreflex regulation of cardiac and renal sympathetic nerve activities. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 280: H1581–H1590, 2001.
27. Kawada T, Zheng C, Yanagiya Y, Uemura K, Miyamoto T, Inagaki M, Shishido T, Sugimachi M, Sunagawa K. High-cut characteristics of the baroreflex neural arc preserve baroreflex gain against pulsatile pressure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 282: H1149–H1156, 2002.
28. Kunitake T, Kannan H. Discharge pattern of renal sympathetic nerve activity in the conscious rat: spectral analysis of integrated activity. *J Neurophysiol* 84: 2859–2867, 2000.
29. Kuo TB, Yang CC. Sleep-related changes in cardiovascular neural regulation in spontaneously hypertensive rats. *Circulation* 112: 849–854, 2005.
30. Mandel DA, Schreihof AM. Central respiratory modulation of barosensitive neurons in rat caudal ventrolateral medulla. *J Physiol* 572: 881–896, 2006.
31. Meng XL, Rosenthal R, Rubin DB. Comparing correlated correlation coefficients. *Psychol Bull* 111: 172–175, 1992.
32. Miki K, Yoshimoto M, Tanimizu M. Acute shifts of baroreflex control of renal sympathetic nerve activity induced by treadmill exercise in rats. *J Physiol* 548: 313–322, 2003.
33. Nagura S, Sakagami T, Kakiuchi A, Yoshimoto M, Miki K. Acute shifts in baroreflex control of renal sympathetic nerve activity induced by REM sleep and grooming in rats. *J Physiol* 558: 975–983, 2004.
34. Nakazato T, Shikama T, Toma S, Nakajima Y, Masuda Y. Nocturnal variation in human sympathetic baroreflex sensitivity. *J Auton Nerv Syst* 170: 32–37, 1998.
35. Ohta H, Talman WT. Baroreceptors in the carotid sinus contribute to arterial baroreceptor reflexes in normotensive rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol Suppl* 22: S62–S63, 1995.
36. Oosting J, Struijker-Boudier HA, Janssen BJ. Validation of a continuous baroreceptor reflex sensitivity index calculated from spontaneous fluctuations of blood pressure and pulse interval in rats. *J Hypertens* 15: 391–399, 1997.
37. Oréa V, Kanbar R, Chapuis B, Barrès C, Julien C. Transfer function analysis between arterial pressure and renal sympathetic nerve activity at cardiac pacing frequencies in the rat. *J Appl Physiol* 102: 1034–1040, 2007.
38. Osborn JW, England SK. Normalization of arterial pressure after barodenervation: role of pressure natriuresis. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 259: R1172–R1180, 1990.
39. Parati G, Di Rienzo M, Mancia G. How to measure baroreflex sensitivity: from the cardiovascular laboratory to daily life. *J Hypertens* 18: 7–19, 2000.
40. Parati G, Frattola A, Di Rienzo M, Castiglioni P, Pedotti A, Mancia G. Effects of aging on 24-h dynamic baroreceptor control of heart rate in

- ambulant subjects. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 268: H1606–H1612, 1995.
41. **Persson PB.** Spectrum analysis of cardiovascular time series. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 273: R1201–R1210, 1997.
 42. **Petiot E, Barrès C, Chapuis B, Julien C.** Frequency response of renal sympathetic nervous activity to aortic depressor nerve stimulation in the anaesthetized rat. *J Physiol* 537: 949–959, 2001.
 43. **Peveler RC, Bergel DH, Robinson JL, Sleight P.** The effect of phenylephrine upon arterial pressure, carotid sinus radius and baroreflex sensitivity in the conscious greyhound. *Clin Sci (Lond)* 64: 455–461, 1983.
 44. **Rondon E, Brasileiro-Santos MS, Moreira ED, Rondon MU, Mattos KC, Coelho MA, Silva GJ, Brum PC, Fiorino P, Irigoyen MC, Krieger EM, Middlekauff HR, Negrao CE.** Exercise training improves aortic depressor nerve sensitivity in rats with ischemia-induced heart failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 291: H2801–H2806, 2006.
 45. **Rudas L, Crossman AA, Morillo CA, Halliwill JR, Tahvanainen KU, Kuusela TA, Eckberg DL.** Human sympathetic and vagal baroreflex responses to sequential nitroprusside and phenylephrine. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 276: H1691–H1698, 1999.
 46. **Simms AE, Paton JF, Pickering AE.** Hierarchical recruitment of the sympathetic and parasympathetic limbs of the baroreflex in normotensive and spontaneously hypertensive rats. *J Physiol* 579: 473–486, 2007.
 47. **Tank J, Diedrich A, Szczech E, Luft FC, Jordan J.** Baroreflex regulation of heart rate and sympathetic vasomotor tone in women and men. *Hypertension* 45: 1159–1164, 2005.
 48. **Taylor JA, Carr DL, Myers CW, Eckberg DL.** Mechanisms underlying very-low-frequency RR-interval oscillations in humans. *Circulation* 98: 547–555, 1998.
 49. **Van de Vooren H, Gademan MG, Swenne CA, Ten Voorde BJ, Schalij MJ, Van der Wall EE.** Baroreflex sensitivity, blood pressure buffering and resonance: what are the links? Computer simulation of healthy subjects and heart failure patients. *J Appl Physiol* 102: 1348–1356, 2007.
 50. **Van den Buuse M, Head GA.** Quinpirole treatment increases renal sympathetic nerve activity and baroreflex gain in conscious rabbits: a spectral study. *Eur J Pharmacol* 388: 85–88, 2000.
 51. **Wallin BG, Sundlöf G.** A quantitative study of muscle nerve sympathetic activity in resting normotensive and hypertensive subjects. *Hypertension* 1: 67–77, 1979.



CHAPITRE - VII

CONTRÔLE BARORÉFLEXE DES ACTIVITÉS NERVEUSES SYMPATHIQUES RÉNALE ET LOMBAIRE CHEZ LE RAT CONSCIENT

Article : Baroreflex control of lumbar and renal sympathetic nerve activity in conscious rats.

Kanbar R, Chapuis B, Oréa V, Barrès C, Julien C.

Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 295: R8-R14, 2008.

Le baroréflexe artériel joue un rôle majeur dans le contrôle de la PA, en modulant en permanence l'ANS et donc les résistances vasculaires périphériques. L'exploration fonctionnelle du système nerveux sympathique repose souvent sur des mesures de l'ANS musculaire chez l'Homme (*Wallin & Charkoudian 2007*) et de l'ANS rénale chez le rat (*Julien et al. 2008*). Il convient donc d'examiner si le contrôle baroréflexe des différentes activités sympathiques régionales s'exerce d'une manière uniforme. Dans ce contexte, l'objectif de ce travail est de comparer le contrôle baroréflexe de l'ANS rénale et lombaire chez le rat vigile et non restreint. La chaîne lombaire au niveau de L3-L4 contient des axones sympathiques qui innervent majoritairement la circulation musculaire des pattes postérieures.

Chez 6 rats vigils, la PA, et les ANSs rénale et lombaire sont simultanément enregistrées pendant une période de base et pendant l'administration séquentielle de nitroprussiate de sodium et de phényléphrine. Le contrôle baroréflexe des deux activités sympathiques est étudié en utilisant, d'une part la méthode pharmacologique, et d'autre part la méthode spontanée qui permet une mesure continue de la sensibilité du baroréflexe sympathique (Chapitre VI). Les caractéristiques des relations baroréflexes sont obtenues en ajustant une courbe sigmoïde aux couples de valeurs de PA et d'ANS obtenues au cours de l'administration des agents vasoactifs. L'index spontané de sensibilité baroréflexe est calculé comme le gain de la fonction de transfert reliant la PA et chacune des deux ANS à la fréquence du battement cardiaque durant la période de base.

Le gain de la fonction de transfert n'est considéré que si la cohérence entre la PA et chaque ANS est significativement différente de zéro. Ceci est vérifié dans 99 ± 1 et 96 ± 3 % du temps pour l'ANS lombaire et rénale, respectivement. La moyenne des gains des fonctions de transfert calculée au cours de la période de base (219 min, 3 h 39 min) est plus faible pour l'ANS lombaire que l'ANS rénale. La méthode pharmacologique montre aussi une sensibilité maximale plus faible pour le contrôle baroréflexe de l'ANS lombaire que pour celui de l'ANS rénale. Pendant la période de base, les gains de la fonction de transfert des deux activités nerveuses sympathiques montrent des fluctuations marquées en fonction du temps. Ces fluctuations sont positivement corrélées chez 5 des 6 rats étudiés.

Ces résultats montrent que, chez le rat vigile, le contrôle baroréflexe de l'ANS lombaire et rénale est quantitativement différent. Cependant, il est modulé d'une manière homogène la plupart du temps. Les études futures devront examiner la cause de ces fluctuations spontanées de gain des deux ANSs, notamment, en étudiant l'effet des changements d'état comportemental.

CALL FOR PAPERS | *Physiological and Molecular Mechanisms Implicated in the Neural Control of Circulation*

Baroreflex control of lumbar and renal sympathetic nerve activity in conscious rats

Roy Kanbar, Bruno Chapuis, Valérie Oréa, Christian Barrès, and Claude Julien

Université de Lyon, Lyon, F-69008, France; Université Lyon 1, Lyon, F-69008, France, Centre National de la Recherche Scientifique FRE 3075

Submitted 29 February 2008; accepted in final form 30 April 2008

Kanbar R, Chapuis B, Oréa V, Barrès C, Julien C. Baroreflex control of lumbar and renal sympathetic nerve activity in conscious rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 295: R8–R14, 2008. First published April 30, 2008; doi:10.1152/ajpregu.00147.2008.— This study compared the baroreflex control of lumbar and renal sympathetic nerve activity (SNA) in conscious rats. Arterial pressure (AP) and lumbar and renal SNA were simultaneously recorded in six freely behaving rats. Pharmacological estimates of lumbar and renal sympathetic baroreflex sensitivity (BRS) were obtained by means of the sequential intravenous administration of sodium nitroprusside and phenylephrine. Sympathetic BRS was significantly ($P < 0.05$) lower for lumbar [3.0 ± 0.4 normalized units (NU)/mmHg] than for renal (7.6 ± 0.6 NU/mmHg) SNA. During a 219-min baseline period, spontaneous lumbar and renal BRS were continuously assessed by computing the gain of the transfer function relating AP and SNA at heart rate frequency over consecutive 61.4-s periods. The transfer gain was considered only when coherence between AP and SNA significantly differed from zero, which was verified in 99 ± 1 and $96 \pm 3\%$ of cases for lumbar and renal SNA, respectively. When averaged over the entire baseline period, spontaneous BRS was significantly ($P < 0.05$) lower for lumbar (1.3 ± 0.2 NU/mmHg) than for renal (2.3 ± 0.3 NU/mmHg) SNA. For both SNAs, spontaneous BRS showed marked fluctuations (variation coefficients were 26 ± 2 and $28 \pm 2\%$ for lumbar and renal SNA, respectively). These fluctuations were positively correlated in five of six rats ($R = 0.44 \pm 0.06$; $n = 204 \pm 8$; $P < 0.0001$). We conclude that in conscious rats, the baroreflex control of lumbar and renal SNA shows quantitative differences but is modulated in a mostly coordinated way.

arterial pressure; baroreceptor reflex; sympathetic nervous system; transfer function

THE ARTERIAL BARORECEPTOR reflex plays a major role in the short-term control of arterial pressure (AP) mainly through the modulation of efferent sympathetic nerve activity (SNA) to regional circulations (12). In rats, studies aimed at characterizing the baroreflex control of SNA under physiological conditions, i.e., in the conscious state, have been based mostly on recordings of renal SNA (RSNA; 3, 5, 7, 10, 13, 16, 20, 23, 25), mainly because of the purely postganglionic nature of this activity. Most often, authors implicitly assumed that RSNA provided a reliable reflection of other regional SNAs. In the meantime, evidence has accumulated suggesting a differential

baroreflex control of regional SNAs in several animal species (22). In the rat, the comparison of the baroreflex control of regional SNAs has been carried out in urethane-chloralose anesthetized animals by using the vasoactive drug injection technique, i.e., the so-called pharmacological method (29, 30). In these studies, it was reported that the characteristics of the baroreflex function curves differed between RSNA, lumbar SNA (LSNA), and adrenal SNA. In conscious rats, this information has not been obtained.

Recently, the concept has emerged that the characteristics of the baroreflex control of SNA might continuously change as part of normal autonomic responses accompanying natural behaviors (23), physical exercise (20), and exposure to emotional stress (13). All these data were obtained using the pharmacological method. Although this method is a valuable tool to describe the characteristics of the baroreflex function curves, it suffers from some important limitations. First, a proper use of the method requires stationary conditions, i.e., it should be applied only when changes in cardiovascular variables have reached a steady state. Secondly, its temporal resolution is low (several minutes or tens of minutes). For these reasons, the pharmacological method is not suitable for capturing dynamic and short-lasting changes in the functional characteristics of the sympathetic baroreceptor reflex. To circumvent these limitations, we have recently described a new method to assess the renal sympathetic baroreflex sensitivity (BRS) that does not necessitate the administration of vasoactive drugs. It is based on the computation of the gain of the transfer function relating RSNA and AP at heart rate (HR) frequency (24). The method has been validated in partially (aortic) baroreceptor denervated rats (14). One major advantage of the method is that its temporal resolution is about 1 min. Therefore, it provides a continuous estimate of sympathetic BRS and has already been used to show that the renal BRS exhibits minute-to-minute spontaneous variations (14).

The objective of the present study was to compare the baroreflex control of RSNA and LSNA in the same conscious rats. The lumbar nerve was chosen because it innervates mainly the skeletal muscle circulation of the hindlimb (1, 32). The majority of studies performed in humans are based on

Address for reprint requests and other correspondence: R. Kanbar, Laboratoire de Physiologie, Faculté de Pharmacie, 8, Ave. Rockefeller, 69373 Lyon Cedex 08, France (e-mail: roy.kanbar@sante.univ-lyon1.fr).

The costs of publication of this article were defrayed in part by the payment of page charges. The article must therefore be hereby marked "advertisement" in accordance with 18 U.S.C. Section 1734 solely to indicate this fact.

recordings of muscle SNA from the peroneal nerve in the leg. Comparing the baroreflex control of LSNA and RSNA is therefore clinically relevant. LSNA and RSNA were simultaneously recorded in conscious freely moving rats. Pharmacological estimates of the sympathetic BRS were obtained by means of the sequential administration of sodium nitroprusside and phenylephrine (7, 13). Spontaneous renal and lumbar BRS were assessed with the transfer function method (14).

METHODS

Animals and surgery. Experiments were performed on 10- to 12-wk-old male Sprague-Dawley rats (Charles River Laboratories, L'Arbresle, France) and were approved by the local Animal Ethics Committee.

One day before the study, rats ($n = 6$) were anesthetized with isoflurane (2% in oxygen) and received an injection of penicillin G (50,000 IU sc). Femoral arterial and venous polyethylene catheters were then inserted. Rats were reanesthetized 4 to 6 h later, with pentobarbital sodium (60 mg/kg iv, supplemented with 10 mg/kg iv as needed) and received an injection of ketoprofen (5 mg/kg ip). The lumbar chains were accessed through a midline abdominal incision after gentle retraction of the abdominal aorta and vena cava. One of the chains was dissected and placed on a bipolar electrode at the L3-L4 level. The nerve-electrode preparation was embedded in a silicone gel and fixed to the surrounding tissue with α -cyanoacrylate glue, as described by Miki et al. (19). The electrode cable was sutured to the psoas muscle and guided subcutaneously to exit at the back of the neck at the same site as the catheters. The abdominal wall was then closed in layers and the rat was turned onto its right side. Through a flank incision, a branch of the left renal nerve was dissected, and a recording electrode was implanted as previously described in detail (7, 13, 14). The electrode cable was also exteriorized at the back of the neck. Both catheter ends and electrode plugs were protected in a small cap sewn to the skin. Each electrode had a separate ground wire that was left under the skin. Rats were allowed to recover from anesthesia and surgery during 16 to 18 h in the recording room before starting the study.

Data collection and experimental protocol. AP was measured using a pressure transducer (model TNF-R; Becton Dickinson, Sandy, UT) coupled to an amplifier (model 13-4615-52; Gould, Cleveland, OH). Both SNAs were band-pass filtered (300–3,000 Hz) and amplified with a gain of 100,000 (model P-511J; Grass, Quincy, MA). AP and SNA signals were sampled at 500 and 10,000 Hz, respectively, by a computer equipped with a 12-bit A/D converter (model AT-MIO-16; National Instruments, Austin, TX) and LabView 5.0 software (National Instruments).

After an acclimatization period, AP, LSNA, and RSNA were continuously recorded for ~4 h. Thereafter, the baroreflex control of LSNA and RSNA was assessed in awake, resting animals by means of sequential intravenous injections of sodium nitroprusside (100 μ g/kg) and phenylephrine (50 μ g/kg/min for 1 min), as previously described (13). Finally, the mean level of LSNA and RSNA was recorded after administration of the ganglionic blocker chlorisondamine (2.5 mg/kg iv). As the lumbar and renal nerves were not cut distal to the electrode, both remaining SNAs incorporated afferent nerve activity, if present. On completion of the experiment, rats were euthanized with an intravenous overdose of pentobarbital sodium and the residual electrical activities were recorded for an additional 20-min period, which provided estimates of the background noise.

