



**HAL**  
open science

# Caractérisation physiopathologique et pharmacologique d'un modèle porcin de dysfonction diastolique avec éjection préservée.

Mario Rienzo

► **To cite this version:**

Mario Rienzo. Caractérisation physiopathologique et pharmacologique d'un modèle porcin de dysfonction diastolique avec éjection préservée.. Médecine humaine et pathologie. Université Paris-Est, 2013. Français. NNT : 2012PEST0072 . tel-01124196

**HAL Id: tel-01124196**

**<https://theses.hal.science/tel-01124196>**

Submitted on 6 Mar 2015

**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.

# UNIVERSITE PARIS-EST

ECOLE DOCTORALE : SCIENCES DE LA VIE ET DE LA SANTÉ

PÔLE : PHARMACOLOGIE et BIOTHÉRAPIES

ANNÉE : 2013

SERIE DOCTORAT N°

## THÈSE

Présentée

À L'UNITÉ DE FORMATION ET DE RECHERCHE

FACULTE DE MEDECINE PARIS-EST

pour l'obtention du grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ PARIS-EST

par

**Monsieur Mario RIENZO**

**CARACTERISATIONS PHYSIOPATHOLOGIQUE ET  
PHARMACOLOGIQUE D'UN MODELE PORCIN DE DYSFONCTION  
DIASTOLIQUE AVEC EJECTION PRESERVEE**

soutenu le 26 novembre 2013

JURY:

Mr. le Pr A. BERDEAUX

Président du jury

Mme. le Dr Jane-Lise SAMUEL

Rapporteur

Mr. le Pr Xavier MONNET

Rapporteur

Mr. le Pr Jean Jacques MERCADIER

Examineur

Mr. le Pr Bernard CHOLLEY

Examineur

Mr. le Pr Bijan GHALEH-MARZBAN

Directeur de thèse

*À mes grands-parents Maddalena et Salvatore, Maria Luigia et Giuseppe*

*À mes parents Angela et Antonio*

*À ma sœur Marilisa*

*À mon neveu Andrea*

Mon amour et mon affection, ma reconnaissance et ma dévotion, mes prières et mes pensées.

Time is a necessary representation on which all intuitions depend. We cannot take away time from phenomena in general, though we can well take away phenomena out of time. Time therefore is given *a priori*. In time alone is reality of phenomena possible.

*Immanuel Kant*

The true discovery trip is not to search for new land, but to see with new eyesight.

*François-Marie Arouet (Voltaire)*

Don't only practice your art, but force your way into its secrets,  
for it and knowledge can rise men to the Divine

*Ludwig van Beethoven*

"Staying young requires the unceasing cultivation  
of the ability to unlearn old falsehoods."

*Robert Anson Heinlein*

The mind is like a parachute;  
it only functions when it's open.

*(Anonymous)*

J'adresse tous mes remerciements,

A Monsieur le Professeur Alain Berdeaux,  
pour m'avoir ouvert les portes de son laboratoire dans un moment pas très facile de ma vie professionnelle,  
pour la gentillesse qu'il a manifestée à mon égard tout au long de mon parcours de thésard,  
pour la confiance qu'il m'a accordée au démarrage de ce projet,  
qu'il reçoive ici l'expression de ma profonde gratitude.

A Madame le Docteur Jean-Lise Samuel,  
qui m'a déjà questionné sur « mon » sujet dans le cadre des journées de la Société Française d'Hypertension et qui aujourd'hui a bien voulu accepté d'être rapporteur de ce travail de thèse,  
qu'elle trouve ici l'expression de ma reconnaissance et de ma sincère gratitude.

A Monsieur le Professeur Xavier Monnet,  
pour avoir accepté, sans me connaître, ma collaboration de jeune interne lors de mon arrivée en France,  
pour avoir manifesté envers moi son estime personnelle et professionnelle au fil du temps,  
pour avoir accepté d'être rapporteur de ce travail  
qu'il trouve ici l'expression de ma sincère et amicale gratitude.

A Monsieur le Professeur Jean Jacques Mercadier  
qui a suivi mon parcours scientifique dès le début, étant responsable pédagogique du Master 2,  
pour avoir accepté de faire partie de ce jury,  
qu'il trouve ici l'expression de ma reconnaissance et de ma sincère gratitude.

A Monsieur le Professeur Bernard Cholley,  
pour avoir accepté de me rencontrer et me permettant ainsi d'écrire une « autre page » de ma vie professionnelle,  
pour avoir accepté de faire partie de ce jury,  
qu'il trouve ici l'expression de ma reconnaissance et de ma sincère gratitude.

A Monsieur le Professeur Bijan Ghaleh-Marzban,  
pour avoir mené le bateau dans des « eaux périlleuses » et accepté ouvertement la confrontation avec moi, pas toujours détendue,  
pour les nombreuses discussions, non seulement scientifiques, qui ont caractérisé les séances d'écriture des papiers et du présent manuscrit,  
pour le lien d'amitié qui s'est progressivement installé entre nous,  
je souhaite lui exprimer ma profonde reconnaissance et mon attachement.

A mes amis de « l'équipe porc » Alain Bizé, Lucien Sambin, Jonathan Melka, Dyonissis Pongas et Hon Lai Chan : sans leur collaboration et soutien rien de tout cela aurait été possible.

A mes amis de « l'équipe lapin » Fanny Lidouren, Mourad Chenoune, Nicolas Couvreur, Lys Darbera, Mathias Kohlhauer, Renaud Tissier pour leur soutien et ouverture d'esprit.

A tous les autres membres de l'Equipe 03 Sandrine Pons, Stéphanie Michineau, Roland Zini, JinBo Su, Hubert Dabire, Camille Bouissou-Schrtz, Alexandra d'Anglemont de Tassigny, Belaïd Bouhemad, Mathieu Jozwiak, Saadia Karim, Sandrine Bonizec, Stéphanie Paradis, Valérie Martin, Rana Assaly, Lolita Portal, Romain Long, Didier Morin, Sophie Nunez, Corinne Deschenes, Lydie Laure, Luca Zilberstein, Valerie Chetboul, Vassiliki Gouni, Roberto Motterlini, Roberta Foresti, Philippe Lecorvoisier, Luc Hittinger pour leur gentillesse et accueil chaleureux.

En ce tournant de ma vie je tiens tout particulièrement à exprimer ma profonde affection et ma reconnaissance à ceux que je considère mon trésor humain:

mes amis d'enfance avec qui j'ai grandi et muri ;

mes amis et collègues avec qui j'ai eu l'honneur et le plaisir de partager ma vie : merci pour m'avoir appuyé et soutenu quand les nuages ont occupé l'horizon ;

les figures socratiques qui ont pointillé ma vie et ont façonné par leur démarche mon esprit;

Sylvie, Claude, Antoine, Armelle, Charlotte, Céline et Charlotte qui m'ont accueilli.

## SOMMAIRE

<b>SOMMAIRE</b>	<b>1</b>
<b>GLOSSAIRE</b>	<b>5</b>
<b>LISTE DES FIGURES ET DES TABLEAUX</b>	<b>6</b>
<b>INTRODUCTION</b>	<b>8</b>
<hr/>	
<b>PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE</b>	<b>10</b>
<hr/>	
<b>CHAPITRE I : PHYSIOLOGIE DU CYCLE CARDIAQUE</b>	<b>11</b>
<hr/>	
<b>I. LE CYCLE CARDIAQUE</b>	<b>12</b>
A. HISTORIQUE	12
B. LES DIFFERENTES PHASES DU CYCLE CARDIAQUE	12
<u>1- La contraction isovolumique</u>	14
<u>2- L'éjection ventriculaire</u>	14
<u>3- Le ralentissement de l'éjection et le début de la relaxation</u>	14
<u>4- La relaxation isovolumique</u>	15
<u>5- Le remplissage précoce (succion)</u>	15
<u>6- La diastase</u>	15
<u>7- La contraction atriale</u>	15
<b>II. LA FONCTION DE POMPE</b>	<b>15</b>
A. LE CŒUR COMME POMPE HYDRAULIQUE	16
B. LE CŒUR COMME POMPE HEMODYNAMIQUE	19
C. LIMITES DES MODELES DE POMPES HYDRAULIQUE ET HEMODYNAMIQUE	20
<u>1- Cadre temporel</u>	20
<u>2- Concepts issus des études menées sur les fibres musculaires</u>	21
a) Modulation de la relaxation par la charge.	21
b) Modulation de la relaxation par l'activation-inactivation	22
D. LE CŒUR COMME POMPE MUSCULAIRE	23
<u>1-Modulation par la charge.</u>	23
<u>2-Modulation par l'activation-inactivation</u>	23
<u>3-Modulation par la non-uniformité</u>	24
F. IMPLICATIONS PHYSIOLOGIQUES ET PHYSIOPATHOLOGIQUES DU CONCEPT DE POMPE MUSCULAIRE	25
<hr/>	
<b>CHAPITRE II : LA DYSFONCTION DIASTOLIQUE</b>	<b>26</b>
<hr/>	
<b>I. LA DYSFONCTION DIASTOLIQUE : PRÉAMBULE</b>	<b>27</b>
<b>II. LA DYSFONCTION DIASTOLIQUE EN CLINIQUE HUMAINE</b>	<b>28</b>
A. MANIFESTATION	28
B. ETIOLOGIES	28
<u>1- Impact de l'âge</u>	28
<u>2- Le sexe</u>	29
<u>3- Le diabète</u>	29
<u>4- L'hypertension artérielle</u>	29
<u>5- La cardiopathie ischémique</u>	30
<u>6- La cardiomyopathie hypertrophique</u>	30
<u>7- Les maladies auto-immunes systémiques</u>	30
<u>8- Les maladies endocriniennes</u>	31
<u>9- Association dysfonction diastolique – insuffisance cardiaque</u>	31
<b>III. EVALUATION CLINIQUE DE LA FONCTION DIASTOLIQUE</b>	<b>31</b>
A. EVALUATION INVASIVE	31
<u>1- La cinétique de la relaxation ventriculaire (remplissage précoce)</u>	32
<u>2- Distensibilité diastolique du ventricule gauche (diastase et remplissage tardif)</u>	32

	2
B. EVALUATION NON-INVASIVE	33
1- <i>L'échocardiographie</i>	34
2- <i>L'imagerie par résonance magnétique</i>	39
<b>CHAPITRE III : L'INSUFFISANCE CARDIAQUE A FRACTION D'EJECTION PRESERVEE</b>	<b>41</b>
<b>I. CRITERES DIAGNOSTIQUES</b>	<b>42</b>
A. SIGNES D'INSUFFISANCE CARDIAQUE	42
B. UNE FRACTION D'EJECTION PRESERVEE	43
C. LA DYSFONCTION DIASTOLIQUE DU VENTRICULE GAUCHE	43
1- <i>Approche de l'American Heart Association</i>	44
2- <i>Approche de l'European Society of Cardiology</i>	44
3- <i>Intolérance au stress</i>	45
<b>II. EPIDEMIOLOGIE</b>	<b>46</b>
A. GENERALITES	46
B. IMPACT DE L'AGE	48
C. IMPACT DE SEXE	48
D. IMPACT DES COMORBIDITES	49
1- <i>L'hypertension artérielle</i>	49
2- <i>Les pathologies coronaires et valvulaires</i>	49
3- <i>Le diabète et l'obésité</i>	49
4- <i>La fibrillation atriale</i>	50
5- <i>La Broncho-Pneumopathie Chronico-Obstructive (BPCO)</i>	50
6- <i>L'anémie</i>	50
7- <i>Les maladies renales chroniques</i>	51
8- <i>Commentaires</i>	51
<b>CHAPITRE IV : DYSFONCTION DIASTOLIQUE ET INSUFFISANCE CARDIAQUE A FRACTION D'EJECTION PRESERVEE : MECANISMES PHYSIOPATHOLOGIQUES ET TRAITEMENTS</b>	<b>53</b>
<b>I. MECANISMES PHYSIOPATHOLOGIQUES</b>	<b>54</b>
A. ALTERATIONS STRUCTURELLES : LA RIGIDITE VENTRICULAIRE GAUCHE	54
1- <i>Composition de la matrice extracellulaire</i>	54
2- <i>Modification du sarcomère</i>	55
B. ALTERATIONS FONCTIONNELLES: LA RELAXATION VENTRICULAIRE	56
1- <i>Altérations de l'homéostasie calcique</i>	56
2- <i>Augmentation de la rigidité du sarcomère</i>	57
3- <i>Altération par la charge</i>	58
C. ANOMALIE DU COUPLAGE VENTRICULO-ARTERIEL	58
D. INFLUENCE DE LA NON-UNIFORMITE DU MYOCARDE	60
E. DYSFONCTION SYSTOLIQUE	61
F. INCOMPETENCE CHRONOTROPE	62
G. TACHYCARDIE	62
H. UNE OU DES INSUFFISANCES CARDIAQUES ?	62
<b>II. APPROCHES PHARMACOLOGIQUES ET THERAPEUTIQUES</b>	<b>66</b>
A. TRAITEMENT PREVENTIF ET ETIOLOGIQUE	66
1- <i>Inhibition du système rénine-angiotensine-aldostérone</i>	68
2- <i>Les <math>\beta</math>-bloquants</i>	68
3- <i>Les inhibiteurs calciques</i>	68
4- <i>Diurétiques, antagonistes de l'aldostérone</i>	68
5- <i>Contrôle métabolique</i>	69
B. TRAITEMENT SPECIFIQUE : LES ESSAIS THERAPEUTIQUES	70
1- <i>Inhibition du système rénine-angiotensine -aldostérone</i>	70
2- <i><math>\beta</math>-bloquants</i>	72
3- <i>Les antagonistes calciques</i>	73



	3
<u>4- Les digitaliques</u>	73
<u>5- Les diurétiques</u>	74
<u>6- Les dérivés nitrés</u>	74
C. LES NOUVELLES APPROCHES PHARMACOLOGIQUES	74
<u>1- Les inhibiteurs des 5-phosphodiesterases</u>	74
<u>2- Modulation sélective de la fréquence cardiaque</u>	75
<u>3- Modulation du « turn-over » de la matrice extracellulaire</u>	75
<u>4- Modulation du métabolisme énergétique</u>	76
<u>5- Modulation du calcium intracellulaire</u>	76
<u>6- Modulation du courant sodique lent</u>	76
<u>7- modulation du syndrome inflammatoire</u>	77
<u>8- Inhibition des rho-kinases</u>	77
<u>9- Les statines</u>	77
D. COMMENTAIRES	77
<b>PARTIE EXPERIMENTALE</b>	<b>79</b>
<b>CHAPITRE V : OBJECTIFS DU TRAVAIL</b>	<b>80</b>
<b>CHAPITRE VI : MATERIEL ET METHODES</b>	<b>82</b>
<b>I. DISPOSITIF EXPÉRIMENTAL : PORCS ÉVEILLÉS CHRONIQUEMENT INSTRUMENTÉS</b>	<b>83</b>
A. CADRE REGLEMENTAIRE	83
B. ANIMAUX	83
C. INSTRUMENTATION DES ANIMAUX	83
D. PARAMETRE MESURES	85
<u>1. Mesure des pressions aortique, atriale et ventriculaire</u>	85
<u>2. Mesure du débit cardiaque</u>	85
<u>3. Mesure de l'épaisseur pariétale et du diamètre ventriculaire</u>	85
<u>4. Mesure des conditions de charge</u>	87
<u>5. Mesure des intervalles de temps du cycle cardiaque</u>	87
<u>6. Evaluation de la relaxation isovolumique</u>	88
<u>7. Recueil des données</u>	88
E. ANALYSES HISTOLOGIQUES	88
F. SUBSTANCES UTILISEES	89
G. ANALYSES STATISTIQUES	89
H. JUSTIFICATION DU DISPOSITIF EXPERIMENTAL	89
<b>II. MODÈLE EXPÉRIMENTAL D'HYPERTENSION ARTÉRIELLE CHRONIQUE</b>	<b>90</b>
A. PREAMBULE	90
B. COURBE DOSE-REPONSE	91
C. PROTOCOLE HYPERTENSIF	91
D. CARACTERISTIQUES DU MODELE EXPERIMENTAL	92
<u>1- Hémodynamique générale</u>	92
<u>2- Hypertrophie ventriculaire gauche</u>	93
<b>CHAPITRE VII : ETUDE DU COUPLAGE CONTRACTION-RELAXATION</b>	<b>96</b>
<b>I. CONTEXTE ET OBJECTIFS</b>	<b>97</b>
<b>II. PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL</b>	<b>97</b>
<b>III. PRINCIPAUX RÉSULTATS</b>	<b>98</b>
A. ALTERATION DE LA RELAXATION ISOVOLUMIQUE AU REPOS	98
B. ALTERATION DE LA RELAXATION ISOVOLUMIQUE LORS DE L'ADMINISTRATION DE DOBUTAMINE	99
C. ANALYSE DE LA PHASE D'EJECTION	99
D. ALTERATION DE LA CONTRACTION ISOVOLUMIQUE	100
E. ALTERATION DE LA CONTRACTION ISOVOLUMIQUE LORS DE L'ADMINISTRATION DE DOBUTAMINE	101