Off-line data analysis. SNA signals were full-wave rectified, low-pass filtered (cut-off frequency: 150 Hz), and resampled at 5,000 Hz with LabView 6i software. For each SNA, the corresponding background noise was subtracted from the time series. The spontaneous sympathetic BRS were calculated as previously described (14). AP, LSNA, and RSNA were resampled at 50 Hz and time series were

segmented into 512-point (10.24 s) consecutive data sets. Coherence and transfer functions were calculated between AP (input signal) and SNA (output signal) over 11 segments overlapping by one-half (total duration of 61.4 s) using a fast Fourier transform algorithm. Auto-spectra of AP served to locate the frequency at which maximum power spectral density occurred in the frequency band encompassing HR (usually 5–8 Hz). For each SNA, coherence, gain, and phase were noted at this particular frequency. Only gain and phase values associated with a significant coherence (0.348 at $P < 0.05$) (2) were retained for further calculations. In each rat, the mean of the coherence and transfer gain and phase were calculated over a 219-min baseline period, which yielded a maximum of 213 values (in case all coherence values were significant). The mean LSNA and RSNA values were calculated over the same 219-min period and were used as reference values (set to 100%) for normalizing SNA data in spontaneous gain computations.

Pharmacological estimates of the sympathetic BRS were obtained by fitting a sigmoid function to AP-LSNA and AP-RSNA data pairs collected from the beginning of the nitroprusside-induced fall in AP up to the maximum phenylephrine-induced rise in AP (7). This was possible because each SNA followed similar trajectories during the falling and rising phases of AP, i.e., there was no apparent hysteresis in the sympathetic responses. AP, LSNA, and RSNA time series were resampled at 1 Hz by averaging over consecutive 1-s periods. For each SNA, data were normalized by their respective mean value calculated over the 2-min period preceding baroreflex testing (set to 100%). A four-parameter logistic function was then fitted to AP-SNA data pairs (SigmaPlot 2000; SPSS, Chicago, IL) by an interactive least-squares procedure: $SNA = P_1 / \{1 + \exp[P_2(AP - P_3)]\} + P_4$, where P_1 is the full range of SNA variation, P_2 is a slope coefficient, P_3 is AP at one-half the SNA range, and P_4 is the lower plateau of the curve. From these parameters, the upper plateau ($P_1 + P_4$), the threshold AP ($P_3 - 2/P_2$), the saturation AP ($P_3 + 2/P_2$), and the operating range (saturation pressure – threshold pressure) were derived (6, 13). Threshold and saturation AP values lay 11.9% (of the SNA range) below and above the upper and lower plateaus, respectively (18). The operating range indicates the range of AP over which SNA is responsive. The first derivative of the sigmoid function was computed to determine the baroreflex gain across the full range of AP variation, including the maximum gain (measured at P_3) and the operational gain (measured at the reference AP, i.e., the 2-min average value before baroreflex testing). Only the absolute values of gain are presented.

Statistics. All data are presented as means \pm SE. Statistical comparisons were performed using the Wilcoxon signed-rank test.

RESULTS

Cardiovascular variables. Rats displayed normal behavior, notably eating, drinking, grooming, and resting during the whole recording session. During the 219-min baseline period, mean values of AP and HR were 109 ± 2 mmHg and 389 ± 13 beats/min, respectively. The mean LSNA and RSNA levels were 4.5 ± 0.8 μ V and 1.1 ± 0.3 μ V, respectively. After chlorisondamine administration, the RSNA level did not significantly differ from postmortem activity. By contrast, the LSNA level remained 0.39 ± 0.08 μ V above postmortem activity.

Pharmacological assessment of baroreflex control of regional SNAs. Fig. 1 shows an example of the reflex responses of LSNA and RSNA to drug-induced changes in AP. The sigmoid equation could be fitted satisfactorily to each set of AP-SNA data pairs, as indicated by highly significant, similar coefficients of determination (Fig. 1D and Table 1). Overall, LSNA appeared less reactive to AP changes than RSNA (Fig.

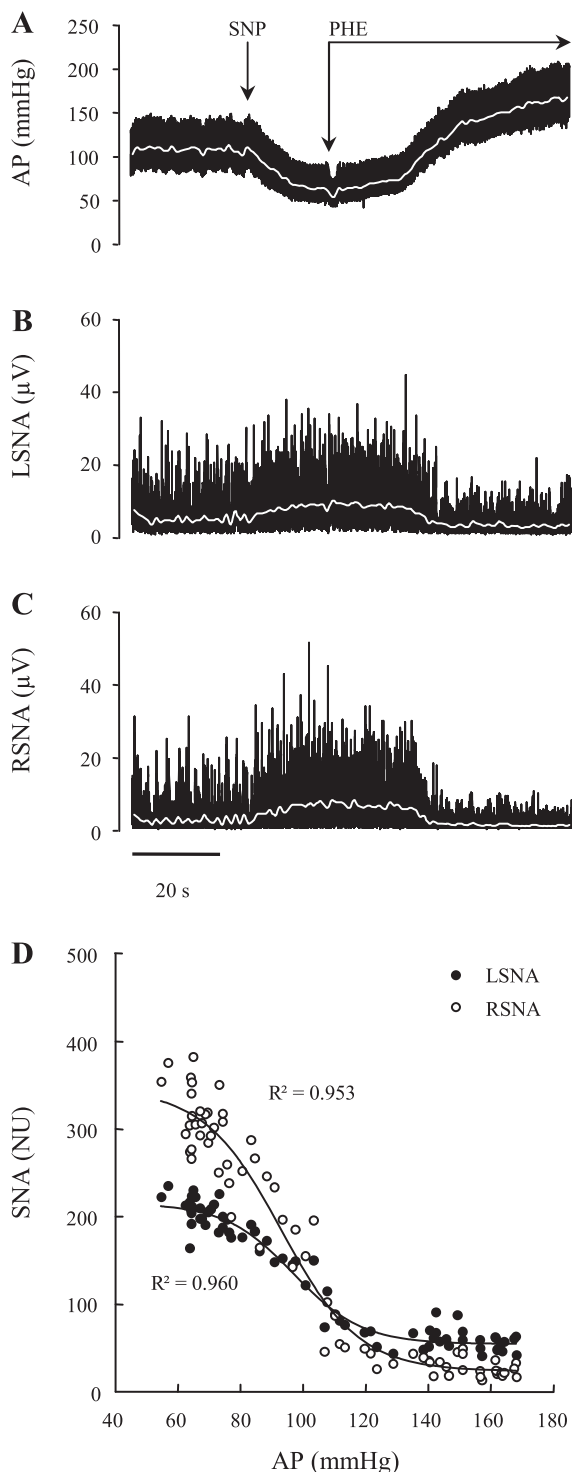


Fig. 1. Original recordings of arterial pressure (AP) (A), lumbar (L; B), and renal (R; C) sympathetic nerve activity (SNA) during sequential administration of sodium nitroprusside (SNP) and phenylephrine (PHE) in 1 conscious rat. White traces show mean values averaged over 1 s. D: baroreflex function curves fitted to 1-s mean values of SNAs taken from the SNP bolus injection to the end of PHE infusion. For each SNA, the background noise has been subtracted, and data have been normalized by a reference value calculated over the 2 min preceding baroreflex testing. NU, normalized units; R^2 , coefficient of determination (observed vs. predicted values).

Table 1. Characteristics of AP-LSNA and AP-RSNA baroreflex function curves

	AP-LSNA	AP-RSNA	<i>P</i> Values
<i>Fitted model parameters</i>			
R^2	0.912 ± 0.022	0.919 ± 0.017	0.4631
P_1 , NU	124 ± 9	329 ± 40	0.0277
P_2 , mmHg ⁻¹	0.099 ± 0.010	0.095 ± 0.007	0.4631
P_3 , mmHg	97 ± 1	91 ± 2	0.0277
P_4 , NU	62 ± 5	18 ± 6	0.0277
<i>Derived model parameters</i>			
Upper plateau, NU	186 ± 9	348 ± 37	0.0277
Threshold AP, mmHg	76 ± 2	69 ± 3	0.1730
Saturation AP, mmHg	119 ± 3	113 ± 1	0.1159
Operating range, mmHg	43 ± 4	43 ± 3	0.4631
Maximum gain, NU/mmHg	3.0 ± 0.4	7.6 ± 0.6	0.0277
Operational gain, NU/mmHg	2.4 ± 0.3	4.7 ± 0.6	0.0277

Values are means \pm SE ($n = 6$ rats). AP-LSNA, arterial pressure-lumbar sympathetic nerve activity; AP-RSNA, arterial pressure-renal sympathetic nerve activity; R^2 , coefficient of determination; P_1 , SNA range; P_2 , slope coefficient; P_3 , AP at midrange; P_4 , lower plateau; NU, normalized units. *P* values refer to comparisons between parameters of LSNA and RSNA baroreflex function curves.

1). This was reflected in a lesser maximum reflex sympathoexcitation and a lesser maximum reflex sympathoinhibition (Fig. 2A), which resulted in a range-dependent decrease in the maximum gain for LSNA compared with RSNA (Fig. 2B and Table 1). The operational gain was also lower for LSNA than for RSNA. On the other hand, the operating range of baroreflex function curves did not differ between LSNA and RSNA (Table 1).

Assessment of baroreflex control of regional SNAs by the transfer function method. Frequency of the AP spectral peak was 6.5 ± 0.2 Hz. At this frequency, coherence between AP and either RSNA or LSNA was almost always significant (Table 2). These significant coherence values were usually high (Fig. 3C), so that reliable gain and phase values could be computed. The spontaneous index of sympathetic BRS was lower for LSNA than for RSNA (Table 2). The phase of the transfer function at HR frequency was significantly lower (more negative) for LSNA than for RSNA (Table 2), suggesting that LSNA lagged behind RSNA by ~ 20 ms.

Correlation analysis. Both transfer gains showed large variability over time (Fig. 3A). Variation coefficients were 26 ± 2 and $28 \pm 2\%$ for LSNA and RSNA transfer gain, respectively. Variations of LSNA and RSNA transfer gain were positively correlated in five of six rats ($R = 0.44 \pm 0.06$; $n = 204 \pm 8$; $P < 0.0001$ in all 5 cases) (Fig. 3D). In one rat, the correlation did not reach significance ($R = 0.071$; $n = 200$; $P = 0.3161$), due to a few outlying points that were characterized by increases in LSNA transfer gain associated with either no change or a decrease in RSNA gain. Opposite variations of the transfer gains were sometimes associated with a slight increase in AP, a decrease in HR, an increase in the LSNA level, and a decrease in the RSNA level. After removing data pairs associated with this particular pattern of cardiovascular variations ($n = 12$), the correlation between transfer gains became significant ($R = 0.30$; $n = 188$; $P < 0.0001$).

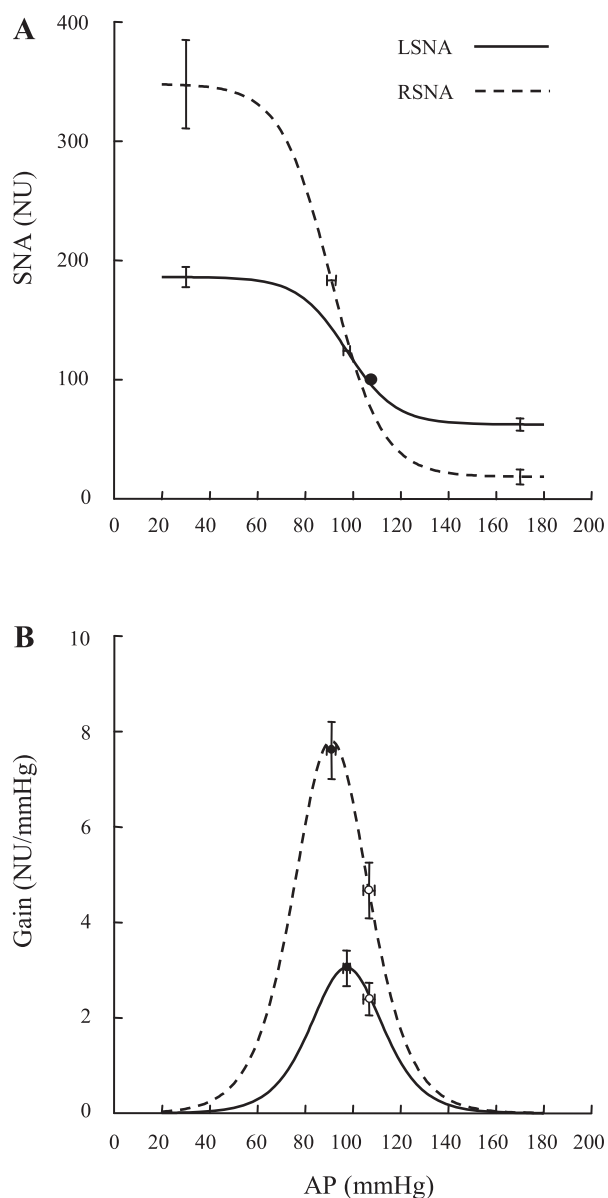


Fig. 2. Baroreflex relationships between AP and LSNA and between AP and RSNA determined under resting conditions in the same conscious rats ($n = 6$). Group average parameters were used to generate baroreflex function curves (A) and their first derivative (B). In A, error bars show SE for the upper and lower plateaus and for AP at midrange of the curve (P_3). The filled circle shows the reference AP-SNA data pair. For both SNAs, the reference value = 100 NU by definition. In B, black and white circles show the maximum and operational (measured at reference AP) gains, respectively.

DISCUSSION

In this study, we compared the baroreflex control of LSNA and RSNA in the same conscious rats. The pharmacological method provided a description of the entire baroreflex function curves and demonstrated noticeable differences in some of their characteristics, especially a range-dependent decrease in lumbar BRS compared with renal BRS. The spontaneous BRS index derived from transfer function analysis confirmed the decreased lumbar BRS and allowed extending this observation to most of its spontaneous fluctuations over time. In most cases, however, these fluctuations were positively correlated

with those of renal BRS, which indicates that the baroreflex control of both regional SNAs is essentially coordinated.

Methodological issues. Surgery for electrode implantation was performed in two steps. We did not succeed in chronically implanting both electrodes through a single approach, either abdominal or retroperitoneal. In addition, the recovery time from surgery was relatively short when considering the extensive surgery rats underwent. In our hands, the recording of both SNAs at 24 h postsurgery was possible in about one-half of the rats having acutely recordable signals. This percentage was drastically reduced at 48 h postsurgery. Notwithstanding these limitations, it should be noted that rats of the present study showed reasonably low HR values (<400 beats/min), which is a good indicator of an acceptable level of surgical stress, possibly owing to the administration of a long-acting nonsteroidal anti-inflammatory drug before surgery. It is important to note that this class of drugs has been reported not to impair the baroreceptor sensitivity in rats (28) or the sympathetic BRS in humans (21).

The normalization procedure is an important issue that should be considered when comparing results from different studies. For each SNA, we assigned the value 100% to a mean level recorded over 219 min under baseline conditions for spontaneous BRS computation, and during 2 min of rest for pharmacological baroreflex testing. Under these conditions, any spontaneous or evoked change reflected a variation around the mean. In a recent study performed on conscious rabbits (27), baroreflex function curves for lumbar and RSNA were compared, and the conclusion drawn was that BRS did not differ between the two SNAs. In this study, the background noise level was taken as the minimum SNA level observed during phenylephrine infusion, and data were normalized by the maximum value reached during sodium nitroprusside infusion. Consequently, the SNA range was constrained to 100% for both SNAs so that the gain only depended on the slope coefficient P_2 . In the present study, it was observed first that phenylephrine was far from eliminating discharges in LSNA, and secondly that sodium nitroprusside induced much more robust increases in RSNA than in LSNA (Fig. 1). With the normalization procedure used, the range of SNA variation was smaller for LSNA than for RSNA, which accorded with the visual inspection of raw data. As a consequence, and although the slope coefficient P_2 did not differ between the two SNAs, the LSNA gain was markedly lower than the RSNA gain, which is in agreement with previous studies in anesthetized rats (29, 30).

Physiological issues. SNA was recorded from the lumbar chain at the L3-L4 level assuming that sympathetic nerves at this level mostly innervate blood vessels in skeletal muscles of the hindlimb. This assumption is supported by anatomical (1,

Table 2. Characteristics of AP-LSNA and AP-RSNA coherence and transfer functions at HR frequency

	AP-LSNA	AP-RSNA	P Values
%Occurrence of significant coherence values	99 ± 1	96 ± 3	0.3430
Mean of significant coherence values	0.85 ± 0.02	0.81 ± 0.02	0.1730
Transfer function phase, degrees	-81 ± 7	-34 ± 3	0.0277
Transfer function gain, NU/mmHg	1.3 ± 0.2	2.3 ± 0.3	0.0277

Values are means ± SE ($n = 6$ rats). P values refer to comparisons between indices of baroreflex control for LSNA and RSNA.

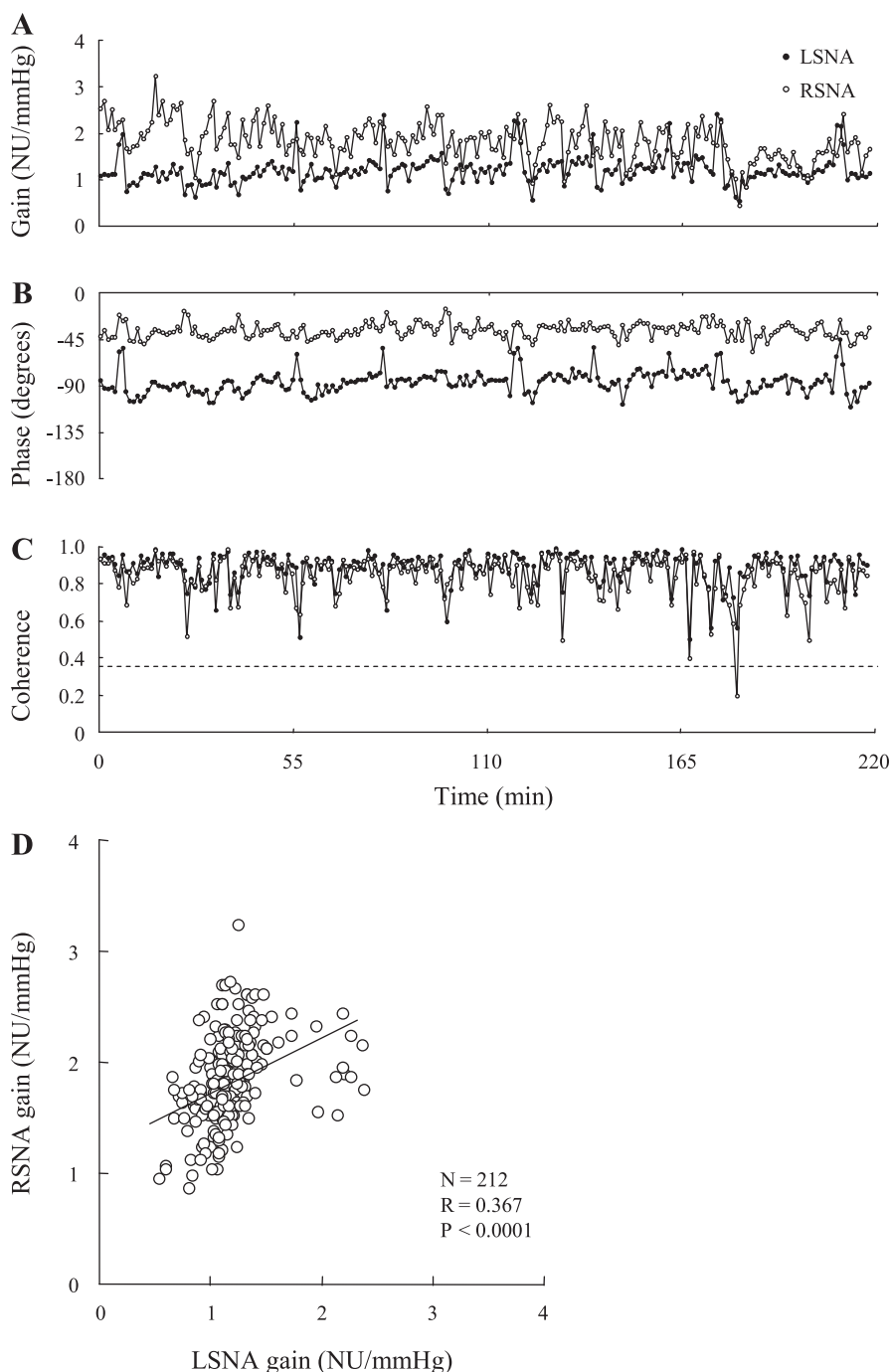


Fig. 3. Example of chronograms of spontaneous indices of lumbar and renal sympathetic baroreflex sensitivity (BRS). Transfer function gains (A) and phases (B) were computed over 213 adjacent 61.4-s periods. C: horizontal dotted line shows the significance threshold ($P < 0.05$) for coherence. D: linear regression analysis between LSNA and RSNA transfer function gains. Note that 1 value of RSNA gain was associated with a nonsignificant coherence and thus was eliminated from further calculations. For each SNA, all gain values were normalized by the corresponding mean SNA level calculated over the entire recording period.

32) and functional (15, 19) studies. In particular, Miki et al. (19) found an inverse relationship between LSNA and iliac vascular conductance during the various stages of sleep in rats. An inverse relationship with triceps surae muscle vascular conductance was also found during the early stage of fictive locomotion induced by electrical stimulation of the mesencephalic locomotor region in decerebrate, paralyzed rats (15). However, it should not be ignored that a small proportion of cutaneous nerve fibers is present in the lumbar chain at this level (11, 31). Regarding the post- vs. preganglionic nature of LSNA, it is of note that the residual LSNA recorded after ganglionic blockade amounted to almost 10% of baseline

activity, which would point to a significant contribution from preganglionic axons to overall LSNA, in accordance with a previous study (29). However, this contribution is probably overestimated because of the reflex increase in preganglionic SNA that was elicited by the large AP fall caused by ganglionic blockade. In the present study, it was indeed observed that, after chlorisondamine administration, residual LSNA could be almost halved by raising AP above baseline levels with a phenylephrine infusion (data not shown).

Baroreflex control of regional SNAs. LSNA showed a strong rhythmicity at HR frequency that was strongly correlated to the cardiac beat as shown by the high coherence values observed

between AP and LSNA. These values were comparable to those observed between AP and RSNA, and thus allowed calculating a reliable spontaneous BRS index for both SNAs. This method allowed demonstrating that both lumbar and renal spontaneous BRSs fluctuate widely over time. These variations are probably dependent, at least in part, on the behavioral state of the rats (13, 19, 20, 23). Most of the time, spontaneous fluctuations of the renal and lumbar indices of sympathetic BRS were positively correlated. However, opposite variations were sometimes observed. This was particularly apparent in one rat that did not show a significant correlation between the two BRS indices. This was mainly due to outlying points that corresponded to situations when increases in LSNA gain were associated with decreases in RSNA gain. During these periods, it was observed that AP slightly increased, while HR decreased, LSNA slightly increased, and RSNA decreased. This particular pattern of cardiovascular changes has been shown to occur during rapid eye movement sleep in rats (19, 23).

Both methods for assessing sympathetic baroreflex control revealed a significantly lower BRS for LSNA than for RSNA, which is in agreement with earlier observations in anesthetized rats (29, 30). It is known that most, if not all, renal sympathetic nerve fibers are responsive to the stimulation of arterial baroreceptors (9, 25). On the other hand, the lumbar sympathetic chain contains a proportion of cutaneous nerve fibers that are poorly barosensitive (11). It is therefore possible that cutaneous SNA would lower overall BRS measured at the level of the lumbar chain.

Machado et al. (17) reported that electrical stimulation of the aortic depressor nerve produces a large reduction in hindlimb vascular resistance with little or no change in renal vascular resistance, thus suggesting that aortic baroreceptors play a predominant role in the regulation of hindlimb vascular resistance in rats. This is in apparent disagreement with the results of the present study, which point to a more powerful baroreflex control of RSNA than of LSNA. Although the reasons for this discrepancy are unclear, it might be suggested that sympathetic withdrawal is not the sole mechanism of baroreflex vasodilatations in the hindlimb circulation and that active phenomena are also involved. It has indeed been shown that the hindlimb circulation of the rat receives a nitroxidergic innervation (8) that might be, at least partly, under baroreflex control (26). During stimulation of the aortic depressor nerve, both sympathetic withdrawal and active neurogenic vasodilatation could act in concert, evoking stronger vasodilatory effects in the hindlimbs than in the kidney.

Relationships between SNA and vascular conductance are not necessarily identical between different vascular beds, i.e., a given change in SNA will not necessarily result in identical changes in vascular conductance. Pharmacological studies indicate that the hindquarter circulation of the conscious rat is less sensitive to the vasoconstrictor effects of exogenously administered norepinephrine than the renal circulation (4). It remains, however, that in conscious rats, both iliac and renal vascular conductance are inversely related to LSNA and RSNA, respectively (19, 33).

Perspectives and Significance

Owing to the simultaneous recording of LSNA and RSNA in conscious rats, and to the use of pharmacological and spontaneous approaches, we have shown that the sympathetic BRS is lower when assessed using LSNA than when using RSNA. In

addition, the study shows that renal and lumbar BRS fluctuate widely over time and that these spontaneous fluctuations are mostly coordinated. The mechanism and physiological significance of these fluctuations, however, remains to be established. In particular, further studies are needed to clarify the effect of behavior on the baroreflex control of regional SNAs and its modulation.

GRANTS

This study was partially funded by the French Society of Hypertension.

REFERENCES

1. Baron R, Jänig W, Kollmann W. Sympathetic and afferent somata projecting in hindlimb nerves and the anatomical organization of the lumbar sympathetic nervous system of the rat. *J Comp Neurol* 275: 460–468, 1988.
2. Barrès C, Cheng Y, Julien C. Steady-state and dynamic responses of renal sympathetic nerve activity to air-jet stress in sinoaortic denervated rats. *Hypertension* 43: 629–635, 2004.
3. Barrès C, Lewis SJ, Jacob HJ, Brody MJ. Arterial pressure lability and renal sympathetic nerve activity are dissociated in SAD rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 263: R639–R646, 1992.
4. Bennett T, Mahajan RP, March JE, Kemp PA, Gardiner SM. Regional and temporal changes in cardiovascular responses to norepinephrine and vasopressin during continuous infusion of lipopolysaccharide in conscious rats. *Br J Anaesth* 93: 400–407, 2004.
5. Burgess DE, Zimmerman TA, Wise MT, Li SG, Randall DC, Brown DR. Low-frequency renal sympathetic nerve activity, arterial BP, stationary “1/f noise,” and the baroreflex. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 277: R894–R903, 1999.
6. Chen HI, Chang KC. Assessment of threshold and saturation pressure in the baroreflex function curve: a new mathematical analysis. *Jpn J Physiol* 41: 861–877, 1991.
7. Cheng Y, Cohen B, Oréa V, Barrès C, Julien C. Baroreflex control of renal sympathetic nerve activity and spontaneous rhythms at Mayer wave’s frequency in rats. *Auton Neurosci* 111: 80–88, 2004.
8. Davisson RL, Possas OS, Murphy SP, Lewis SJ. Neurogenically derived nitrosyl factors mediate sympathetic vasodilation in the hindlimb of the rat. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 272: H2369–H2376, 1997.
9. DiBona GF, Sawin LL, Jones SY. Differentiated sympathetic neural control of the kidney. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 271: R84–R90, 1996.
10. Grisk O, DiBona GF. Influence of arterial baroreceptors and intracerebroventricular guanabenz on synchronized renal nerve activity. *Acta Physiol Scand* 163: 209–218, 1998.
11. Häbler HJ, Jänig W, Krummel M, Peters OA. Reflex patterns in postganglionic neurons supplying skin and skeletal muscle of the rat hindlimb. *J Neurophysiol* 72: 2222–2236, 1994.
12. Julien C. Baroreflex control of sympathetic nerve activity and blood pressure variability. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 35: 512–515, 2008.
13. Kanbar R, Oréa V, Barrès C, Julien C. Baroreflex control of renal sympathetic nerve activity during air-jet stress in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 292: R362–R367, 2007.
14. Kanbar R, Oréa V, Chapuis B, Barrès C, Julien C. A transfer function method for the continuous assessment of baroreflex control of renal sympathetic nerve activity in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 293: R1938–R1946, 2007.
15. Koba S, Yoshida T, Hayashi N. Differential sympathetic outflow and vasoconstriction responses at kidney and skeletal muscles during fictive locomotion. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 290: H861–H868, 2006.
16. Lundin S, Ricksten SE, Thorén P. Interaction between “mental stress” and baroreceptor reflexes concerning effects on heart rate, mean arterial pressure and renal sympathetic activity in conscious spontaneously hypertensive rats. *Acta Physiol Scand* 120: 273–281, 1984.
17. Machado BH, Bonagamba LG, Castania JA, Menani JV. Aortic baroreceptors play a predominant role in the regulation of hindlimb vascular resistance in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 267: R476–R480, 1994.
18. McDowall LM, Dampney RA. Calculation of threshold and saturation points of sigmoidal baroreflex function curves. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 291: H2003–H2007, 2006.

19. **Miki K, Oda M, Kamijyo N, Kawahara K, Yoshimoto M.** Lumbar sympathetic nerve activity and hindquarter blood flow during REM sleep in rats. *J Physiol* 557: 261–271, 2004.
20. **Miki K, Yoshimoto M, Tanimizu M.** Acute shifts of baroreflex control of renal sympathetic nerve activity induced by treadmill exercise in rats. *J Physiol* 548: 313–322, 2003.
21. **Monahan KD, Ray CA.** Cyclooxygenase inhibition and baroreflex sensitivity in humans. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 288: H737–H743, 2005.
22. **Morrison SF.** Differential control of sympathetic outflow. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 281: R683–R698, 2001.
23. **Nagura S, Sakagami T, Kakiuchi A, Yoshimoto M, Miki K.** Acute shifts in baroreflex control of renal sympathetic nerve activity induced by REM sleep and grooming in rats. *J Physiol* 558: 975–983, 2004.
24. **Oréa V, Kanbar R, Chapuis B, Barrès C, Julien C.** Transfer function analysis between arterial pressure and renal sympathetic nerve activity at cardiac pacing frequencies in the rat. *J Appl Physiol* 102: 1034–1040, 2007.
25. **Petiot E, Barrès C, Chapuis B, Julien C.** Frequency response of renal sympathetic nervous activity to aortic depressor nerve stimulation in the anaesthetized rat. *J Physiol* 537: 949–959, 2001.
26. **Possas OS, Johnson AK, Lewis SJ.** Role of nitrosyl factors in the hindlimb vasodilation elicited by baroreceptor afferent nerve stimulation. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 290: R741–R748, 2006.
27. **Ramchandra R, Barrett CJ, Guild SJ, Malpas SC.** Evidence of differential control of renal and lumbar sympathetic nerve activity in conscious rabbits. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 290: R701–R708, 2006.
28. **Salgado MC, Justo SV, Joaquim LF, Fazan R Jr, Salgado HC.** Role of nitric oxide and prostanoids in attenuation of rapid baroreceptor resetting. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 290: H1059–H1063, 2006.
29. **Scislo TJ, Augustyniak RA, O’Leary DS.** Differential arterial baroreflex regulation of renal, lumbar, and adrenal sympathetic nerve activity in the rat. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 275: R995–R1002, 1998.
30. **Scislo TJ, Ichinose TK, O’Leary DS.** Stimulation of NTS A1 adenosine receptors differentially resets baroreflex control of regional sympathetic outputs. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 294: H172–H182, 2008.
31. **Stauss HM, Stegmann JU, Persson PB, Häbler HJ.** Frequency response characteristics of sympathetic transmission to skin vascular smooth muscles in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 277: R591–R600, 1999.
32. **Strack AM, Sawyer WB, Marubio LM, Loewy AD.** Spinal origin of sympathetic preganglionic neurons in the rat. *Brain Res* 455: 187–191, 1988.
33. **Yoshimoto M, Sakagami T, Nagura S, Miki K.** Relationship between renal sympathetic nerve activity and renal blood flow during natural behavior in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 286: R881–R887, 2004.



DISCUSSION

Le principal résultat de ce travail est que, chez le rat vigile, à la fréquence du rythme cardiaque, le gain de la fonction de transfert entre la PA et l'ANS rénale ou lombaire fournit un index spontané de la sensibilité du contrôle baroréflexe de cette ANS.

C'est la mise en évidence de l'origine baroréflexe de l'oscillation d'ANS à la fréquence cardiaque (*Kunitake & Kannan 2000 ; Petiot et al. 2001*), qui a permis de postuler que l'amplitude de cette oscillation d'ANS (signal de sortie) pouvait largement dépendre, pour des fluctuations de PA données (signal d'entrée), de la sensibilité du système baroréflexe. Cependant, une condition nécessaire, pour obtenir un index précis de la sensibilité du baroréflexe, était que le système, dans les conditions où il allait être étudié, puisse fonctionner en boucle ouverte. En effet, dans ces conditions de boucle ouverte, les variations du signal de sortie (ANS) n'influencent pas en retour le signal d'entrée (PA). Le gain de la fonction de transfert entre la PA et l'ANS fournit un reflet de la sensibilité du système. Or, à la fréquence cardiaque, les variations d'ANS n'induisent pas des variations synchrones de PA, du fait des caractéristiques de filtre passe-bas de l'arbre vasculaire (*Julien et al. 2003 ; Sato et al. 2003*). A cette fréquence particulière, le système fonctionne donc bien en boucle ouverte.

Sur le plan méthodologique, le développement de cet index a inclus, 1/ dans un premier temps, chez le rat anesthésié, la mise en évidence de l'indépendance du gain de la fonction de transfert entre la PA et l'ANS rénale vis à vis du rythme cardiaque (*Oréa et al. 2007*) et, 2/ des étapes de validation chez le rat éveillé. Ces dernières ont été réalisées grâce à des mesure d'ANS rénale et, elles ont permis de montrer : 1/ une réduction du gain de la fonction de transfert chez des animaux ayant leurs barorécepteurs aortiques dénervés ; 2/ dans diverses conditions expérimentales, notamment pendant un stress émotionnel, l'existence d'une relation positive entre le gain de la fonction de transfert et les valeurs de sensibilité du baroréflexe sympathique obtenues par la méthode pharmacologique classique (*Kanbar et al. 2007b*) ; 3/ une relation inverse entre le gain de la fonction de transfert et différents index de variabilité tensionnelle (*Kanbar et al. 2007b*). Il a été également possible de calculer cet index en utilisant une ANS différente, l'ANS lombaire qui est essentiellement à destinée musculaire.