	4
F. ANOMALIES DU REMPLISSAGE	102
G. COUPLAGE CONTRACTION-RELAXATION	102
<b>IV. COMMENTAIRES</b>	<b>104</b>
<b><u>CHAPITRE VIII : MODULATION PHARMACOLOGIQUE DU COUPLAGE CONTRACTION-RELAXATION</u></b>	<b>105</b>
<b>I. CONTEXTE ET OBJECTIFS</b>	<b>106</b>
<b>II. PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL</b>	<b>107</b>
<b>III. PRINCIPAUX RÉSULTATS</b>	<b>107</b>
A. FREQUENCE CARDIAQUE	107
B. ALTERATION DES PHASES ISOVOLUMIQUES A L'ETAT DE BASE ET REDUCTION DE LA FREQUENCE CARDIAQUE	107
<b>C. ALTÉRATION DES PHASES ISOVOLUMIQUES, DOBUTAMINE ET RÉDUCTION DE LA FRÉQUENCE CARDIAQUE</b>	<b>110</b>
<b>IV. COMMENTAIRES</b>	<b>112</b>
<b><u>CHAPITRE IX : DISCUSSION GENERALE ET CONCLUSIONS</u></b>	<b>114</b>
<b><u>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</u></b>	<b>121</b>

## GLOSSAIRE

ACC : *american college of cardiology*

DOCA: déoxycortico-acétate

dP : variation de pression

dP/dt : dérivée première par rapport au temps de la pression ventriculaire gauche

dP/dt<sub>min</sub> : valeur minimale de la dérivée première par rapport au temps de la pression ventriculaire gauche

DTI : imagerie par Doppler tissulaire

dV : variation de volume

ESC : *european society of cardiology*

GMPc : guanosine monophosphate cyclique

HF-PEF : *heart failure with preserved ejection fraction*

HF-rEF : *heart failure with reduced ejection fraction*

IC-FEp : insuffisance cardiaque à fraction d'éjection préservée

IC-FEr : insuffisance cardiaque à fraction d'éjection réduite

IEC : inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine

IRM : imagerie par résonance magnétique

MHC : myosin heavy chain

MMPs : Métalloprotéinases

NHLBI : *National Heart, Lung and Blood Institute*

NO : monoxyde d'azote

PVa : flux veineux pulmonaire atrial

PVd : flux veineux pulmonaire diastolique

TIMPs : inhibiteurs tissulaires de métalloprotéinase

Vp : pente de propagation intraventriculaire

## LISTE DES FIGURES ET DES TABLEAUX

<b>Figure 1</b> : Différentes subdivisions et phases du cycle cardiaque	13
<b>Figure 2</b> : Modèle expérimental d'Ernest Starling	17
<b>Figure 3</b> : Graphiques input-output de la performance cardiaque globale et plus particulièrement du ventricule gauche	18
<b>Figure 4</b> : La fonction cardiaque représentée par les courbes pression-volume	19
<b>Figure 5</b> : Courbes pression-volume et élastance	20
<b>Figure 6</b> : Expériences de 'twitch contraction' sur un muscle papillaire de chat : relations longueur-temps ( $l/l_{max}$ ) et force-temps (mN)	22
<b>Figure 7</b> : Graphiques illustrant les effets d'un clampage total de l'aorte à différents phases de l'éjection (précoce, intermédiaire, tardive)	24
<b>Figure 8</b> : Division du cycle cardiaque en tant que pompe musculaire et courbe pression-volume correspondante	27
<b>Figure 9</b> : Relation entre la pression et le volume ventriculaires gauche	32
<b>Figure 10</b> : Critères échocardiographiques Doppler pour la classification de la dysfonction diastolique	35
<b>Figure 11</b> : Prévalence de l'insuffisance cardiaque en fonction de l'origine géographique	46
<b>Figure 12</b> : Droites d'élastance télé-systolique (Ees)	59
<b>Figure 13</b> : Couplage des rigidités ventriculaire et artérielle	59
<b>Figure 14</b> : Paradigme temporel de la progression de l'insuffisance cardiaque chronique	64
<b>Figure 15</b> : Instrumentation des animaux	84
<b>Figure 16</b> : Schéma illustrant le principe de la mesure de la contractilité régionale par la technique de la sonomicrométrie	86
<b>Figure 17</b> : Courbe dose-réponse à l'angiotensine II	91
<b>Figure 18</b> : Protocole expérimental	92
<b>Figure 19</b> : Evolution de la pression artérielle moyenne chez les animaux traités par angiotensine II	93
<b>Figure 20</b> : Hypertrophie myocardique chez les animaux traités par angiotensine II	95

<b>Figure 21</b> : Relation entre temps de relaxation isovolumique et fréquence cardiaque	99
<b>Figure 22</b> : L'éjection chez les animaux traités par angiotensine-II	99
<b>Figure 23</b> : Relation entre temps de contraction isovolumique et fréquence cardiaque	101
<b>Figure 24</b> : Relation entre le temps de contraction isovolumique et le triple produit [(Pression VG)*FC*dP/dt <sub>max</sub> ] en réponse à la perfusion de dobutamine	102
<b>Figure 25</b> : Relation entre temps de contraction et relaxation isovolumiques	103
<b>Figure 26</b> : Evaluation des temps d'éjection, de remplissage, de contraction isovolumique et de relaxation isovolumique à J0 et à J28	109
<b>Figure 27</b> : Evaluation des temps d'éjection, de remplissage, de contraction isovolumique et de relaxation isovolumique à J0 sans ivabradine et à J28 avec ivabradine	110
<b>Figure 28</b> : Evaluation des temps d'éjection, de remplissage, de contraction isovolumique et de relaxation isovolumique pendant l'administration de dobutamine à J0 sans ivabradine et à J28 avec ivabradine	110
<b>Tableau 1</b> : Valeurs normales des indices évaluant la fonction diastolique par Doppler	34
<b>Tableau 2</b> : Prévalence des symptômes et des signes d'insuffisance cardiaque dans l'IC-FEr (systolic HF) et dans l'IC-FEp (diastolic HF)	42
<b>Tableau 3</b> : Paramètres hémodynamiques des porcs perfusés par ATII	94
<b>Tableau 4</b> : Paramètres hémodynamiques des porcs perfusés par sérum physiologique	94
<b>Tableau 5</b> : Intervalles de temps chez les porcs traités par angiotensine-II	98

## INTRODUCTION

On estime qu'approximativement 20 millions de personnes dans le monde souffrent d'insuffisance cardiaque et la prévalence de cette pathologie ne cesse de croître avec le vieillissement de la population. L'évaluation de la fonction ventriculaire gauche par la mesure de la fraction d'éjection permet en fait de distinguer deux populations distinctes de patients insuffisants cardiaques : l'une avec et l'autre sans altération de la fraction d'éjection, encore dénommées respectivement *Heart Failure with Reduced Ejection Fraction* (HFrEF) et *Heart Failure with Preserved Ejection Fraction* (HFpEF) que nous appellerons pour le reste du manuscrit, insuffisance cardiaque à fraction d'éjection réduite (IC-FEr) ou préservée (IC-FEp), respectivement.

Dans le passé, l'IC-FEp a longtemps été communément appelée "insuffisance cardiaque diastolique" mais la présence d'une dysfonction diastolique chez les patients IC-FEr (elle aussi improprement appelée « insuffisance cardiaque systolique ») a fait abandonner cette terminologie (McMurray and Pfeffer 2002; Sanderson 2007). Cependant, le concept d'IC-FEp soulève également des difficultés conceptuelles : d'une part parce que la notion d'une fraction d'éjection préservée implique la connaissance de sa valeur de base et que d'autre part, les valeurs dites "normales" de la fraction d'éjection sont encore à établir puisque la frontière de normalité est actuellement admise à 50%, sans aucune interprétation des variations pouvant intervenir au dessus de cette limite (Davies, Hobbs et al. 2001; Petrie and McMurray 2001). Enfin, il reste à déterminer si ces deux formes d'insuffisance cardiaque représentent deux entités distinctes ou si au contraire elles font partie d'un continuum (Paulus, Tschope et al. 2007).

L'IC-FEp est actuellement observée chez environ 40 à 50% des patients présentant une insuffisance cardiaque et son évolution est semblable à celle des patients avec une IC-FEr (Owan, Hodge et al. 2006). Son sombre pronostic est vraisemblablement un reflet des caractéristiques systémiques communes à toute insuffisance cardiaque (dysfonction des muscles squelettiques, dysfonction vasculaire, hypertension artérielle pulmonaire, insuffisance rénale, anémie, fibrillation atriale...) (Maeder and Kaye 2009).