Sur le plan physiologique, en utilisant le nouvel index et/ou le gain obtenu par la méthode pharmacologique, il a été possible de montrer que la sensibilité du contrôle baroréflexe de l'ANS rénale, 1/ augmente durant un stress émotionnel (*Kanbar et al. 2007ab*) et 2/ présente au cours du temps des fluctuations spontanées (*Kanbar et al. 2007b, 2008*). Enfin, grâce à la mesure simultanée de deux ANSs (rénale et lombaire) chez le même rat éveillé, il a été mis en évidence que le contrôle baroréflexe des ANSs lombaire et rénale est quantitativement différent. Cependant, il est modulé d'une manière homogène la plupart du temps (*Kanbar et al. 2008*).

Développement et validation de l'index spontané

L'étude des propriétés dynamiques de l'arc mécano-neural dans son ensemble, ou de ses composantes prises isolement (barorécepteurs et voies nerveuses centrales), ne permet pas de prédire clairement les réponses baroréflexes de l'ANS dans la bande de fréquence qui comprend le rythme cardiaque. En effet, *Petiot et al. (2001)* montrent que chez le rat, les voies nerveuses centrales présentent, au delà de 1 Hz, des caractéristiques de filtre passe-bas (réduction du gain en fonction de la fréquence). Cependant, la diminution régulière du gain s'interrompt entre 6 et 12 Hz et le gain présente un rebond au voisinage de 10 Hz (voir Figure 11). La présence d'un tel rebond ne peut pas être prédite par un modèle linéaire simple. Dans ces conditions, chez le rat, une influence des variations de fréquence cardiaque (entre 5 et 9 Hz) sur la valeur du gain mesuré à cette fréquence ne peut être exclue. Une telle dépendance, si elle avait été mise en évidence, aurait conduit à introduire une correction des valeurs de gain en fonction de la fréquence cardiaque. Ceci aurait bien évidemment limité l'intérêt et l'utilisation de cet index spontané. Bien qu'une absence d'influence des variations du rythme cardiaque sur le gain de la fonction de transfert entre la PA et l'ANS ait été montrée, il faut noter qu'il n'a pas été possible de mesurer le gain à des fréquences plus lentes que la fréquence cardiaque de base (330 batt/min). Cependant, dans nos conditions expérimentales (rat éveillé et instrumenté avec des cathéters et une ou deux électrodes de mesure de l'ANS), les animaux ne présentent que très rarement des fréquences cardiaques inférieures à 330 batt/min. Ceci est vraisemblablement secondaire à la courte période de récupération entre l'implantation des électrodes et l'étude. Cette période ne peut être allongée sans prendre le risque de voir la qualité du signal d'ANS se dégrader rapidement durant l'expérimentation. Un dispositif utilisant la téléométrie a été développé et utilisé pour enregistrer une ANS rénale chez le lapin (*Malpas et al. 2006 ; Guild et al. 2008*) et le fœtus de mouton (*Booth et al. 2007*).

L'adaptation de ce système de mesure chez le rat pourrait permettre d'augmenter le temps de récupération post chirurgical, de limiter le stress expérimental secondaire à la manipulation de l'animal et par conséquent, de réduire la fréquence cardiaque de repos. Dans cette hypothèse, le comportement du gain de la fonction de transfert entre la PA et l'ANS devra être précisé sur une plage de fréquence inférieure à celle utilisée dans ce travail. Ces études pourraient inclure, par exemple, le calcul du gain de la fonction de transfert pendant un entraînement électrique cardiaque associé à une stimulation du nerf vague (*Kawada et al. 2006*) ou après destruction du nœud sinusal (*James 2003*) afin de réduire les fréquences de base.

La première étape de validation de cet index a consisté à évaluer sa capacité à quantifier une altération du gain baroréflexe obtenue expérimentalement. Dans ce but, une dénervation chirurgicale partielle et chronique des barorécepteurs (dénervation aortique isolée) a été effectuée. Elle a fortement diminué la sensibilité du contrôle baroréflexe de l'ANS rénale, estimée par la méthode pharmacologique, et elle a augmenté la variabilité tensionnelle (*Kanbar et al. 2007b*). Parallèlement, des diminutions significatives de la cohérence entre la PA et l'ANS rénale à la fréquence cardiaque et, surtout du gain de la fonction de transfert à cette fréquence, ont été observées chez les animaux dénervés. A notre connaissance, ceci est la première description de l'effet de la dénervation chronique des barorécepteurs aortiques sur le contrôle baroréflexe de l'ANS rénale chez le rat vigile. Ces animaux avec dénervation partielle des barorécepteurs représentent donc un modèle d'altération expérimentale du baroréflexe.

La deuxième étape de la validation a porté sur la comparaison des valeurs de gain obtenues par la méthode pharmacologique avec celles obtenues par le calcul de la fonction de transfert à la fréquence cardiaque. Cette comparaison est généralement effectuée pour valider les nouveaux index spontanés d'évaluation du contrôle baroréflexe de la fréquence cardiaque (*Oosting et al. 1997*), et ceci bien qu'il existe des limitations à la méthode pharmacologique (*Parati et al. 2004*). Le gain de la fonction de transfert est linéairement et positivement corrélé avec la sensibilité maximale estimée par la méthode pharmacologique. Toutefois, il faut noter que cette relation, bien que statistiquement significative, reste faible. Une explication pourrait être que les deux valeurs de gain n'ont pas été obtenues dans des états comportementaux équivalents. En effet, le gain de la fonction de transfert a été estimé par une valeur moyenne correspondant à une période d'une heure incluant des périodes de repos et d'activité, alors que le gain pharmacologique a toujours été calculé durant des périodes de repos. De plus, la

relation pourrait être curvilinéaire. En effet, les rats avec dénervation sino-aortique complète doivent en toute logique présenter des gains très faibles, voire nuls. La relation devrait donc passer par l'origine, ce qui n'est pas le cas de la relation linéaire observée.

Une validation fonctionnelle de cet index a été recherchée dans le contexte de l'étude de la variabilité tensionnelle. En effet, l'abolition du contrôle baroréflexe de la PA par la dénervation sino-aortique s'accompagne d'une variabilité tensionnelle exagérée. En outre, des études de simulation du contrôle baroréflexe de la PA, prédisent une relation inverse entre la variabilité tensionnelle lente et la sensibilité de la composante sympathique vasculaire du réflexe chez le rat (*Chapuis et al. 2004*) et chez l'Homme (*van de Vooren et al. 2007*). Les résultats montrent que la variabilité tensionnelle est inversement reliée aux deux index de sensibilité du baroréflexe sympathique, spontané et pharmacologique (*Kanbar et al. 2007b*). Cependant, il faut souligner que la relation observée dans notre étude dépend largement de l'inclusion de rats ayant une altération partielle du baroréflexe. Expérimentalement, une relation comparable a été recherchée avec la composante cardiaque du baroréflexe. Aucune relation entre la variabilité tensionnelle et la sensibilité du baroréflexe cardiaque n'a pu être mise en évidence chez le rat (*Su et al. 1992*) comme chez l'Homme (*Hesse et al. 2007*). Ceci est en accord avec le faible rôle de la composante cardiaque du baroréflexe dans le contrôle tensionnel (*Liu et al. 2002*).

Dans ces conditions expérimentales, il semble donc justifié d'utiliser le gain de la fonction de transfert entre la PA et l'ANS rénale à la fréquence cardiaque comme index spontané de la sensibilité du contrôle baroréflexe de l'ANS. Cette méthode présente une résolution temporelle de l'ordre de la minute, mais qui pourrait théoriquement être améliorée jusqu'à une valeur de 15 s environ.

Applications physiologiques

Un premier résultat important est que la sensibilité du contrôle baroréflexe de l'ANS rénale, estimée par le gain de la fonction de transfert, présente des fluctuations spontanées en fonction du temps. Cette variabilité de la sensibilité baroréflexe n'est pas reliée aux fluctuations du rythme cardiaque, une observation qui confirme l'indépendance de cet index vis à vis de la fréquence cardiaque (*Oréa et al. 2007*). Concernant un lien potentiel entre les fluctuations de la sensibilité du baroréflexe sympathique et la PA, une étude antérieure,

réalisée chez le rat vigile (*Bertram et al. 2005*), avait montré des modifications de la puissance spectrale de l'ANS rénale dans la bande de fréquence contenant la fréquence cardiaque, lors de variations du niveau tensionnel induites pharmacologiquement et de relativement courte durée (4-5 minutes). Ainsi, une augmentation progressive de la puissance spectrale était observée lors des réductions du niveau tensionnel (jusqu'à une certaine valeur de PA en dessous de laquelle la puissance spectrale commençait à diminuer) et une réduction de la puissance spectrale était observée lors des augmentations de PA. Ces variations de puissance spectrale doivent entraîner des variations dans le même sens du gain puisque l'amplitude de la variation systolo-diastolique (signal d'entrée) est peu modifiée par les interventions pharmacologiques (*Bertram et al. 2005*). Dans les études du présent travail, l'absence de relation entre le gain de la fonction de transfert et le niveau tensionnel pourrait être secondaire à un réajustement permanent des relations baroréflexes durant les changements d'état comportemental. Ce réajustement annulerait alors la relation observée entre la PA et le gain spontané. Cette hypothèse est en accord avec le concept d'un réajustement du baroréflexe comme condition nécessaire à l'expression de la variabilité tensionnelle (*DiCarlo & Bishop 2001*).

Grâce à la méthode pharmacologique, il a été montré chez l'animal que les différents états comportementaux (sommeil, toilettage, exercice...) pouvaient influencer la sensibilité du baroréflexe sympathique. Cependant, l'effet d'un stress émotionnel sur cette sensibilité n'avait jamais été décrit à notre connaissance chez le rat. Afin d'étudier cet effet, nous avons examiné le contrôle baroréflexe de l'ANS pendant un stress émotionnel induit par un jet d'air, en utilisant la méthode pharmacologique (*Kanbar et al. 2007a*) et par le calcul du gain de la fonction de transfert entre la PA et l'ANS rénale à la fréquence cardiaque (*Kanbar et al. 2007b*). Contrairement aux résultats des études réalisées chez l'animal anesthésié et utilisant la stimulation électrique de la zone de défense hypothalamique (*Coote et al. 1979 ; Mifflin et al. 1988*), nous avons montré que le stress émotionnel réajuste et sensibilise le contrôle baroréflexe de l'ANS rénale, quel que soit l'index utilisé. Le calcul du gain spontané, qui permet de suivre l'évolution de la sensibilité du baroréflexe sympathique en fonction du temps, montre que le gain de la fonction de transfert augmente progressivement pendant le stress et que, à l'arrêt du stress, il diminue partiellement et se stabilise (observation non publiée). Cette augmentation de sensibilité est en accord avec celle démontrée par la méthode pharmacologique (*Kanbar et al. 2007a*). L'augmentation du gain spontané est positivement corrélée à l'augmentation d'ANS qui accompagne le stress. Ce même type de relation positive

entre le gain et le niveau d'ANS a été parfois observé durant les comportements spontanés chez le rat (*Kanbar et al. 2007b*). Il faut noter que le comportement du rat, notamment son immobilité, survenant après une période de fuite lors du déclenchement du jet d'air, a permis d'appliquer la méthode pharmacologique dans des conditions cardio-vasculaires stables. Ces conditions sont nécessaires pour la mise en œuvre de cette méthode, contrairement à la méthode spontanée.

Enfin, l'utilisation de cet index pour étudier le contrôle baroréflexe d'autres ANSs régionales, notamment l'ANS lombaire à destinée musculaire, est possible. En effet, l'ANS lombaire présente une forte rythmicité à la fréquence cardiaque (*Kenney 1994*) et la fonction de cohérence entre la PA et l'ANS lombaire est comparable à celle observée entre la PA et l'ANS rénale. L'application de cette méthode spontanée à des enregistrements simultanés des ANSs rénale et lombaire chez des rats vigils a permis, pour la première fois, de comparer la modulation spontanée du contrôle baroréflexe de ces deux ANSs. Ces résultats confirment la différence quantitative de sensibilité déjà rapportée chez le rat anesthésié (*Scislo et al. 1998, 2008*). Comme pour le contrôle baroréflexe de l'ANS rénale, celui de l'ANS lombaire est spontanément variable et ces variations sont homogènes la plupart du temps. Ceci est particulièrement pertinent de point de vue clinique puisque, chez l'Homme, la majorité des études examinant le baroréflexe sympathique utilise l'ANS musculaire (*Wallin & Charkoudian 2007*).

Conclusion et perspectives

Avec ce travail, un nouvel outil d'exploration du baroréflexe sympathique a été développé. Il conviendrait maintenant de comparer cet index à l'index spontané temporel utilisé chez l'Homme (*Sundlöf & Wallin 1978*). En outre, la relation entre le gain spontané des composantes sympathique et cardiaque du baroréflexe mériterait une investigation plus poussée. En effet, la mise en évidence d'une relation entre les deux composantes du baroréflexe serait particulièrement intéressante du point de vue clinique. Toutefois, l'analyse des données obtenues à partir de nos études n'a pas permis d'établir une relation entre les gains spontanés du baroréflexe sympathique et cardiaque estimé dans le domaine fréquentiel (*Kanbar et al. 2007b*). Cependant, différents index spontanés du baroréflexe cardiaque ont été décrits et ne sont pas toujours concordants entre eux (*Laude et al. 2004*). Des analyses supplémentaires sont donc nécessaires pour affirmer ou écarter l'existence d'une relation entre

les deux composantes du baroréflexe. Enfin, des études dont les objectifs spécifiques seront de préciser l'influence des facteurs comportementaux sur la sensibilité du baroréflexe sympathique, comportant la mesure de l'électromyogramme et/ou la surveillance automatique du comportement, sont nécessaires afin de mieux comprendre la finalité de la modulation du contrôle baroréflexe. Quant aux mécanismes de modulation eux-mêmes, des études visant à préciser le rôle des régions centrales bulbaires sont indispensables pour aborder cette problématique (*Guyenet 2006*).

RÉFÉRENCES

1. **Anderson EA, Sinkey CA, Mark AL.** Mental stress increases sympathetic nerve activity during sustained baroreceptor stimulation in humans. *Hypertension* 17: III43-III49, 1991.
2. **Ando S, Dajani HR, Floras JS.** Frequency domain characteristics of muscle sympathetic nerve activity in heart failure and healthy humans. *Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol* 273: R205 -R212, 1997.
3. **Badra LJ, Cooke WH, Hoag JB, Crossman AA, Kuusela TA, Tahvanainen KU, Eckberg DL.** Respiratory modulation of human autonomic rhythms. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 280: H2674 - H2688, 2001.
4. **Barman SM, Gebber GL.** Sympathetic nerve rhythm of brain stem origin. *Am J Physiol* 239: R42-R47, 1980.
5. **Barman SM, Gebber GL.** "Rapid" rhythmic discharges of sympathetic nerves: sources, mechanisms of generation, and physiological relevance. *J Biol Rhythms* 15: 365-379, 2000.
6. **Baron R, Jänig W, Kollmann W.** Sympathetic and afferent somata projecting in hindlimb nerves and the anatomical organization of the lumbar sympathetic nervous system of the rat. *J Comp Neurol* 275: 460-468, 1988.
7. **Barrès C, Cheng Y, Julien C.** Steady-state and dynamic responses of renal sympathetic nerve activity to air-jet stress in sinoaortic denervated rats. *Hypertension* 43: 629-635, 2004.
8. **Barrès C, de Souza Neto EP, Julien C.** Effect of alpha-adrenoceptor blockade on the 0.4 Hz sympathetic rhythm in conscious rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 28: 983-985, 2001.
9. **Barrès C, Lewis SJ, Jacob HJ, Brody MJ.** Arterial pressure lability and renal sympathetic nerve activity are dissociated in SAD rats. *Am J Physiol* 263: R639-646, 1992.
10. **Barrett CJ, Malpas SC.** Problems, possibilities, and pitfalls in studying the arterial baroreflexes' influence over long-term control of blood pressure. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 288: R837-R845, 2005.
11. **Barrett CJ, Ramchandra R, Guild SJ, Lala A, Budgett DM, Malpas SC.** What sets the long-term level of renal sympathetic nerve activity: a role for angiotensin II and baroreflexes? *Circ Res* 92: 1330-1336, 2003.
12. **Barron KW, Heesch CM.** Cardiovascular effects of posterior hypothalamic stimulation in baroreflex-denervated rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 259: H720-H727, 1990.
13. **Baudrie V, Laude D, Chaouloff F, Elghozi JL.** Genetic influences on cardiovascular responses to an acoustic startle stimulus in rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 28: 1096-1099, 2001.
14. **Baudrie V, Tulen JH, Blanc J, Elghozi JL.** Autonomic components of the cardiovascular responses to an acoustic startle stimulus in rats. *J Auton Pharmacol* 17:303-309, 1997.
15. **Bernardi L, Passino C, Spadacini G, Valle F, Leuzzi S, Piepoli M, Sleight P.** Arterial baroreceptors as determinants of 0,1 Hz and respiration-related changes in blood pressure and heart rate spectra. In: *Frontiers of blood pressure and heart rate analysis* (M DiRienzo, G Mancia, G Parati, A Pedotti, A Zanchetti, Eds.) IOS Press, Amsterdam, Technology and Informatics volume 35, pp241-252, 1997.

16. **Berteotti C, Asti V, Ferrari V, Franzini C, Lenzi P, Zoccoli G, Silvani A.** Central and baroreflex control of heart period during the wake–sleep cycle in spontaneously hypertensive rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 293: R293-R298, 2007.
17. **Bertram D, Barrès C, Cheng Y, Julien C.** Norepinephrine reuptake, baroreflex dynamics, and arterial pressure variability in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 279: R1257-R1267, 2000.
18. **Bertram D, Barrès C, Cuisinaud G, Julien C.** The arterial baroreceptor reflex of the rat exhibits positive feedback properties at the frequency of Mayer waves. *J Physiol* 513: 251-261, 1998.
19. **Bertram D, Oréa V, Chapuis B, Barrès C, Julien C.** Differential responses of frequency components of renal sympathetic nerve activity to arterial pressure changes in conscious rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 289: R1074-R1082, 2005.
20. **Booth LC, Bennet L, Barrett CJ, Guild S-J, Wassink G, Gunn AJ, Malpas SC.** Cardiac-related rhythms in sympathetic nerve activity in preterm fetal sheep. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 293: R185-R190, 2007.
21. **Brod J, Fencl V, Hejl Z, Jirka J.** Circulatory changes underlying blood pressure elevation during acute emotional stress (mental arithmetic) in normotensive and hypertensive subjects. *Clin Sci (Colch)* 18: 269-279, 1959.
22. **Brown AM, Saum WR, Yasui S.** Baroreceptor dynamics and their relationship to afferent fiber type and hypertension. *Circ Res* 42: 694-702, 1978.
23. **Brown DR, Brown LV, Patwardhan A, Randall DC.** Sympathetic activity and blood pressure are tightly coupled at 0.4 Hz in conscious rats. *Am J Physiol* 267: R1378-R1384, 1994.
24. **Brown DR, Cassis LA, Silcox DL, Brown LV, Randall DC.** Empirical and theoretical analysis of the extremely low frequency arterial blood pressure power spectrum in unanesthetized rat. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 291: H2816-H2824, 2006.
25. **Buchholz RA, Hubbard JW, Keeton TK, Nathan MA.** Cardiovascular and neuroendocrine responses to behavioral stress after central or peripheral barodenervation in rats. *Brain Res* 365: 360-364, 1986 (a).
26. **Buchholz RA, Hubbard JW, Nathan MA.** Comparison of 1-hour and 24-hour blood pressure recordings in central or peripheral baroreceptor-denervated rats. *Hypertension* 8: 1154-1163, 1986 (b).
27. **Buchholz RA, Nathan MA.** Chronic lability of the arterial blood pressure produced by electrolytic lesions of the nucleus tractus solitarius in the rat. *Circ Res* 54: 227-238, 1984.
28. **Buckwalter JB, Clifford PS.** Autonomic control of skeletal muscle blood flow at the onset of exercise. *Am J Physiol* 277: H1872-H1877, 1999.
29. **Buckwalter JB, Mueller PJ, Clifford PS.** Sympathetic vasoconstriction in active skeletal muscles during dynamic exercise. *J Appl Physiol* 83: 1575-1580, 1997.
30. **Burgess DE, Hundley JC, Li SG, Randall DC, Brown DR.** First-order differential-delay equation for the baroreflex predicts the 0.4-Hz blood pressure rhythm in rats. *Am J Physiol* 273: R1878-R1884, 1997.
31. **Burgess DE, Zimmerman TA, Wise MT, Li SG, Randall DC, Brown DR.** Low-frequency renal sympathetic nerve activity, arterial BP, stationary "1/f noise," and the baroreflex. *Am J Physiol* 277: R894-R903, 1999.
32. **Burke SL, Head GA.** Method for in vivo calibration of renal sympathetic nerve activity in rabbits. *J Neurosci Methods* 127: 63-74, 2003.

33. **Calhoun DA, Wyss JM, Oparil S.** High NaCl diet enhances arterial baroreceptor reflex in NaCl-sensitive spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 17: 363-368, 1991.
34. **Callahan MF, da Rocha MJ, Morris M.** Sinoaortic denervation does not increase cardiovascular/endocrine responses to stress. *Neuroendocrinology* 56: 735-744, 1992.
35. **Casadei B, Paterson DJ.** Should we still use nitrovasodilators to test baroreflex sensitivity? *J Hypertens* 18: 3-6, 2000.
36. **Castiglioni P, Parati G, Omboni S, Mancia G, Imholz BP, Wesseling KH, Di Rienzo M.** Broad-band spectral analysis of 24 h continuous finger blood pressure: comparison with intra-arterial recordings. *Clin Sci (Lond)* 97: 129-139, 1999.
37. **Cerutti C, Barrès C, Paultre C.** Baroreflex modulation of blood pressure and heart rate variabilities in rats : assessment by spectral analysis. *Am J Physiol* 266: H1993-H2000, 1994.
38. **Cerutti C, Gustin MP, Paultre CZ, Lo M, Julien C, Vincent M, Sassard J.** Autonomic nervous system and cardiovascular variability in rats: a spectral analysis approach. *Am J Physiol* 261: H1292-H1299, 1991.
39. **Cevese A, Gulli G, Polati E, Gottin L, Grasso R.** Baroreflex and oscillation of heart period at 0.1 Hz studied by alpha-blockade and cross-spectral analysis in healthy humans. *J Physiol* 531: 235-244, 2001.
40. **Chan RK, Jarvina EV, Sawchenko PE.** Effects of selective sinoaortic denervations on phenylephrine-induced activational responses in the nucleus of the solitary tract. *Neuroscience* 101: 165-178, 2000.
41. **Chandler MP, DiCarlo SE.** Sinoaortic denervation prevents postexercise reductions in arterial pressure and cardiac sympathetic tonus. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 273: H2734-H2745, 1997.
42. **Chapleau MW, Cunningham JT, Sullivan MJ, Wachtel RE, Abboud FM.** Structural versus functional modulation of the arterial baroreflex. *Hypertension* 26: 341-347, 1995.
43. **Chapleau MW, Hajduczuk G, Abboud FM.** Peripheral and central mechanisms of baroreflex resetting. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 15 Suppl: 31-43, 1989.
44. **Chapuis B, Vidal-Petiot E, Oréa V, Barrès C, Julien C.** Linear modelling analysis of baroreflex control of arterial pressure variability in rats. *J Physiol* 559: 639-649, 2004.
45. **Chen HL, Chang KC.** Assessment of threshold and saturation pressure in the baroreflex function curve: a new mathematical analysis. *Jpn J Physiol* 41: 861-877, 1991.
46. **Cheng Y, Cohen B, Oréa V, Barrès C, Julien C.** Baroreflex control of renal sympathetic nerve activity and spontaneous rhythms at Mayer wave's frequency in rats. *Auton Neurosci* 111: 80-88, 2004.
47. **Cohen MA, Taylor JA.** Short-term cardiovascular oscillations in man: measuring and modelling the physiologies. *J Physiol* 542: 669-683, 2002.
48. **Collins HL, Kim JK, DiCarlo SE.** Sino-aortic denervation alters the hemodynamic response to exercise in hypertensive rats. *Clin Exp Hypertens* 8: 657-666, 2001.
49. **Constant I, Girard A, Le Bidois J, Villain E, Laude D, Elghozi JL.** Spectral analysis of systolic blood pressure and heart rate after heart transplantation in children. *Clin Sci (Lond)* 88: 95-102, 1995.
50. **Coote JH.** Respiratory and circulatory control during sleep. *J Exp Biol*: 223-244, 1982.
51. **Coote JH, Hilton SM, Perez-Gonzalez JF.** Inhibition of the baroreceptor reflex on stimulation in the brain stem defence centre. *J Physiol* 288: 549-560, 1979.
52. **Cui J, Wilson TE, Crandall CG.** Baroreflex modulation of muscle sympathetic nerve activity during cold pressor test in humans. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 282: H1717-H1723, 2002.

53. **Dampney RA.** Functional organization of central pathways regulating the cardiovascular system. *Physiol Rev* 74: 323-64, 1994.
54. **Degtyarenko AM, Kaufman MP.** Barosensory cells in the nucleus tractus solitarius receive convergent input from group III muscle afferents and central command. *Neuroscience* 140: 1041-1050, 2006.
55. **del Bo A, Le Doux JE, Reis DJ.** Sympathetic nervous system and control of blood pressure during natural behaviour. *J Hypertens Suppl* 3: S105-S106, 1985.
56. **del Bo A, Ledoux JE, Tucker LW, Harshkfield GA, Reis DJ.** Arterial pressure and heart rate changes during natural sleep in rat. *Physiol Behav* 28: 425-429, 1982.
57. **DiBona GF, Jones SY.** Analysis of renal sympathetic nerve responses to stress. *Hypertension* 25: 531-538, 1995.
58. **DiCarlo SE, Bishop VS.** Onset of exercise shifts operating point of arterial baroreflex to higher pressures. *Am J Physiol* 262: H303-H307, 1992.
59. **DiCarlo SE, Bishop VS.** Central baroreflex resetting as a means of increasing and decreasing sympathetic outflow and arterial pressure. *Ann N Y Acad Sci* 940: 324-337, 2001.
60. **Dickinson CJ.** The baroreflex bandwagon: time to get off? *J Hypertens* 19: 157-61, 2001.
61. **DiMicco JA, Samuels BC, Zaretskaia MV, Zaretsky DV.** The dorsomedial hypothalamus and the response to stress: part renaissance, part revolution. *Pharmacol Biochem Behav* 71: 469-480, 2002.
62. **Djojogugito AM, Folkow B, Kylstra PH, Lisander B, Tuttle RS.** Differentiated interaction between the hypothalamic defense reaction and baroreceptor reflexes. I. Effects on heart rate and regional flow resistance. *Acta Physiol Scand* 78: 376-385, 1970.
63. **Dorward PK, Riedel W, Burke SL, Gipps J, Korner PI.** The renal sympathetic baroreflex in the rabbit. Arterial and cardiac baroreceptor influences, resetting, and effect of anesthesia. *Circ Res* 57: 618-633, 1985.
64. **Duan YF, Winters RW, McCabe PM, Green EJ, Huang Y, Schneiderman N.** Modulation of the baroreceptor reflex by stimulation of the hypothalamic defense and vigilance areas. *Physiol Behav* 59: 1093-1098, 1996.
65. **Ebert TJ, Cowley Jr AW.** Baroreflex modulation of sympathetic outflow during physiological increases of vasopressin in humans. *Am J Physiol* 262: H1372-H1378, 1992.
66. **Eckberg DL, Cavanaugh MS, Mark AL, Abboud FM.** A simplified neck suction device for activation of carotid baroreceptors. *J Lab Clin Med* 85: 167-173, 1975.
67. **Eckberg DL, Kuusela TA.** Human vagal baroreflex sensitivity fluctuates widely and rhythmically at very low frequencies. *J Physiol* 567: 1011-1019, 2005.
68. **Ernsting J, Perry DJ.** Some observations of the effects of stimulating the stretch receptors in the carotid artery in man. *J Physiol* 137, 454-456, 1957.
69. **Fadel PJ.** Dynamic arterial baroreflex function during high intensity exercise in humans: insights into sympathetic control. *J Physiol* 586: 2667-2668, 2008.
70. **Fadel PJ, Ogoh S, Watenpaugh DE, Wasmund W, Olivencia-Yurvati A, Smith ML, Raven PB.** Carotid baroreflex regulation of sympathetic nerve activity during dynamic exercise in humans. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 280: H1383-H1390, 2001.

71. **Fagius J, Karhuvaara S, Sundlöf G.** The cold pressor test: effects on sympathetic nerve activity in human muscle and skin nerve fascicles. *Acta Physiol Scand* 137: 325-334, 1989.
72. **Fagius J, Wallin BG.** Sympathetic reflex latencies and conduction velocities in normal man. *J Neurol Sci* 47: 433-448, 1980.
73. **Faris IB, Iannos J, Jamieson GG, Ludbrook J.** The carotid sinus baroreceptor reflex in conscious rabbits. *J Physiol* 298: 321-331, 1980.
74. **Fauvel JP, Cerutti C, Quelin P, Laville M, Gustin MP, Paultre CZ, Ducher M.** Mental stress-induced increase in blood pressure is not related to baroreflex sensitivity in middle-aged healthy men. *Hypertension* 35: 887-891, 2000.
75. **Fazan VP, Salgado HC, Barreira AA.** A descriptive and quantitative light and electron microscopy study of the aortic depressor nerve in normotensive rats. *Hypertension* 30: 693-698, 1997.
76. **Feng B, Li BY, Nauman EA, Schild JH.** Theoretical and electrophysiological evidence for axial loading about aortic baroreceptor nerve terminals in rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 293: H3659-H3672, 2007.
77. **Ferrari AU, Franzelli C, Daffonchio A, Perlini S, Dirienzo M.** Sympathovagal interplay in the control of overall blood pressure variability in unanesthetized rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 270: H2143-H2148, 1996.
78. **Forsman L, Lindblad LE.** Effect of mental stress on baroreceptor-mediated changes in blood pressure and heart rate and on plasma catecholamines and subjective responses in healthy men and women. *Psychosom Med* 45: 435-445, 1983.
79. **Gebber GL.** Central oscillators responsible for sympathetic nerve discharge. *Am J Physiol* 239: H143-H155, 1980.
80. **Gebber GL, Snyder DW.** Hypothalamic control of baroreceptor reflexes. *Am J Physiol* 218: 124-131, 1970.
81. **Gilbey MP.** Multiple oscillators, dynamic synchronization and sympathetic control. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 28: 130-137, 2001.
82. **Grassi G, Esler M.** How to assess sympathetic activity in humans. *J Hypertens* 17: 719-734, 1999.
83. **Guild SJ, Barrett CJ, McBryde FD, Van Vliet BN, Malpas SC.** Sampling of cardiovascular data; how often and how much? *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 295: R510-R515, 2008.
84. **Gujic M, Laude D, Houssière A, Beloka S, Argacha JF, Adamopoulos D, Xhaët O, Elghozi JL, van de Borne P.** Differential effects of metaboreceptor and chemoreceptor activation on sympathetic and cardiac baroreflex control following exercise in hypoxia in human. *J Physiol* 585: 165-174, 2007.
85. **Guo GB, Thames MD, Abboud FM.** Differential baroreflex control of heart rate and vascular resistance in rabbits. Relative role of carotid, aortic, and cardiopulmonary baroreceptors. *Circ Res* 50: 554-565, 1982.
86. **Guyenet PG.** The sympathetic control of blood pressure. *Nat Rev Neurosci* 7: 335-346, 2006.
87. **Häbler HJ, Bartsch T, Jänig W.** Two distinct mechanisms generate the respiratory modulation in fibre activity of the rat cervical sympathetic trunk. *J Auton Nerv Syst* 61: 116-122, 1996.
88. **Häbler HJ, Jänig W.** Coordination of sympathetic and respiratory systems: neurophysiological experiments. *Clin Exp Hypertens* 17: 223-235, 1995.