La prévalence de l'IC-FEp croît à une vitesse de 1% par an et elle sera bientôt le phénotype prévalent parmi les insuffisances cardiaques. Aucune amélioration du pronostic n'a

été observée au cours des deux dernières décades (Owan, Hodge et al. 2006). Malgré ces tendances épidémiologiques inquiétantes, les mécanismes physiopathologiques de l'IC-FEp restent mal élucidés et les stratégies thérapeutiques sont à définir (Maeder and Kaye 2009; Paulus and van Ballegoij 2010).

Le présent travail de thèse a eu comme objectif la mise au point d'un modèle d'hypertension chronique chez le porc, reproduisant une condition pathologique humaine étroitement liée à l'IC-FEp, celle de la cardiopathie hypertensive. Nous avons induit la présence d'une dysfonction diastolique à un stade précoce de la cardiopathie hypertensive ainsi qu'une dysfonction systolique très fine qui accompagne les modifications diastoliques malgré l'absence d'altérations majeures de la fonction d'éjection ventriculaire gauche. Une modulation pharmacologique des anomalies systolo-diastoliques a permis de étudier les relations entre fréquence cardiaque et dysfonction ventriculaire.

**PARTIE**  
**BIBLIOGRAPHIQUE**



# **CHAPITRE I : PHYSIOLOGIE DU CYCLE CARDIAQUE**

## I. LE CYCLE CARDIAQUE

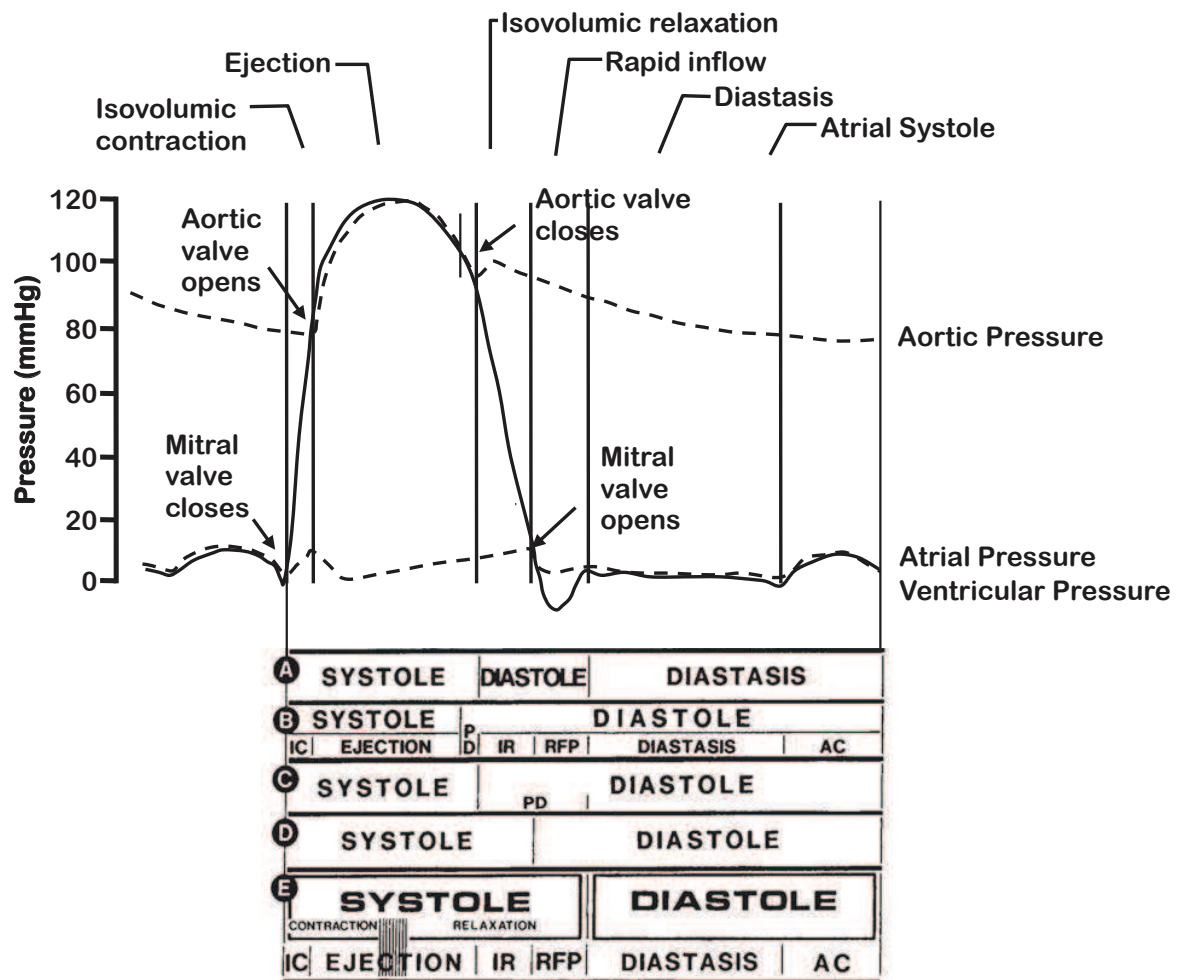
### A. Historique

On peut faire remonter l'idée de l'assimilation du cœur à une pompe à l'anglais William Harvey (1616). C'est à partir de ses travaux que l'anatomie du cœur commença à être définie et analysée en termes fonctionnels. Dans sa *Lectio Lumleiana* du 17 avril 1616, il affirma que "le mouvement du sang se produit dans un circuit et il est déterminé par les battements du cœur". Plus tard dans l'œuvre *De Motu Cordis* (1628), il décrivit la contraction du cœur en systole et l'éjection du sang pendant ce mouvement ainsi que la fonction de remplissage des ventricules par les oreillettes. Depuis les travaux de William Harvey et jusqu'à la fin du XIXème siècle, le cycle cardiaque a été divisé en deux phases : la systole, qui correspondait visuellement à la réduction de volume du cœur et la diastole pendant laquelle l'organe augmentait à nouveau son volume.

L'introduction de la méthodologie graphique dans l'exploration physiologique (Karl Ludwig et l'école de Leipzig dès 1865), l'analyse des courbes de pression et volume ventriculaires (Henderson, 1909) ainsi que l'introduction d'un manomètre optique pour des mesures plus précises par Wiggers, ont permis d'élaborer des diagrammes des différentes phases du cycle cardiaque à partir de la mesure des pressions atriale, aortique, ventriculaire et jugulaire ainsi que de l'électrocardiogramme et des bruits du cœur (Wiggers et Lewis) (Fig.1). Grâce à ces avancées, Henderson (Henderson 1906) a pu décrire trois phases distinctes : la systole, ou période de contraction et de vidange ; la diastole, ou période de relaxation du muscle ventriculaire et de remplissage de la chambre ventriculaire ; la diastase, qui commence graduellement pendant la cessation de la diastole. Wiggers a ensuite complexifié la séquence d'Henderson en divisant le cycle en une systole, qui comprend la phase de contraction et d'éjection, et une diastole qui consiste en une relaxation musculaire, un remplissage rapide, la diastase et la contraction auriculaire (Wiggers 1921). C'est cette vision qui a prévalu dans la physiologie cardiovasculaire du XXème siècle.

### B. Les différentes phases du cycle cardiaque

D'un point de vue électro-physiologique, l'arrivée de la vague de dépolarisation qui ouvre les canaux calciques de type L dans le ventricule correspond au pic de l'onde R de l'électrocardiogramme. Cette dépolarisation induit la contraction myocardique : la pression ventriculaire croît et dépasse très rapidement la pression auriculaire gauche (5 à 10 mmHg), la différence de pression entre les deux cavités cardiaques provoquant la fermeture de la valve mitrale. Cette excitation initiale couplée à la contraction est le point de départ du cycle cardiaque qui comprend dans sa définition actuelle plusieurs phases.



**Figure 1. Différentes subdivisions et phases du cycle cardiaque.** En A, la subdivision en systole et diastole selon Henderson, en B selon Wiggers, en C selon la définition utilisée en clinique humaine et en D selon la subdivision modifiée de Wiggers. La petite ligne verticale sur le tracé de la pression ventriculaire avant la fermeture de la valve aortique indique le début de l'intervalle intermédiaire selon la subdivision de Wiggers. En E, le cœur est considéré comme un système muscle-pompe intégré, où la contraction et la relaxation constituent deux phases de la systole. Les traits verticaux au milieu de l'éjection indiquent que la transition de la contraction à la relaxation ne peut être facilement identifiée. Ainsi, la relaxation isovolumique et la succion font partie de la phase de relaxation de la pompe musculaire. (d'après Brutsaert, 1989)

D'un point de vue clinique, ce sont les bruits de cœur qui rythment le cycle : ainsi la systole est le temps compris entre le premier (B1) et le deuxième bruit (B2), c'est à dire entre la fermeture de la valve mitrale - ouverture de la valve aortique et la fermeture de la valve aortique - ouverture de la valve mitrale ; la diastole se situe, à l'opposé, entre le deuxième bruit et le premier du cycle suivant. Les bruits de cœur sont engendrés non seulement par les flux turbulents qui se produisent à

l'ouverture et à la fermeture des valves, mais aussi par les mouvements du muscle cardiaque dans le thorax. Ces repères cliniques sont ainsi imparfaits et peu fiables.

Comme nous le verrons ultérieurement, il existe une importante divergence entre la vision clinique et l'approche physiologique qui explique en partie les difficultés conceptuelles dans la définition de la dysfonction diastolique. C'est pourquoi nous décrirons les différents temps du cycle cardiaque uniquement par rapport au phénomène physiologique qui le caractérise, et ceci indépendamment de toute notion de systole ou de diastole.

### 1- La contraction isovolumique

La contraction isovolumique débute avec la fermeture de la valve mitrale et s'achève avec l'ouverture de la valve aortique, le volume est alors constant. Ainsi toutes les forces contractiles centripètes appliquées par le myocarde aboutissent à une élévation rapide de la pression ventriculaire gauche.

### 2- L'éjection ventriculaire

Dès que la pression ventriculaire gauche dépasse la pression aortique, l'inversion du gradient de pression ouvre la valve aortique. Celle-ci marque la fin de la contraction isovolumique et le début de l'éjection. La contraction du myocarde est maintenant auxotonique, les cardiomyocytes changeant leur longueur et la force développée ; la paroi myocardique s'épaissit et se raccourcit. Ces mouvements réduisent le volume de la cavité ventriculaire gauche et éjectent le sang vers l'aorte et la circulation périphérique. Le gradient de pression de part et d'autre de la valve ainsi que l'élasticité de l'aorte et des artères périphériques déterminent la vitesse d'éjection du sang.

### 3- Le ralentissement de l'éjection et le début de la relaxation

Après avoir atteint une valeur maximale lors de l'éjection rapide, la pression ventriculaire décroît. Le calcium cytosolique est progressivement pompé par le réticulum sarcoplasmique et les myofibrilles entrent en relaxation. La vitesse d'épaississement du myocarde diminue. Par conséquent, la vitesse d'éjection diminue mais l'éjection est maintenue en partie grâce à la distensibilité de l'aorte, mécanisme à la base de l'effet Windkessel (Belz 1995). Dès que la pression ventriculaire décroît au-dessous de la pression aortique, l'inversion du gradient de pression ferme la valve aortique, générant le premier composant A2 du deuxième bruit du cœur (B2).

#### 4- La relaxation isovolumique

Après la fermeture de la valve aortique, et pendant le court instant qui précède l'ouverture de la valve mitrale, le ventricule se relaxe sans changer de volume : c'est la relaxation isovolumique. Dès que la pression ventriculaire descend au-dessous de la pression auriculaire gauche, la valve mitrale s'ouvre et le remplissage ventriculaire débute.

#### 5- Le remplissage précoce (suction)

La phase de remplissage survenant juste après l'ouverture de la valve mitrale assure la plus grande partie du remplissage ; elle est particulièrement efficace grâce à la relaxation active du ventricule qui provoque une "suction ventriculaire". La pression ventriculaire gauche redescend brusquement en dessous de la pression auriculaire gauche et le sang pénètre brusquement dans le ventricule. La combinaison de la relaxation active du myocarde et la pression de l'afflux sanguin distendent les parois du ventricule : le myocarde s'amincit, s'élargit et s'allonge. Le remplissage ventriculaire rapide peut alors être à l'origine d'un troisième bruit du cœur B3, plus particulièrement audible à l'exercice ou lors d'une tachycardie sinusale.

#### 6- La diastase

A l'issue de la phase rapide du remplissage, les pressions ventriculaires et auriculaires sont quasiment égales. Le ventricule ne se remplit quasiment plus et la valve mitrale se ferme partiellement. Le volume de la cavité ventriculaire ne change plus. Cette phase de remplissage lent voire nul est dénommée diastase.

#### 7- La contraction atriale

A l'issue de la diastase, alors que le remplissage ventriculaire est quasiment terminé, survient la contraction atriale. Elle provoque une augmentation de la pression atriale, restaurant un gradient de pression entre l'atrium et le ventricule. La valve mitrale s'ouvre et le remplissage reprend. A ce moment, la vitesse du flux sanguin à travers la valve mitrale augmente.

## II. LA FONCTION DE POMPE

Depuis les premières descriptions de Harvey, le cœur et le système vasculaire ont été assimilés à un circuit hydraulique fermé avec une pompe au milieu destinée à engendrer un gradient de pression entre le secteur d'amont et celui en aval. D'énormes efforts conceptuels ont été produits pour formuler des modèles mathématiques capables de reproduire les caractéristiques du système cardiovasculaire.

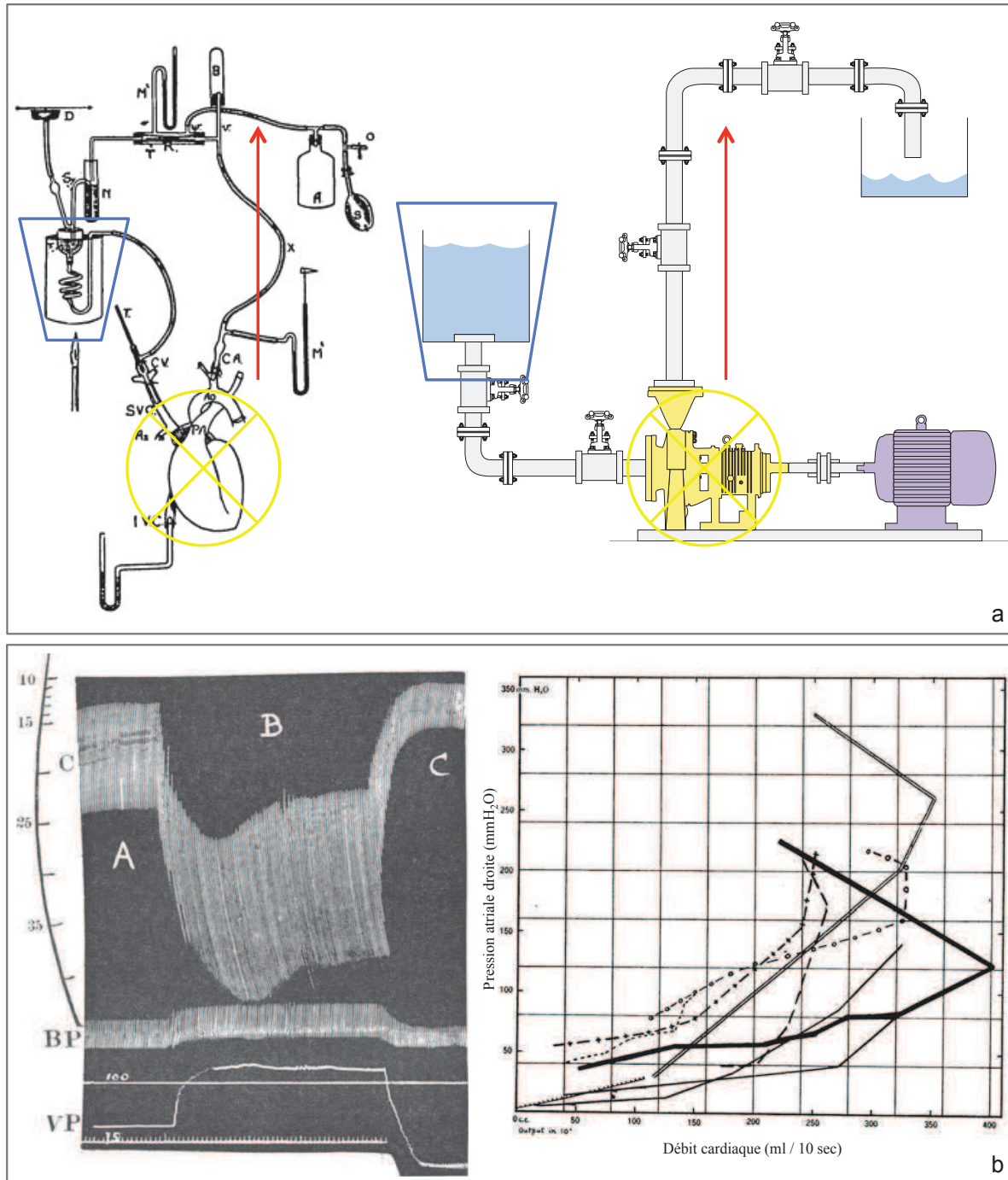
Une pompe correspond à un mécanisme capable de transférer un fluide d'un point à un autre de l'espace. Ce transfert peut s'accompagner d'une augmentation de pression au point final de déplacement, d'une élévation gravimétrique de la masse déplacée ou d'un mouvement vers un site à distance considérable par rapport au point initial. Le déplacement d'un fluide contre la gravité impose à la pompe de transférer de l'énergie vers la masse en mouvement. Sans cette énergie, la masse de liquide ne pourra atteindre le nouveau niveau gravimétrique. De même, le déplacement d'un fluide au travers d'un tuyau demande de l'énergie pour vaincre les résistances dues à la friction entre le liquide et les parois du tuyau.