89. **Häbler HJ, Jänig W, Krummel M, Peters OA.** Reflex patterns in postganglionic neurons supplying skin and skeletal muscle of the rat hindlimb. *J Neurophysiol* 72: 2222-2236, 1994.
90. **Hagbarth KE, Hallin RG, Hongell A, Torebjörk HE, Wallin BG.** General characteristics of sympathetic activity in human skin nerves. *Acta Physiol Scand* 84: 164-176, 1972.
91. **Hamann JJ, Buckwalter JB, Valic Z, Clifford PS.** Sympathetic restraint of muscle blood flow at the onset of dynamic exercise. *J Appl Physiol* 92: 2452-2456, 2002.
92. **Harada S, Ando S, Imaizumi T, Hirooka Y, Sunagawa K, Takeshita A.** Arterial baroreflex control of cardiac and renal sympathetic nerve activities is uniform in frequency domain. *Am J Physiol* 261: R296-R300, 1991.
93. **Harada S, Imaizumi T, Ando S, Hirooka Y, Sunagawa K, Takeshita A.** Arterial baroreflex dynamics in normotensive and spontaneously hypertensive rats. *Am J Physiol* 263: R524-R528, 1992.
94. **Hasser EM, Moffitt JA.** Regulation of sympathetic nervous system function after cardiovascular deconditioning. *Ann N Y Acad Sci* 940: 454-468, 2001.
95. **Head GA, McCarty R.** Vagal and sympathetic components of the heart rate range and gain of the baroreceptor-heart rate reflex in conscious rats. *J Auton Nerv Syst* 21: 203-213, 1987.
96. **Hesse C, Charkoudian N, Liu Z, Joyner MJ, Eisenach JH.** Baroreflex sensitivity inversely correlates with ambulatory blood pressure in healthy normotensive humans. *Hypertension*. 50: 41-46, 2007.
97. **Hilton SM.** The defence-arousal system and its relevance for circulatory and respiratory control. *J Exp Biol* 100: 159-174, 1982.
98. **Hinojosa-Laborde C, Jones SY, DiBona GF.** Hemodynamics and baroreflex function in rats with nephrotic syndrome. *Am J Physiol* 267: R953-R964, 1994.
99. **Hjemdahl P, Fagius J, Freyschuss U, Wallin BG, Daleskog M, Bohlin G, Perski A.** Muscle sympathetic activity and norepinephrine release during mental challenge in humans. *Am J Physiol* 257: E654-E664, 1989.
100. **Holand S, Girard A, Laude D, Meyer-Bisch C, Elghozi JL.** Effects of an auditory startle stimulus on blood pressure and heart rate in humans. *J Hypertens* 17: 1893-1897, 1999.
101. **Hornyak M, Cejnar M, Elam M, Matousek M, Wallin BG.** Sympathetic muscle nerve activity during sleep in man. *Brain* 114: 1281-1295, 1991.
102. **Huang C, Gilbey MP.** A comparison of simultaneously recorded muscle and skin vasoconstrictor population activities in the rat using frequency domain analysis. *Auton Neurosci* 121: 47-55, 2005.
103. **Humphreys PW, Joels N, McAllen RM.** Modification of the reflex response to stimulation of carotid sinus baroreceptors during and following stimulation of the hypothalamic defense areas in the cat. *J Physiol* 216: 461-482, 1971.
104. **Ichinose M, Saito M, Fujii N, Ogawa T, Hayashi K, Kondo N, Nishiyasu T.** Modulation of the control of muscle sympathetic nerve activity during incremental leg cycling. *J Physiol* 586: 2753-2766, 2008.
105. **Ichinose M, Saito M, Kondo N, Nishiyasu T.** Time-dependent modulation of arterial baroreflex control of muscle sympathetic nerve activity during isometric exercise in humans. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 290: H1419-H1426, 2006.

106. **Ichinose M, Saito M, Wada H, Kitano A, Kondo N, Nishiyasu T.** Modulation of arterial baroreflex control of muscle sympathetic nerve activity by muscle metaboreflex in humans. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 286: H701-H707, 2004.
107. **Iellamo F, Placidi F, Marciani MG, Romigi A, Tombini M, Aquilani S, Massaro M, Galante A, Legramante JM.** Baroreflex buffering of sympathetic activation during sleep: evidence from autonomic assessment of sleep macroarchitecture and microarchitecture. *Hypertension*. 43: 814-819, 2004.
108. **Ikeda Y, Kawada T, Sugimachi M, Kawaguchi O, Shishido T, Sato T, Miyano H, Matsuura W, Alexander J Jr, Sunagawa K.** Neural arc of baroreflex optimizes dynamic pressure regulation in achieving both stability and quickness. *Am J Physiol* 271: H882-H890, 1996.
109. **Imaizumi T, Brunk SD, Gupta BN, Thames MD.** Central effect of intravenous phenylephrine on baroreflex control of renal nerves. *Hypertension* 6: 906-914, 1984.
110. **Jacob HJ, Ramanathan A, Pan SG, Brody MJ, Myers GA.** Spectral analysis of arterial pressure lability in rats with sinoaortic deafferentation. *Am J Physiol* 269: R1481-R1488, 1995.
111. **James TN.** Structure and function of the sinus node, AV node and his bundle of the human heart: part II--function. *Prog Cardiovasc Dis* 45: 327-360, 2003.
112. **Janssen BJ, Malpas SC, Burke SL, Head GA.** Frequency-dependent modulation of renal blood flow by renal nerve activity in conscious rabbits. *Am J Physiol* 273: R597-R608, 1997.
113. **Janssen BJ, Oosting J, Slaaf DW, Persson PB, Struijker-Boudier HA.** Hemodynamic basis of oscillations in systemic arterial pressure in conscious rats. *Am J Physiol* 269: H62-H71, 1995.
114. **Jordan D, Mifflin SW, Spyer KM.** Hypothalamic inhibition of neurones in the nucleus tractus solitarius of the cat is GABA mediated. *J Physiol* 399: 389-404, 1988.
115. **Joyner MJ.** Baroreceptor function during exercise: resetting the record. *Exp Physiol* 91: 27-36, 2006.
116. **Julien C.** The enigma of Mayer waves: Facts and models. *Cardiovasc Res* 70: 12-21, 2006.
117. **Julien C.** Baroreflex control of sympathetic nerve activity and blood pressure variability. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 35: 512-515, 2008.
118. **Julien C, Chapuis B, Cheng Y, Barrès C.** Dynamic interactions between arterial pressure and sympathetic nerve activity: role of arterial baroreceptors. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 285: R834-R841, 2003.
119. **Julien C, Kandza P, Barrès C, Lo M, Cerutti C, Sassard J.** Effects of sympathectomy on blood pressure and its variability in conscious rats. *Am J Physiol* 259: H1337-H1342, 1990.
120. **Julien C, Malpas SC, Stauss HM.** Sympathetic modulation of blood pressure variability. *J Hypertens* 19: 1707-1712, 2001.
121. **Julien C, Sacquet J, Kandza P, Su DF, Vincent M, Barrès C.** Cardiovascular habituation to emotional stress in Lyon hypertensive rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 19: 187-192, 1992.
122. **Julien C, Zhang ZQ, Cerutti C, Barrès C.** Hemodynamic analysis of arterial pressure oscillations in conscious rats. *J Auton Nerv Syst* 50: 239-252, 1995.
123. **Junqueira FL Jr, Krieger EM.** Blood pressure and sleep in the rat in normotension and in neurogenic hypertension. *J Physiol* 259: 725-735, 1976.

124. **Kamiya A, Iwase S, Michikami D, Fu Q, Mano T.** Head-down bed rest alters sympathetic and cardiovascular responses to mental stress. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 279: R440-R447, 2000.
125. **Kamiya A, Kawada T, Mizuno M, Miyamoto T, Uemura K, Seki K, Shimizu S, Sugimachi M.** Baroreflex increases correlation and coherence of muscle sympathetic nerve activity (SNA) with renal and cardiac SNAs. *J Physiol Sci* 56: 325-333, 2006.
126. **Kamiya A, Kawada T, Yamamoto K, Michikami D, Ariumi H, Miyamoto T, Uemura K, Sugimachi M, Sunagawa K.** Muscle sympathetic nerve activity averaged over 1 minute parallels renal and cardiac sympathetic nerve activity in response to a forced baroreceptor pressure change. *Circulation* 112: 384-386, 2005 (a).
127. **Kamiya A, Kawada T, Yamamoto K, Michikami D, Ariumi H, Miyamoto T, Shimizu S, Uemura K, Aiba T, Sunagawa K, Sugimachi M.** Dynamic and static baroreflex control of muscle sympathetic nerve activity (SNA) parallels that of renal and cardiac SNA during physiological change in pressure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 289: H2641-H2648, 2005 (b).
128. **Kamiya A, Michikami D, Fu Q, Niimi Y, Iwase S, Mano T, Suzumura A.** Static handgrip exercise modifies arterial baroreflex control of vascular sympathetic outflow in humans. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 281: R1134-R1139, 2001.
129. **Kanbar R, Chapuis B, Oréa V, Barrès C, Julien C.** Baroreflex control of lumbar and renal sympathetic nerve activity in conscious rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 295: R8-R14, 2008.
130. **Kanbar R, Oréa V, Barrès C, Julien C.** Baroreflex control of renal sympathetic nerve activity during air-jet stress in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 292: R362-R367, 2007 (a).
131. **Kanbar R, Oréa V, Chapuis B, Barrès C, Julien C.** A transfer function method for the continuous assessment of baroreflex control of renal sympathetic nerve activity in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 293: R1938-R1946, 2007 (b).
132. **Karemaker JM, Wesseling KH.** Variability in cardiovascular control: the baroreflex reconsidered. *Cardiovasc Eng* 8: 23-29, 2008.
133. **Kawada T, Miyamoto T, Uemura K, Kashihara K, Kamiya A, Sugimachi M, Sunagawa K.** Effects of neuronal norepinephrine uptake blockade on baroreflex neural and peripheral arc transfer characteristics. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 286: R1110-R1220, 2004 (a).
134. **Kawada T, Sato T, Inagaki M, Shishido T, Tatewaki T, Yanagiya Y, Zheng C, Sugimachi M, Sunagawa K.** Closed-loop identification of carotid sinus baroreflex transfer characteristics using electrical stimulation. *Jpn J Physiol* 50: 371-380, 2000.
135. **Kawada T, Sato T, Shishido T, Inagaki M, Tatewaki T, Yanagiya Y, Sugimachi M, Sunagawa K.** Summation of dynamic transfer characteristics of left and right carotid sinus baroreflexes in rabbits. *Am J Physiol* 277: H857-865, 1999.
136. **Kawada T, Shishido T, Inagaki M, Tatewaki T, Zheng C, Yanagiya Y, Sugimachi M, Sunagawa K.** Differential dynamic baroreflex regulation of cardiac and renal sympathetic nerve activities. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 280: H1581-H1590, 2001.
137. **Kawada T, Shishido T, Inagaki M, Zheng C, Yanagiya Y, Uemura K, Sugimachi M, Sunagawa K.** Estimation of baroreflex gain using a baroreflex equilibrium diagram. *Jpn J Physiol* 52: 21-29, 2002 (a).

138. **Kawada T, Uemura K, Kashihara K, Kamiya A, Sugimachi M, Sunagawa K.** A derivative-sigmoidal model reproduces operating point-dependent baroreflex neural arc transfer characteristics. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 286: H2272-H2279, 2004 (b).
139. **Kawada T, Yamamoto K, Kamiya A, Ariumi H, Michikami D, Shishido T, Sunagawa K, Sugimachi M.** Dynamic characteristics of carotid sinus pressure-nerve activity transduction in rabbits. *Jpn J Physiol* 55: 157-163, 2005.
140. **Kawada T, Yamazaki T, Akiyama T, Li M, Ariumi H, Mori H, Sunagawa K, Sugimachi M.** Vagal stimulation suppresses ischemia-induced myocardial interstitial norepinephrine release. *Life Sci* 78: 882-887, 2006.
141. **Kawada T, Yanagiya Y, Uemura K, Miyamoto T, Zheng C, Li M, Sugimachi M, Sunagawa K.** Input-size dependence of the baroreflex neural arc transfer characteristics. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 284: H404-H415, 2003.
142. **Kawada T, Zheng C, Yanagiya Y, Uemura K, Miyamoto T, Inagaki M, Shishido T, Sugimachi M, Sunagawa K.** High-cut characteristics of the baroreflex neural arc preserve baroreflex gain against pulsatile pressure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 282: H1149-H1156, 2002 (b).
143. **Keller DM, Fadel PJ, Ogoh S, Brothers RM, Hawkins M, Olivencia-Yurvati A, Raven PB.** Carotid baroreflex control of leg vasculature in exercising and non-exercising skeletal muscle in humans. *J Physiol* 561: 283-293, 2004.
144. **Kendrick E, Oberg B, Wennergren G.** Vasoconstrictor fibre discharge to skeletal muscle, kidney, intestine and skin at varying levels of arterial baroreceptor activity in the cat. *Acta Physiol Scand* 85: 464-476, 1972.
145. **Kenney MJ.** Frequency characteristics of sympathetic nerve discharge in anesthetized rats. *Am J Physiol* 267: R830-R840, 1994.
146. **Kent BB, Drane JW, Manning JW.** Suprapontine contributions to the carotid sinus reflex in the cat. *Circ Res* 29: 534-541, 1971.
147. **Kezdi P, Geller E.** Baroreceptor control of postganglionic sympathetic nerve discharge. *Am J Physiol* 214: 427-435, 1968.
148. **Khatri IM, Freis ED.** Hemodynamic changes during sleep. *J Appl Physiol* 5: 867-873, 1967.
149. **Koch E.** Die reflektorische selbststeuerung des Kreislaufs. Dresden: Steinkopff, 1931.
150. **Koepke JP, DiBona GF.** Central beta-adrenergic receptors mediate renal nerve activity during stress in conscious spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 7: 350-356, 1985.
151. **Koopmans LH.** The Spectral Analysis of Time Series (2nd ed.). San Diego, CA: Academic, 1995.
152. **Korner PI, Shaw J, West MJ, Oliver JR.** Central nervous system control of baroreceptor reflexes in the rabbit. *Circ Res* 31: 637-652, 1972.
153. **Krieger EM.** Neurogenic hypertension in the rat. *Circ Res* 15: 511-521, 1964.
154. **Krieger EM, Brum PC, Negrão CE.** Role of arterial baroreceptor function on cardiovascular adjustments to acute and chronic dynamic exercise. *Biol Res* 31, 273-279, 1998.
155. **Krieger EM, Junqueira LF Jr.** The pattern of pressure changes during synchronized and desynchronized (REM) sleep as an index of baroreceptor function. *Chest* 83: 322-325, 1983.

156. **Kubota T, Alexander J Jr, Itaya R, Todaka K, Sugimachi M, Sunagawa K, Nose Y, Takeshita A.** Dynamic effects of carotid sinus baroreflex on ventriculoarterial coupling studied in anesthetized dogs. *Circ Res* 70: 1044-1053, 1992.
157. **Kulics JM, Collins HL, DiCarlo SE.** Postexercise hypotension is mediated by reductions in sympathetic nerve activity. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 276: H27-H32, 1999.
158. **Kunitake T, Kannan H.** Discharge pattern of renal sympathetic nerve activity in the conscious rat: spectral analysis of integrated activity. *J Neurophysiol* 84: 2859-2867, 2000.
159. **Lacombe J, Nosjean A, Meunier JM, Laguzzi R.** Computer analysis of cardiovascular changes during sleep-wake cycle in Sprague-Dawley rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 254: H217-H222, 1988.
160. **Lanfranchi PA, Somers VK.** Arterial baroreflex function and cardiovascular variability: interactions and implications. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 283: R815-R826, 2002.
161. **Laude D, Elghozi JL, Girard A, Bellard E, Bouhaddi M, Castiglioni P, Cerutti C, Cividjian A, Di Rienzo M, Fortrat JO, Janssen B, Karemaker JM, Lefthériotis G, Parati G, Persson PB, Porta A, Quintin L, Regnard J, Rüdiger H, Stauss HM.** Comparison of various techniques used to estimate spontaneous baroreflex sensitivity (the EuroBaVar study). *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 286: R226-R231, 2004.
162. **Legramante JM, Marciani MG, Placidi F, Aquilani S, Romigi A, Tombini M, Massaro M, Galante A, Iellamo F.** Sleep-related changes in baroreflex sensitivity and cardiovascular autonomic modulation. *J Hypertens* 21: 1555-1561, 2003.
163. **Létienné R, Barrès C, Cerutti C, Julien C.** Short-term haemodynamic variability in the conscious areflexic rat. *J Physiol* 506: 263-274, 1998.
164. **Levison WH, Barnett GO, Jackson WD.** Nonlinear analysis of the baroreceptor reflex system. *Circ Res* 18: 673-682, 1966.
165. **Lipman RD, Salisbury JK, Taylor JA.** Spontaneous indices are inconsistent with arterial baroreflex gain. *Hypertension* 42: 481-487, 2003.
166. **Liu HK, Guild SJ, Ringwood JV, Barrett CJ, Leonard BL, Nguang SK, Navakatikyan MA, Malpas SC.** Dynamic baroreflex control of blood pressure: influence of the heart vs. peripheral resistance. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 283: R533-R542, 2002.
167. **Liu JL, Murakami H, Zucker IH.** Effects of NO on baroreflex control of heart rate and renal nerve activity in conscious rabbits. *Am J Physiol* 270: R1361-R1370, 1996.
168. **Lundin S, Ricksten SE, Thorén P.** Interaction between mental stress and baroreceptor control of heart rate and sympathetic activity in conscious spontaneously hypertensive (SHR) and normotensive (WKY) rats. *J Hypertens Suppl* 1: 68-70, 1983.
169. **Lundin S, Ricksten SE, Thorén P.** Interaction between “mental stress” and baroreceptor reflexes concerning effects on heart rate, mean arterial pressure and renal sympathetic activity in conscious spontaneously hypertensive rats. *Acta Physiol Scand* 120: 273-281, 1984.
170. **Lundin S, Thorén P.** Renal function and sympathetic activity during mental stress in normotensive and spontaneously hypertensive rats. *Acta Physiol Scand* 115: 115-124, 1982.
171. **Machado BH, Bonagamba LG, Castania JA, Menani JV.** Aortic baroreceptors play a predominant role in the regulation of hindlimb vascular resistance in rats. *Am J Physiol* 267: R476-R480, 1994.

172. **Malliani A, Pagani M, Lombardi F.** Physiology and clinical implications of variability of cardiovascular parameters with focus on heart rate and blood pressure. *Am J Cardiol* 73: C3-C9, 1994.
173. **Malpas SC.** The rhythmicity of sympathetic nerve activity. *Prog Neurobiol* 56: 65-96, 1998.
174. **Malpas SC.** What sets the long-term level of sympathetic nerve activity: is there a role for arterial baroreceptors? *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 286: R1-R12, 2004.
175. **Malpas SC, Hore TA, Navakatikyan M, Lukoshkova EV, Nguang SK, Austin PC.** Resonance in the renal vasculature evoked by activation of the sympathetic nerves. *Am J Physiol* 276: R1311-R1319, 1999.
176. **Malpas SC, Ramchandra R, Guild SJ, Budgett DM, Barrett CJ.** Baroreflex mechanisms regulating mean level of SNA differ from those regulating the timing and entrainment of the sympathetic discharges in rabbits. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 291: R400-R409, 2006.
177. **Man in 't Veld A, Boomsma F, Lenders J, vd Meiracker A, Julien C, Tulen J, Moleman P, Thien T, Lamberts S, Schalekamp M.** Patients with congenital dopamine beta-hydroxylase deficiency. A lesson in catecholamine physiology. *Am J Hypertens* 1: 231-238, 1988.
178. **Mancia G.** Ambulatory blood pressure monitoring: research and clinical applications. *J Hypertens Suppl* 8: S1-13, 1990.
179. **Mandel DA, Schreihofner AM.** Central respiratory modulation of barosensitive neurones in rat caudal ventrolateral medulla. *J Physiol* 572: 881-896, 2006.
180. **Mangoni AA, Mircoli L, Giannattasio C, Ferrari AU, Mancia G.** Heart rate-dependence of arterial distensibility in vivo. *J Hypertens* 7: 897-901, 1996.
181. **Marsh DJ, Osborn JL, Cowley AW Jr.** 1/f fluctuations in arterial pressure and regulation of renal blood flow in dogs. *Am J Physiol* 258: F1394-F1400, 1990.
182. **Masaki S, Nose H.** Arterial baroreflex control of muscle blood flow at the onset of voluntary locomotion in mice. *J Physiol* 553: 191-201, 2003.
183. **Matsuda T, Bates JN, Lewis SJ, Abboud FM, Chappleau MW.** Modulation of baroreceptor activity by nitric oxide and S-nitrosocysteine. *Circ Res* 76: 426-433, 1995.
184. **Matsukawa K, Mitchell JH, Wall PT, Wilson LB.** The effect of static exercise on renal sympathetic nerve activity in conscious cats. *J Physiol* 434: 453-467, 1991.
185. **Matsukawa T, Sugiyama Y, Mano T.** Age-related changes in baroreflex control of heart rate and sympathetic nerve activity in healthy humans. *J Auton Nerv Syst* 60: 209-212, 1996.
186. **Mayorov DN.** Selective sensitization by nitric oxide of sympathetic baroreflex in rostral ventrolateral medulla of conscious rabbits. *Hypertension* 45: 901-906, 2005.
187. **McAllen RM, Dampney RA.** Vasomotor neurons in the rostral ventrolateral medulla are organized topographically with respect to type of vascular bed but not body region. *Neurosci Lett* 110: 91-96, 1990.
188. **McAllen RM, Malpas SC.** Sympathetic burst activity: characteristics and significance. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 24: 791-799, 1997.
189. **McAllen RM, May CN.** Differential drives from rostral ventrolateral medullary neurons to three identified sympathetic outflows. *Am J Physiol* 267: R935-R944, 1994.
190. **McAllen RM, May CN, Shafton AD.** Functional anatomy of sympathetic premotor cell groups in the medulla. *Clin Exp Hypertens* 17: 209-221, 1995.

191. **McDowall LM, Dampney RA.** Calculation of threshold and saturation points of sigmoidal baroreflex function curves. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 291: H2003-H2007, 2006 (a).
192. **McDowall LM, Horiuchi J, Killinger S, Dampney RA.** Modulation of the baroreceptor reflex by the dorsomedial hypothalamic nucleus and perifornical area. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 290: R1020-R1026, 2006 (b).
193. **McKeown KP, Shoukas AA.** Chronic isolation of carotid sinus baroreceptor region in conscious normotensive and hypertensive rats. *Am J Physiol* 275: H322-H329, 1998.
194. **Mifflin SW, Spyer KM, Withington-Wray DJ.** Baroreceptor inputs to the nucleus tractus solitarius in the cat: modulation by the hypothalamus. *J Physiol* 399: 369-387, 1988.
195. **Miki K, Kato M, Kajii S.** Relationship between renal sympathetic nerve activity and arterial pressure during REM sleep in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 284: R467-R473, 2003 (a).
196. **Miki K, Oda M, Kamijyo N, Kawahara K, Yoshimoto M.** Lumbar sympathetic nerve activity and hindquarter blood flow during REM sleep in rats. *J Physiol* 557: 261-271, 2004.
197. **Miki K, Yoshimoto M, Tanimizu M.** Acute shifts of baroreflex control of renal sympathetic nerve activity induced by treadmill exercise in rats. *J Physiol* 548: 313-322, 2003 (b).
198. **Miki K, Yoshimoto M.** Differential effects of behaviour on sympathetic outflow during sleep and exercise. *Exp Physiol* 90: 155-158, 2005.
199. **Minami N, Mori N, Nagasaka M, Ito O, Kurosawa H, Kanazawa M, Kaku K, Lee E, Kohzuki M.** Mechanism behind augmentation in baroreflex sensitivity after acute exercise in spontaneously hypertensive rats. *Hypertens Res* 29: 117-122, 2006.
200. **Miyano H, Kawada T, Shishido T, Sato T, Sugimachi M, Alexander J Jr, Sunagawa K.** Inhibition of NO synthesis minimally affects the dynamic baroreflex regulation of sympathetic nerve activity. *Am J Physiol* 272: H2446-H2452, 1997 (a).
201. **Miyano H, Kawada T, Sugimachi M, Shishido T, Sato T, Alexander J Jr, Sunagawa K.** Inhibition of NO synthesis does not potentiate dynamic cardiovascular response to sympathetic nerve activity. *Am J Physiol* 273: H38-H43, 1997 (b).
202. **Miyawaki T, Pilowsky P, Sun QJ, Minson J, Suzuki S, Arnolda L, Llewellyn-Smith I, Chalmers J.** Central inspiration increases barosensitivity of neurons in rat rostral ventrolateral medulla. *Am J Physiol* 268: R909-R918, 1995.
203. **Moffitt JA, Foley CM, Schadt JC, Laughlin MH, Hasser EM.** Attenuated baroreflex control of sympathetic nerve activity after cardiovascular deconditioning in rats. *Am J Physiol* 274: R1397-R1405, 1998.
204. **Moffitt JA, Heesch CM, Hasser EM.** Increased GABA(A) inhibition of the RVLM after hindlimb unloading in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 283: R604-R614, 2002.
205. **Moffitt JA, Schadt JC, Hasser EM.** Altered central nervous system processing of baroreceptor input following hindlimb unloading in rats. *Am J Physiol* 277: H2272-H2279, 1999.
206. **Montano N, Cogliati C, da Silva VJ, Gnecci-Ruscone T, Massimini M, Porta A, Malliani A.** Effects of spinal section and of positive-feedback excitatory reflex on sympathetic and heart rate variability. *Hypertension* 36: 1029-1034, 2000.

207. **Monti A, Medigue C, Nedelcoux H, Escourrou P.** Autonomic control of the cardiovascular system during sleep in normal subjects. *Eur J Appl Physiol* 87: 174-181, 2002.
208. **Morrison SF.** Differential control of sympathetic outflow. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 281: R683-R698, 2001 (a).
209. **Morrison SF.** Differential regulation of sympathetic outflows to vasoconstrictor and thermoregulatory effectors. *Ann N Y Acad Sci* 940: 286-298, 2001 (b).
210. **Mueller PJ, O'Hagan KP, Skogg KA, Buckwalter JB, Clifford PS.** Renal hemodynamic responses to dynamic exercise in rabbits. *J Appl Physiol* 85: 1605-1614, 1998.
211. **Murai, Hisayoshi, Shigeo Takata, Michiro Maruyama, Manabu Nakano, Daisuke Kobayashi, Kan-ichi Otowa, Masayuki Takamura, Toyoshi Yuasa, Satoru Sakagami, Shuichi Kaneko.** The activity of a single muscle sympathetic vasoconstrictor nerve unit is affected by physiological stress in humans. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 290: H853-H860, 2006.
212. **Nagura S, Sakagami T, Kakiuchi A, Yoshimoto M, Miki K.** Acute shifts in baroreflex control of renal sympathetic nerve activity induced by REM sleep and grooming in rats. *J Physiol* 558: 975-983, 2004.
213. **Nakata A, Takata S, Yuasa T, Shimakura A, Maruyama M, Nagai H, Sakagami S, Kobayashi K.** Spectral analysis of heart rate, arterial pressure, and muscle sympathetic nerve activity in normal humans. *Am J Physiol* 274: H1211-H1217, 1998.
214. **Nakazato T, Shikama T, Toma S, Nakajima Y, Masuda Y.** Nocturnal variation in human sympathetic baroreflex sensitivity. *J Auton Nerv Syst* 70: 32-37, 1998.
215. **Ninomiya I, Matsukawa K, Honda T, Nishiura N, Nabuchi A.** Effects of baroreceptor reflex on cardiac and renal sympathetic nerve activity before and after atropinization in awake cats at rest. *Jpn J Physiol* 38: 491-506, 1988 (a).
216. **Ninomiya I, Matsukawa K, Nishiura N.** Central and baroreflex control of sympathetic nerve activity to the heart and kidney in a daily life of the cat. *Clin Exp Hypertens A Suppl* 1: 19-31, 1988 (b).
217. **Ninomiya I, Nisimaru N, Irisawa H.** Sympathetic nerve activity to the spleen, kidney, and heart in response to baroreceptor input. *Am J Physiol* 221: 1346-1351, 1971.
218. **Nosaka S, Murata K, Inui K, Murase S.** Arterial baroreflex inhibition by midbrain periaqueductal grey in anaesthetized rats. *Pfluegers Arch* 424: 266-275, 1993.
219. **Oda Y, Asanoi H, Ueno H, Yamada K, Joho S, Kameyama T, Hirai T, Nozawa T, Takashima S, Inoue H.** Pulse-synchronous sympathetic burst power as a new index of sympathoexcitation in patients with heart failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 287: H1821-H1827, 2004.
220. **Ogoh S, Fisher JP, Raven PB, Fadel PJ.** Arterial baroreflex control of muscle sympathetic nerve activity in the transition from rest to steady-state dynamic exercise in humans. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 293: H2202-H2209, 2007.
221. **Okada H, Iwase S, Mano T, Sugiyama Y, Watanabe T.** Changes in muscle sympathetic nerve activity during sleep in humans. *Neurology* 41: 1961-1966, 1991.
222. **Oosting J, Struijker-Boudier HA, Janssen BJ.** Validation of a continuous baroreceptor reflex sensitivity index calculated from spontaneous fluctuations of blood pressure and pulse interval in rats. *J Hypertens* 15: 391-399, 1997.

223. **Oparil S, Chen YF, Wang RP.** Atrial natriuretic peptide inhibits sympathetic outflow in NaCl-sensitive spontaneously hypertensive rats. *J Hypertens* 9: 1177-1185, 1991.
224. **Oréa V, Kanbar R, Chapuis B, Barrès C, Julien C.** Transfer function analysis between arterial pressure and renal sympathetic nerve activity at cardiac pacing frequencies in the rat. *J Appl Physiol* 102: 1034-1040, 2007.
225. **Padilha JU, Krieger EM.** Alteration in baroreceptor function in rats produces typical pressure changes during sleep. *J Cardiovasc Pharmacol Suppl* 12: S194-S198, 1987.
226. **Pagani M, Montano N, Porta A, Malliani A, Abboud FM, Birkett C, Somers VK.** Relationship between spectral components of cardiovascular variabilities and direct measures of muscle sympathetic nerve activity in humans. *Circulation* 95: 1441-1448, 1997.
227. **Pagani M, Somers V, Furlan R, Dell'Orto S, Conway J, Baselli G, Cerutti S, Sleight P, Malliani A.** Changes in autonomic regulation induced by physical training in mild hypertension. *Hypertension* 12: 600-610, 1988.
228. **Parati G, Di Rienzo M, Castiglioni P, Bouhaddi M, Cerutti C, Cividjian A, Elghozi JL, Fortrat JO, Girard A, Janssen BJ, Julien C, Karemaker JM, Iellamo F, Laude D, Lukoshkova E, Pagani M, Persson PB, Quintin L, Regnard J, Ruediger JH, Saul PJ, Vettorello M, Wesseling KH, Mancia G; European Society of Hypertension Working Group on Blood Pressure and Heart Rate Variability.** Assessing the sensitivity of spontaneous baroreflex control of the heart: deeper insight into complex physiology. Letter to the Editor. *Hypertension* 43: e32-e34, 2004.
229. **Parati G, Pomidossi G, Casadei R, Groppelli A, Trazzi S, Di Rienzo M, Mancia G.** Role of heart rate variability in the production of blood pressure variability in man. *J Hypertens* 5: 557-560, 1987.
230. **Pawelczyk JA, Raven PB.** Reductions in central venous pressure improve carotid baroreflex responses in conscious men. *Am J Physiol* 257, H1389-H1395, 1989.
231. **Pelletier CL, Clement DL, Shepherd JT.** Comparison of afferent activity of canine aortic and sinus nerves. *Circ Res* 31: 557-568, 1972.
232. **Persson PB.** Spectrum analysis of cardiovascular time series. *Am J Physiol* 273: R1201-R1210, 1997.
233. **Persson PB, DiRienzo M, Castiglioni P, Cerutti C, Pagani M, Honzikova N, Akselrod S, Parati G.** Time versus frequency domain techniques for assessing baroreflex sensitivity. *J Hypertens* 19: 1699-1705, 2001.
234. **Persson PB, Stauss H, Chung O, Wittmann U, Unger T.** Spectrum analysis of sympathetic nerve activity and blood pressure in conscious rats. *Am J Physiol* 263: H1348-H1355, 1992.
235. **Peterson DF, Armstrong RB, Laughlin MH.** Sympathetic neural influences on muscle blood flow in rats during submaximal exercise. *J Appl Physiol* 65: 434-440, 1988.
236. **Petiot E, Barrès C, Chapuis B, Julien C.** Frequency response of renal sympathetic nervous activity to aortic depressor nerve stimulation in the anaesthetized rat. *J Physiol* 537: 949-959, 2001.
237. **Peveler RC, Bergel DH, Robinson JL, Sleight P.** The effect of phenylephrine upon arterial pressure, carotid sinus radius and baroreflex sensitivity in the conscious greyhound. *Clin Sci Colch* 64: 455-461, 1983.
238. **Pilowsky P.** Good vibrations? Respiratory rhythms in the central control of blood pressure. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 22: 594-604, 1995.

239. **Pilowsky PM, Goodchild AK.** Baroreceptor reflex pathways and neurotransmitters: 10 years on. *J Hypertens* 20: 1675-1688, 2002.
240. **Pinna GD.** Assessing baroreflex sensitivity by the transfer function method: what are we really measuring? *J Appl Physiol* 102: 1310-1311, 2007.
241. **Polson JW, Dampney RA, Boscan P, Pickering AE, Paton JF.** Differential baroreflex control of sympathetic drive by angiotensin II in the nucleus tractus solitarii. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 293: R1954-R1960, 2007.
242. **Potts JT.** Inhibitory neurotransmission in the nucleus tractus solitarii: implications for baroreflex resetting during exercise. *Exp Physiol* 91: 59-72, 2006.
243. **Potts JT, Mitchell JH.** Rapid resetting of carotid baroreceptor reflex by afferent input from skeletal muscle receptors. *Am J Physiol* 275: H2000-H2008, 1998.
244. **Potts JT, Paton JF, Mitchell JH, Garry MG, Kline G, Anguelov PT, Lee SM.** Contraction-sensitive skeletal muscle afferents inhibit arterial baroreceptor signalling in the nucleus of the solitary tract: role of intrinsic GABA interneurons. *Neuroscience* 119: 201-214, 2003.
245. **Potts JT, Shi XR, Raven PB.** Carotid baroreflex responsiveness during dynamic exercise in humans. *Am J Physiol* 265: H1928-H1938, 1993.
246. **Potts JT, Waldrop TG.** Discharge patterns of somatosensitive neurons in the nucleus tractus solitarius of the cat. *Neuroscience* 132: 1123-1134, 2005.
247. **Ramchandra R, Barrett CJ, Guild SJ, Malpas SC.** Evidence of differential control of renal and lumbar sympathetic nerve activity in conscious rabbits. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 290: R701-708, 2006.
248. **Randall DC, Brown DR, Brown LV, Kilgore JM.** Sympathetic nervous activity and arterial blood pressure control in conscious rat during rest and behavioral stress. *Am J Physiol* 267: R1241-R1249, 1994.
249. **Rathner JA, McAllen RM.** Differential control of sympathetic drive to the rat tail artery and kidney by medullary premotor cell groups. *Brain Res* 834: 196-169, 1999.
250. **Raven PB, Fadel PJ, Ogoh S.** Arterial baroreflex resetting during exercise: a current perspective. *Exp Physiol* 91: 37-49, 2006.
251. **Ricketts JH, Head GA.** A five-parameter logistic equation for investigating asymmetry of curvature in baroreflex studies. *Am J Physiol* 277: R441-R454, 1999.
252. **Ricksten SE, Thorén P.** Reflex inhibition of sympathetic activity during volume load in awake normotensive and spontaneously hypertensive rats. *Acta Physiol Scand* 110: 77-82, 1980.
253. **Ricksten SE, Yao T, di Bona GF, Thorén P.** Renal nerve activity and exaggerated natriuresis in conscious spontaneously hypertensive rats. *Acta Physiol Scand* 112: 161-167, 1981.
254. **Rondon E, Brasileiro-Santos MS, Moreira ED, Rondon MU, Mattos KC, Coelho MA, Silva GJ, Brum PC, Fiorino P, Irigoyen MC, Krieger EM, Middlekauff HR, Negrão CE.** Exercise training improves aortic depressor nerve sensitivity in rats with ischemia-induced heart failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 291: H2801-H2806, 2006.
255. **Rosenbaum M, Race D.** Frequency-response characteristics of vascular resistance vessels. *Am J Physiol* 215: 1397-1402, 1968.