Le mode de transfert de l'énergie pris en compte permet de distinguer les "pompes cinétiques" et les "pompes à déplacement positif" : dans le premier cas, elles transfèrent l'énergie de manière continue, dans le deuxième de façon périodique. Les pompes à déplacement positif appliquent une force à la surface d'un volume de fluide fermé, déterminant une augmentation de pression puis un mouvement via des valves ou des portes. Ces sont ces pompes à déplacement positif qui décrivent le mieux le cœur des mammifères.

## A. Le cœur comme pompe hydraulique

A la fin du XIX<sup>ème</sup> siècle, époque connaissant un essor important de la physique et des mathématiques, un des objectifs principaux des physiologistes cardiovasculaires était d'explorer l'applicabilité des lois physiques comme celles de Poiseuille, de Bernoulli ou de Fick au système cardiovasculaire. En utilisant le cœur entier isolé et raccordé à un circuit semi-fermé (Fig. 2a), Ernest Starling (Patterson 1914) concevait l'analyse et la quantification de la performance cardiaque dans le cadre d'un système hydraulique : la "pompe" reçoit une certaine quantité de liquide qu'elle doit pousser dans un secteur à haute pression ; l'entrée de la pompe ("précharge") conditionne, dans certaines limites, sa sortie (débit) (Fig. 2b).

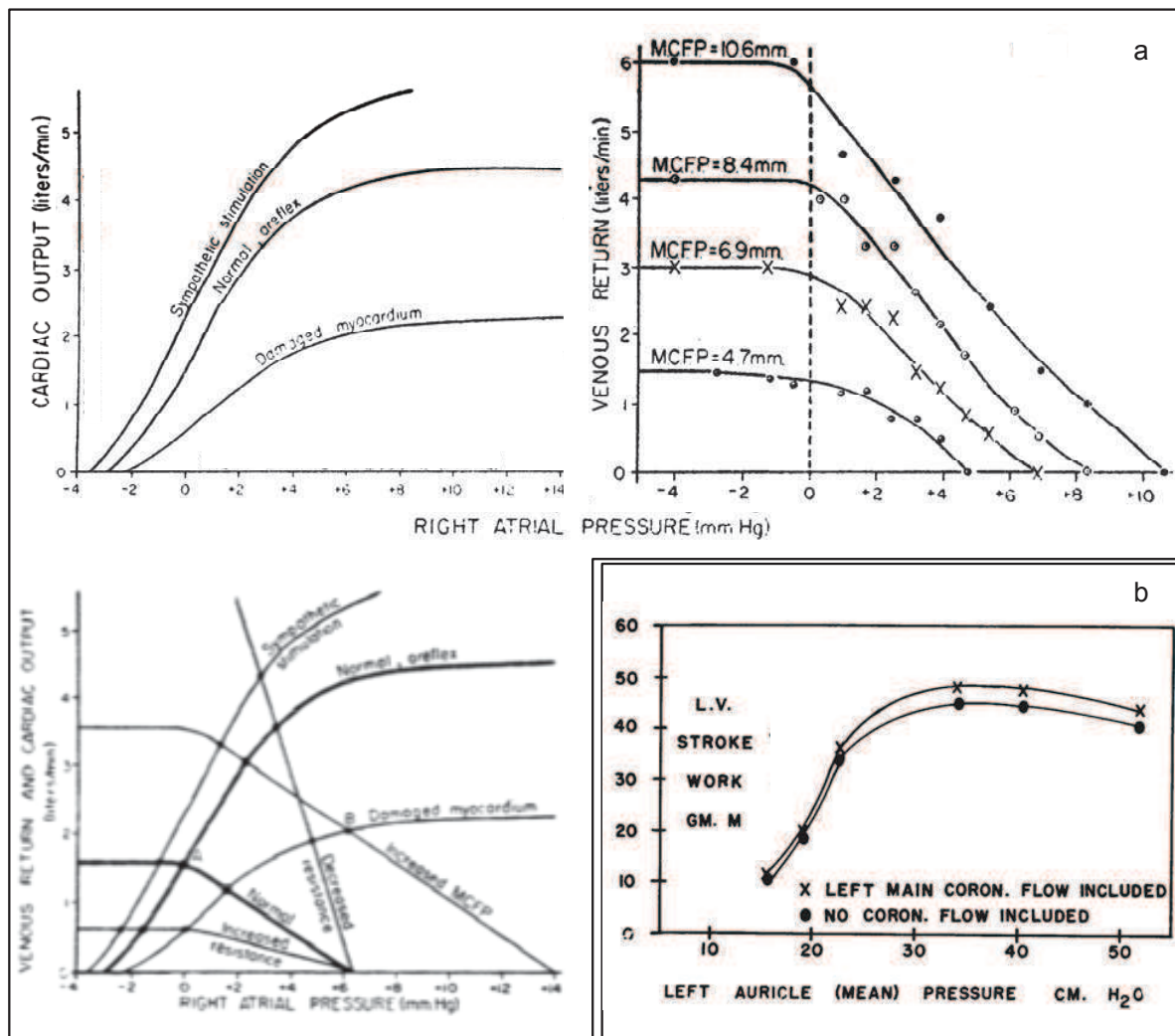
Quelques décennies plus tard, Arthur Guyton a transposé ces concepts au cœur *in situ* et a élaboré les graphiques entrée-sortie décrivant la performance cardiaque en conditions normales et pathologiques (Fig. 3a) (Guyton 1955). Il a mis en relation la pression à l'entrée de la pompe (la pression atriale droite) avec le débit à sa sortie (produit du volume d'éjection et de la fréquence cardiaque). De manière similaire, Sarnoff et Mitchell (Sarnoff and Mitchell 1961) ont corrélé la pression atriale gauche avec le débit ou le travail ventriculaire gauche (Fig. 3b).



**Figure 2. Modèle expérimental d'Ernest Starling.**

a) la partie gauche illustre le dispositif expérimental, la partie droite montre une transposition moderne du concept de pompe hydraulique avec le réservoir (bleu), la pompe (jaune) et la post-charge (rouge).

b) la partie gauche reproduit les tracés originaux de l'expérience de Starling: les dimensions ventriculaires (C), la pression artérielle (BP) et la pression du réservoir atrial (VP). Avec la montée de VP, les dimensions ventriculaires C et la pression artérielle augmentent. La partie droite illustre la relation entre augmentation de la pression atriale droite et le débit cardiaque aortique (d'après Patterson, 1914).



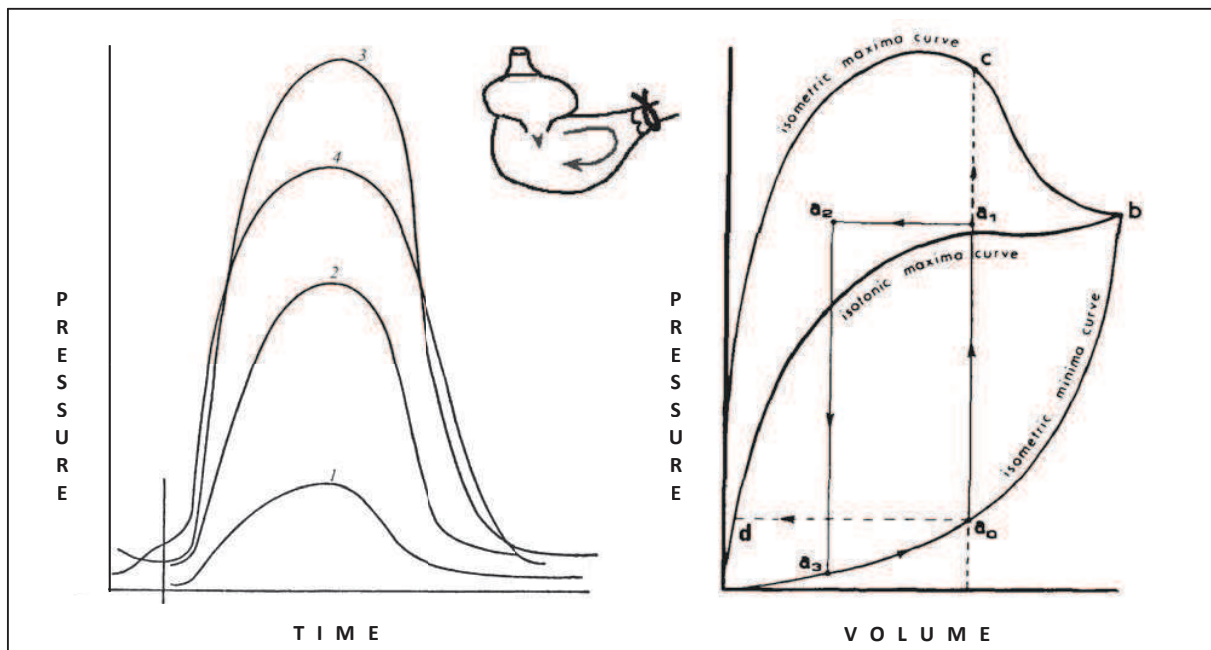
**Fig3. Graphiques input-output de la performance cardiaque globale (a) et plus particulièrement du ventricule gauche (b).**  
 En (a) partie haute à gauche, la relation entre pression atriale droite et débit cardiaque, en conditions normale, d'activation adrénergique et pathologique. En (a) partie haute à droite, la relation entre pression atriale droite et retour veineux pour différents niveaux de pression moyenne systémique (qui sert de moteur pour le retour veineux). En (a) partie gauche en bas, l'intégration des deux graphiques (d'après Guyton, 1955).  
 En b, la relation entre pression atriale gauche et travail ventriculaire gauche en sortie de la pompe (travail nécessaire pour l'éjection ventriculaire) (d'après Sarnoff, 1961).

L'outil qui a permis la transposition clinique de ce type d'approches en clinique humaine est le cathéter de Swann-Ganz : la pression atriale droite (entrée du cœur), le débit ventriculaire droit et la pression pulmonaire d'occlusion (estimation de la pression atriale gauche) sont enregistrés et exprimés sur un graphique précharge-débit. Les données classiquement obtenues sont le débit cardiaque (droit), les pressions artérielles pulmonaire et systémique, la pression atriale gauche, la pression pulmonaire d'occlusion, les résistances périphériques, le travail systolique et l'élastance artérielle.



## B. Le cœur comme pompe hémodynamique

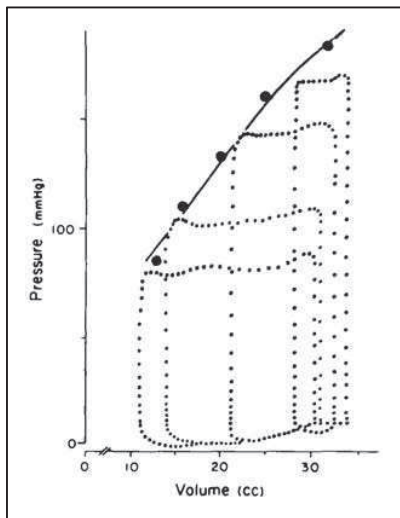
De même que pour toute pompe hydraulique et au-delà des mesures de pression et de débit, les caractéristiques de la pompe cardiaque peuvent être analysées en prenant également en considération les modifications cycliques d'un autre paramètre qu'est le volume ventriculaire. On peut ainsi exprimer la fonction cardiaque en termes de relation pression-volume. On doit à Otto Frank l'élaboration des premières courbes pression-volume pour le ventricule gauche de grenouille puis de mammifères (Fig. 4) (Frank 1895). Ceci a permis l'émergence d'un concept essentiel : l'augmentation du volume télé-diastolique induit le développement d'une force plus importante par le ventricule.



**Figure 4. La fonction cardiaque représentée par les courbes pression-volume.** À gauche l'expérience de Frank sur un cœur de grenouille clampé au niveau de l'aorte alors que le remplissage ventriculaire est libre : les cycles cardiaques 1, 2, 3 et 4 se déroulent avec des volumes télé-diastoliques croissants. Jusqu'au 3<sup>e</sup> cycle, la pression produite par le ventricule augmente puis décroît au 4<sup>e</sup>. À droite, la même expérience est représentée selon un diagramme pression-volume (d'après Franck, 1895).

L'aboutissement de cette vision est représenté par le concept du cœur comme pompe à élastance variable formulé par Suga et Sagawa (Suga and Sagawa 1974) (Fig. 5) : la paroi ventriculaire gauche est capable de faire varier son élastance et par conséquent, le même volume de sang subit des variations de pressions importantes au cours des phases iso-volumiques du cycle cardiaque. Les élastances atteintes à la fin de l'éjection ventriculaire de plusieurs battements consécutifs et à différents volumes télé-diastoliques, suivent une droite dont la pente dite  $E_{max}$

reflète l'état de contractilité du cœur et est considérée comme le paramètre de référence décrivant l'inotropisme.



**Figure 5. Courbes pression-volume et élastance.** Relations pression-volume obtenues sur un ventricule isolé éjectant contre un système de charge hydraulique servo-contrôlé (d'après Suga-Sagawa, 1974).

Les autres indexes qui découlent de cette représentation sont la compliance télé-diastolique (rapport de la pression et du volume télé-diastoliques ventriculaires), la fraction d'éjection, la relation « travail systolique – volume ventriculaire télé-diastolique » (*preload recruitable stroke work*) et la relation « pression artérielle systolique – diamètre télé-systolique du VG ».

### C. Limites des modèles de pompes hydraulique et hémodynamique

Plusieurs considérations conceptuelles doivent être formulées quand on évalue la validité des modèles présentés précédemment.

#### 1- Cadre temporel

La notion de temps n'est pas prise en compte dans les approches décrites (Fig.4) : développer une pression donnée plus ou moins rapidement peut être un signe d'efficacité de la pompe ; il en va de même pour le travail produit par la chambre ventriculaire ainsi que pour les modifications des dimensions du ventricule gauche. En effet, c'est dans le continuum de l'espace-temps que les mouvements cardiaques s'inscrivent et donc le temps devrait faire partie de toute analyse de la performance cardiaque. Ainsi, depuis les années 1950, certains physiologistes ont attiré l'attention sur cet aspect en soutenant que pour produire une fonction de pompage efficace, la masse myocardique, dans sa complexité, doit se contracter plus ou moins simultanément (Rushmer 1964).

## 2- Concepts issus des études menées sur les fibres musculaires

Les travaux sur les fibres musculaires cardiaques isolées ont montré que les relations entre contraction et relaxation sont plus étroites de ce qu'on pouvait imaginer : d'une part, les variations des conditions de charge pendant la phase de contraction influencent le déroulement de la relaxation ; d'autre part, le phénomène d'activation contractile (capacité de production de la force) initie la systole, puis s'atténue progressivement, évoluant vers l'inactivation dans un continuum électromécanique (mouvements de calcium et recyclage énergétique). L'exploration de ces phénomènes a été rendue possible par l'introduction de paramètres de mesure appliqués auparavant à la contraction tétanique du muscle squelettique : les relations longueur-tension, force-vitesse, vitesse-longueur, toutes vues sous une perspective temporelle.