256. **Rowell LB, O'Leary DS.** Reflex control of the circulation during exercise: chemoreflexes and mechanoreflexes. *J Appl Physiol* 69: 407-418, 1990.
257. **Rudas L, Crossman AA, Morillo CA, Halliwill JR, Tahvanainen KU, Kuusela TA, Eckberg DL.** Human sympathetic and vagal baroreflex responses to sequential nitroprusside and phenylephrine. *Am J Physiol* 276: H1691-H1698, 1999.
258. **Sato T, Kawada T, Inagaki M, Shishido T, Sugimachi M, Sunagawa K.** Dynamics of sympathetic baroreflex control of arterial pressure in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 285: R262-R270, 2003.
259. **Sato T, Kawada T, Inagaki M, Shishido T, Takaki H, Sugimachi M, Sunagawa K.** New analytic framework for understanding sympathetic baroreflex control of arterial pressure. *Am J Physiol* 276: H2251-H2261, 1999.
260. **Sato T, Kawada T, Shishido T, Miyano H, Inagaki M, Miyashita H, Sugimachi M, Knuepfer MM, Sunagawa K.** Dynamic transduction properties of in situ baroreceptors of rabbit aortic depressor nerve. *Am J Physiol* 274: H358-H365, 1998.
261. **Schadt JC, Hasser EM.** Hemodynamic effects of acute stressors in the conscious rabbit. *Am J Physiol* 274: R814-R821, 1998.
262. **Schadt JC, Hasser EM.** Hemodynamic effects of blood loss during a passive response to a stressor in the conscious rabbit. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 286: R373-R380, 2004.
263. **Scher AM, Young AC.** Servoanalysis of carotid sinus reflex effects on peripheral resistance. *Circ Res* 12: 152-162, 1963.
264. **Schreihofner AM, Guyenet PG.** The baroreflex and beyond: control of sympathetic vasomotor tone by GABAergic neurons in the ventrolateral medulla. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 29: 514-521, 2002.
265. **Scislo TJ, Augustyniak RA, O'Leary DS.** Differential arterial baroreflex regulation of renal, lumbar, and adrenal sympathetic nerve activity in the rat. *Am J Physiol* 275: R995-R1002, 1998.
266. **Scislo TJ, Ichinose TK, O'Leary DS.** Stimulation of NTS A1 adenosine receptors differentially resets baroreflex control of regional sympathetic outputs. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 294: H172-H182, 2008.
267. **Seagard JL, Hopp FA, Kampine JP.** Effect of sympathetic sensitization of baroreceptors on renal nerve activity. *Am J Physiol* 252: R328-R335, 1987.
268. **Sei H, Morita Y.** Effect of ambient temperature on arterial pressure variability during sleep in the rat. *J Sleep Res* 5: 37-41, 1996.
269. **Sei H, Morita Y, Tsunooka K, Morita H.** Sino-aortic denervation augments the increase in blood pressure seen during paradoxical sleep in the rat. *J Sleep Res* 8: 45-50, 1999.
270. **Sévoz-Couche C, Comet MA, Hamon M, Laguzzi R.** Role of nucleus tractus solitarius 5-HT₃ receptors in the defense reaction-induced inhibition of the aortic baroreflex in rats. *J Neurophysiol* 90: 2521-2530, 2003.
271. **Sheriff DD.** Baroreflex resetting during exercise: mechanisms and meaning. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 290: H1406-H1407, 2006.
272. **Silvani A.** Physiological sleep-dependent changes in arterial blood pressure: central autonomic commands and baroreflex control. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 35: 987-994, 2008.

273. **Silvani A, Bojic T, Cianci T, Franzini C, Lodi CA, Predieri S, Zoccoli G, Lenzi P.** Effects of acoustic stimulation on cardiovascular regulation during sleep. *Sleep* 26: 201-205, 2003.
274. **Silveira NP, Moreira ED, Drager LF, Silva GJ, Krieger EM.** Effects of sinoaortic denervation on hemodynamic parameters during natural sleep in rats. *Sleep* 31: 328-333, 2008.
275. **Simon OR, Basuray BN, West WL, Copeland R.** Interaction between the baroreflex and anterior hypothalamic stimulation. Demonstration of a noradrenergic involvement. *Neuropharmacology* 24: 665-675, 1985.
276. **Smith JK, Barron KW.** Posterior hypothalamic influences on cardiovascular effects of aortic nerve stimulation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 257: H1994-H2000, 1989.
277. **Smyth HS, Sleight P, Pickering GW.** Reflex regulation of arterial pressure during sleep in man: a quantitative method of assessing baroreflex sensitivity. *Circ Res* 24: 109-121, 1969.
278. **Snyder F, Hobson JA, Morrison DF, Goldfrank F.** Changes in respiration, heart rate, and systolic blood pressure in human sleep. *J Appl Physiol* 19: 417-422, 1964.
279. **Somers VK, Dyken ME, Mark AL, Abboud FM.** Sympathetic-nerve activity during sleep in normal subjects. *N Engl J Med* 328: 303-307, 1993.
280. **Souza Neto EP, Neidecker J, Lehot JJ.** To understand blood pressure and heart rate variability. *Ann Fr Anesth Reanim* 22: 425-452, 2003.
281. **Stauss HM.** Identification of blood pressure control mechanisms by power spectral analysis. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 34: 362-328, 2007.
282. **Stauss HM, Kregel KC.** Frequency response characteristic of sympathetic-mediated vasomotor waves in conscious rats. *Am J Physiol* 271: H1416-H1422, 1996.
283. **Stauss HM, Stegmann JU, Persson PB, Häbler HJ.** Frequency response characteristics of sympathetic transmission to skin vascular smooth muscles in rats. *Am J Physiol* 277: R591-R600, 1999.
284. **Stephenson RB.** Modification of reflex regulation of blood pressure by behavior. *Annu Rev Physiol* 46:133-142, 1984.
285. **Su DF, Cerutti C, Barrès C, Julien C, Vincent M, Paultre C, Sassard J.** Arterial baroreflex control of heart period is not related to blood pressure variability in conscious hypertensive and normotensive rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 11: 767-776, 1992.
286. **Sugimachi M, Imaizumi T, Sunagawa K, Hirooka Y, Todaka K, Takeshita A, Nakamura M.** A new method to identify dynamic transduction properties of aortic baroreceptors. *Am J Physiol* 258: H887-H895, 1990.
287. **Sunagawa K, Sato T, Kawada T.** Integrative sympathetic baroreflex regulation of arterial pressure. *Ann N Y Acad Sci* 940: 314-323, 2001.
288. **Sundlöf G, Wallin BG.** Human muscle nerve sympathetic activity at rest. Relationship to blood pressure and age. *J Physiol* 274: 621-637, 1978.
289. **Thomas GD, Segal SS.** Neural control of muscle blood flow during exercise. *J Appl Physiol* 97: 731-738, 2004.
290. **Thorén P, Ricksten SE.** Recordings of renal and splanchnic sympathetic nervous activity in normotensive and spontaneously hypertensive rats. *Clin Sci (Lond) Suppl* 5: 197s-199s, 1979.

291. **Timmers HJ, Deinum J, Wevers RA, Lenders JW.** Congenital dopamine-beta-hydroxylase deficiency in humans. *Ann N Y Acad Sci* 1018: 520-523, 2004.
292. **Tomomatsu E, Nishi K.** Increased activity of carotid sinus baroreceptors by sympathetic stimulation and norepinephrine. *Am J Physiol* 240: H650-H658, 1981.
293. **Toska K, Eriksen M.** Respiration-synchronous fluctuations in stroke volume, heart rate and arterial pressure in humans. *J Physiol* 472: 501-512, 1993.
294. **Unger T, Becker H, Petty M, Demmert G, Schneider B, Ganten D, Lang RE.** Differential effects of central angiotensin II and substance P on sympathetic nerve activity in conscious rats. Implications for cardiovascular adaptation to behavioral responses. *Circ Res* 56: 563-575, 1985.
295. **van De Borne P, Mezzetti S, Montano N, Narkiewicz K, Degaute JP, Somers VK.** Hyperventilation alters arterial baroreflex control of heart rate and muscle sympathetic nerve activity. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 279: H536-H541, 2000.
296. **van de Borne P, Nguyen H, Biston P, Linkowski P, Degaute JP.** Effects of wake and sleep stages on the 24-h autonomic control of blood pressure and heart rate in recumbent men. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 266: H548-H554, 1994 (a).
297. **van de Borne P, Rahnama M, Mezzetti S, Montano N, Porta A, Degaute JP, Somers VK.** Contrasting effects of phentolamine and nitroprusside on neural and cardiovascular variability. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 281: H559-H565, 2001.
298. **van de Borne P, Schintgen M, Niset G, Schoenfeld P, Nguyen H, Degré S, Degaute JP.** Does cardiac denervation affect the short-term blood pressure variability in humans? *J Hypertens* 12: 1395-1403, 1994 (b).
299. **van de Vooren H, Gademan MG, Swenne CA, TenVoorde BJ, Schalijs MJ, Van der Wall EE.** Baroreflex sensitivity, blood pressure buffering, and resonance: what are the links? Computer simulation of healthy subjects and heart failure patients. *J Appl Physiol* 102: 1348-1356, 2007.
300. **van den Buuse M, Head GA.** Quinpirole treatment increases renal sympathetic nerve activity and baroreflex gain in conscious rabbits: a spectral study. *Eur J Pharmacol* 388: 85-88, 2000.
301. **Victor RG, Leimbach WN Jr, Seals DR, Wallin BG, Mark AL.** Effects of the cold pressor test on muscle sympathetic nerve activity in humans. *Hypertension* 9: 429-436, 1987.
302. **Victor RG, Thorén P, Morgan DA, Mark AL.** Differential control of adrenal and renal sympathetic nerve activity during hemorrhagic hypotension in rats. *Circ Res* 64: 686-694, 1989.
303. **Waki H, Kasparov S, Katahira K, Shimizu T, Murphy D, Paton JF.** Dynamic exercise attenuates spontaneous baroreceptor reflex sensitivity in conscious rats. *Exp Physiol* 88: 517-526, 2003.
304. **Walgenbach SC, Donald DE.** Inhibition by carotid baroreflex of exercise-induced increases in arterial pressure. *Circ Res* 52: 253-262, 1983.
305. **Wallin BG.** Regulation of sympathetic nerve traffic to skeletal muscle in resting humans. *Clin Auton Res* 16: 262-269, 2006.
306. **Wallin BG, Charkoudian N.** Sympathetic neural control of integrated cardiovascular function: insights from measurement of human sympathetic nerve activity. *Muscle Nerve* 36: 595-614, 2007.
307. **Wallin BG, Sundlöf G.** A quantitative study of muscle nerve sympathetic activity in resting normotensive and hypertensive subjects. *Hypertension* 1: 67-77, 1979.

308. **Weinstock M, Korner PI, Head GA, Dorward PK.** Differentiation of cardiac baroreflex properties by cuff and drug methods in two rabbit strains. *Am J Physiol* 255: R654-R664, 1988.
309. **Wesseling KH, Settels JJ.** Baromodulation explains short-term blood pressure variability. In *Psychophysiology of Cardiovascular Control*, ed. Orlebeke JF, Mulder G & Van Doornen LJP, pp. 69-97. Plenum Press, New York, 1985.
310. **Wesseling KH, Settels JJ.** Circulatory model of baro- and cardio-pulmonary reflexes. Blood pressure and heart rate variability, Edition IOS press, 1992.
311. **Wesseling KH, Settels JJ, Walstra HG, van Esch HJ, Donders JJH.** Baromodulation as the cause of short term blood pressure variability. *Application of Physics to Medicine and Biology*, World scientific, Singapore, pp247-276, 1983.
312. **Wilson TE, Cui J, Crandall CG.** Absence of arterial baroreflex modulation of skin sympathetic activity and sweat rate during whole-body heating in humans. *J Physiol* 536: 615-623, 2001.
313. **Yamamoto K, Kawada T, Kamiya A, Takaki H, Sugimachi M, Sunagawa K.** Static interaction between muscle mechanoreflex and arterial baroreflex in determining efferent sympathetic nerve activity. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 289: H1604-H1609, 2005.
314. **Yoshida T, Harasawa Y, Kubota T, Chishaki H, Kubo T, Sunagawa K, Takeshita A.** Role of carotid sinus baroreflex in attenuating systemic arterial pressure variability studied in anesthetized dogs. *Am J Physiol* 266: H720-H729, 1994.
315. **Yoshimoto M, Sakagami T, Nagura S, Miki K.** Relationship between renal sympathetic nerve activity and renal blood flow during natural behavior in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 286: R881-R887, 2004.
316. **Yoshino K, Hayakawa M, Niki E, Matsuoka K.** Closed-loop analysis of cardiovascular variability in rats under restraint stress. *Auton Neurosci* 119: 61-66, 2005.
317. **Zhang ZQ, Barrès C, Julien C.** Involvement of vasodilator mechanisms in arterial pressure lability after sino-aortic baroreceptor denervation in rat. *J Physiol* 482: 435-448, 1995.
318. **Zhang ZQ, Julien C, Barrès C.** Baroreceptor modulation of regional haemodynamic responses to acute stress in rat. *J Auton Nerv Syst* 60: 23-30, 1996.
319. **Zhang ZQ, Julien C, Gustin MP, Cerutti C, Barrès C.** Hemodynamic analysis of arterial pressure lability in sympathectomized rat. *Am J Physiol* 267: H48-H56, 1994.

CONTRÔLE BARORÉFLEXE DE L'ACTIVITÉ NERVEUSE SYMPATHIQUE CHEZ LE RAT

Chez le rat, un index spontané de mesure de la sensibilité du contrôle baroréflexe de l'activité nerveuse sympathique (ANS) a été développé, validé et appliqué. Il est fondé sur le calcul du gain de la fonction de transfert entre la pression artérielle et l'ANS, à la fréquence cardiaque.

L'entraînement cardiaque, chez l'animal anesthésié, révèle que ce gain n'est pas influencé par les variations du rythme cardiaque. En mesurant l'ANS rénale chez des rats vigils ayant des barorécepteurs intacts ou partiellement dénervés, il est montré que cet index est positivement corrélé à la sensibilité baroréflexe mesurée par méthode pharmacologique. L'intérêt fonctionnel de cet index est confirmé par l'existence d'une relation inverse avec la variabilité tensionnelle. Chez des rats intacts, l'application aiguë d'un stress émotionnel par jet d'air sensibilise le contrôle baroréflexe de l'ANS rénale, et ceci quelle que soit la méthode d'évaluation utilisée.

Cet index, calculé sur des périodes successives d'une minute, chez des rats éveillés, révèle que la sensibilité du contrôle baroréflexe de l'ANS rénale fluctue spontanément au cours du temps. Le calcul de cet index au moyen des ANSs rénale et lombaire, enregistrées simultanément chez des rats vigils, suggère une régulation baroréflexe homogène des ANS régionales.

Mots clés : Baroréflexe artériel, système nerveux sympathique, variabilité tensionnelle, stress émotionnel

BAROREFLEX CONTROL OF SYMPATHETIC NERVE ACTIVITY IN THE RAT

In the rat, a spontaneous index of the sensitivity of the baroreflex control of sympathetic nerve activity (SNA) has been developed, validated and applied. It is based on the calculation of the transfer function gain between arterial pressure (AP) and SNA, at heart rate frequency.

Cardiac pacing, in anesthetized rats, showed that this gain is not influenced by heart rate fluctuations. By measuring renal SNA in conscious rats with either intact or partially denervated baroreceptors, it was found that this index is positively correlated with the baroreflex sensitivity measured by the pharmacological method. The functional relevance of this index was confirmed by the existence of an inverse relationship with AP variability. In intact rats, acute exposure to air jet stress sensitized the baroreflex control of renal SNA, when assessed with either method.

This index, calculated over 1-min consecutive periods in conscious rats revealed that the sensitivity of the baroreflex control of renal SNA fluctuates spontaneously over time. The computation of this index using both renal and lumbar SNAs, simultaneously recorded in conscious rats, pointed to a homogenous baroreflex regulation of regional SNAs.

Keywords : Arterial baroreceptor reflex, sympathetic nervous system, arterial pressure variability, emotional stress

**Laboratoire de Physiologie, ISPB, Faculté de Pharmacie, Université Claude Bernard
Lyon 1, 8 avenue Rockefeller, 69373 Lyon Cedex 08, France**