### *a) Modulation de la relaxation par la charge.*

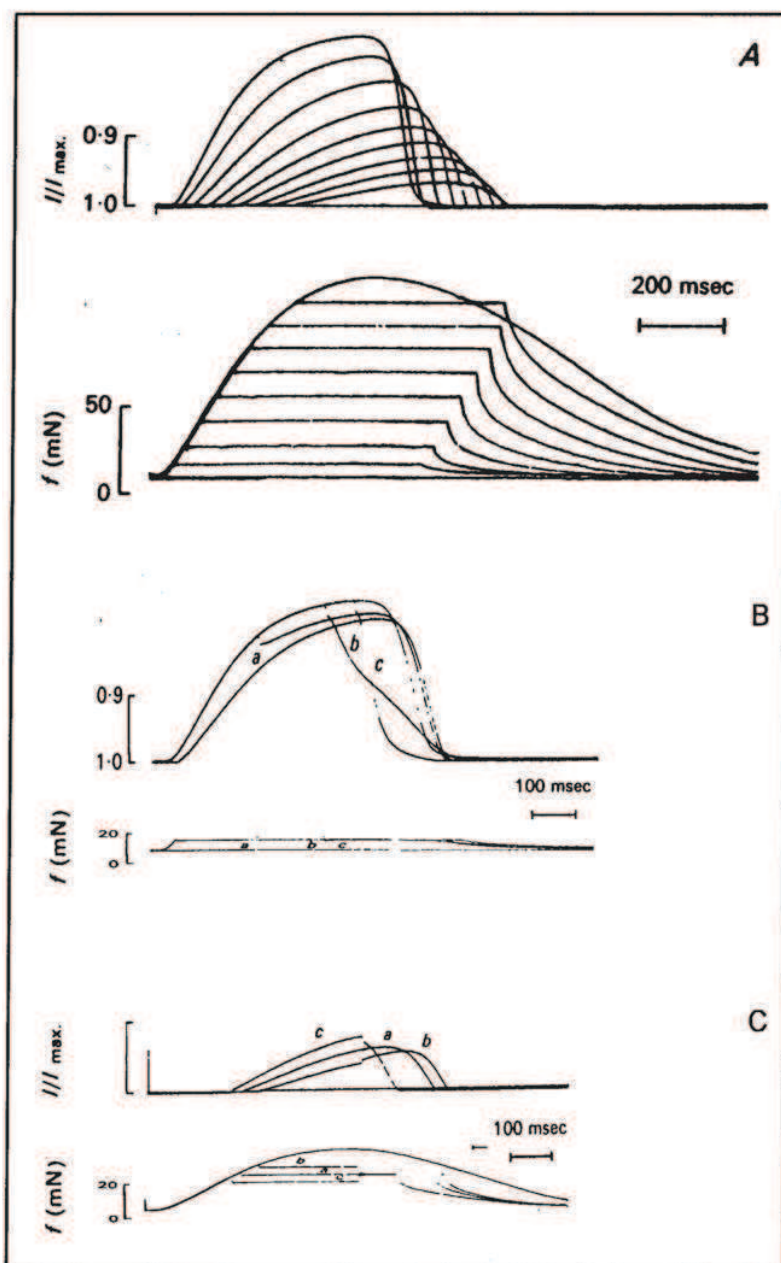
Au cours des contractions isotoniques sur des fibres musculaires cardiaques isolées de mammifères (Brutsaert, de Clerck et al. 1978), l'augmentation graduelle de la post-charge engendre une réduction de la vitesse de raccourcissement et un retard du début de la relaxation ; de plus, l'allongement isotonique au cours de la relaxation, même aux charges plus faibles, est constamment suivi par une chute abrupte de la force isométrique (fig. 6a).

L'accroissement de la charge durant la contraction isotonique modifie le décours de la contraction même et de la relaxation qui s'en suit : si cette charge est imposée pendant la première moitié de la phase de raccourcissement, la phase de relaxation isotonique est très légèrement modifiée ; si elle est imposée pendant la deuxième partie et surtout le tiers final de la phase de raccourcissement, cette dernière est abrégée et la phase d'allongement qui suit est relativement plus lente (Fig. 6b). A contrario, la soustraction de la charge à ce moment modifie le décours de la contraction et de la relaxation dans le sens inverse (Fig. 6c). Enfin, l'accroissement de la charge pendant la phase d'allongement isotonique de la relaxation l'abrège de façon importante (Brutsaert, Rademakers et al. 1984).

En résumé, les effets sur la relaxation induits par des charges imposées durant les deux-tiers initiaux de la contraction isotonique sont opposés à ceux induits dans les mêmes conditions durant l'allongement isotonique. Le passage entre ces deux phases se situe au moment de la transition entre la contraction et la relaxation (Brutsaert, Rademakers et al. 1984) : cette zone joue un rôle majeur dans le contrôle de la performance systolique du cœur entier.

*b) Modulation de la relaxation par l'activation-inactivation*

Les comportements de la fibre musculaire et ses réponses à la séquence de charge sont étroitement liés aux mouvements calciques. Ceci s'objective notamment lorsque des cellules myocardiques sont prétraitées par le détergent Brij-58 qui détruit le réticulum sarcoplasmique et cytoplasmique (Brutsaert, de Clerck et al. 1978) ou en cas d'hypoxie (Chuck, Goethals et al. 1981). Dans ces cas, la relaxation semble être gouvernée par le processus d'inactivation, à savoir, la dissociation des ponts actine-myosine.



*Figure 6. Expériences de 'twitch contraction' sur un muscle papillaire de chat : relations longueur-temps ( $l/l_{max}$ ) et force-temps (mN).*

A) tracés de contractions isotoniques obtenues à différents niveaux de post-charge.

B) tracés obtenus avec une même post-charge mais appliqué à trois moments différents (a, b, c).

C) tracés des effets de la variation de charge.  
(d'après Brutsaert, de Clerck et al. 1978)

## **D. Le cœur comme pompe musculaire**

L'ensemble des données présentées précédemment résulte de l'aboutissement des concepts proposés au début des années soixante (Abbott and Mommaerts 1959; Sonnenblick 1962) et qui insistaient sur le parallélisme entre le comportement du cœur entier et celui des fibres musculaires cardiaques qui le composent. Ainsi le cœur devient une pompe musculaire. Comme pour les fibres myocardiques, le cœur entier module sa contraction et sa relaxation par les variations de charge et les phénomènes d'activation-inactivation. De plus, la complexité de la structure de la paroi ventriculaire et la distribution spatio-temporelle de la dépolarisation-répolarisation électrique imposent de tenir compte de la non-uniformité ventriculaire comme autre déterminant de la contraction-relaxation.

### *1-Modulation par la charge.*

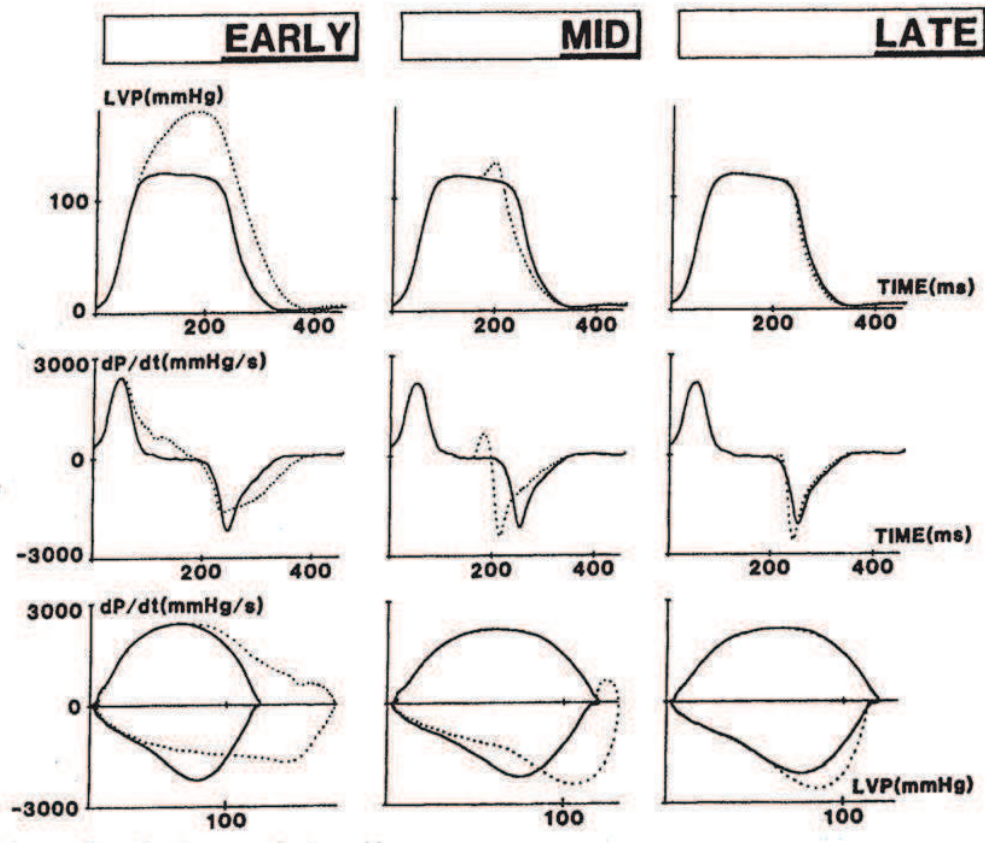
Les principaux déterminants de la charge dans le cœur intact sont : la déformation durant la contraction, les altérations de l'impédance artérielle pendant la phase tardive de l'éjection, le remplissage du réservoir coronaire pendant la relaxation iso-volumique, les variations de volume après l'ouverture de la valve mitrale (Brutsaert, Housmans et al. 1980).

Comme pour les fibres musculaires isolées, une augmentation de la charge pendant les premiers deux-tiers de la contraction retarde le début de la relaxation et accélère la vitesse de chute de la pression intra-ventriculaire (Parmley and Sonnenblick 1969). Si l'imposition de la charge est importante ou si elle survient pendant la phase tardive de l'éjection, il y aura un début prématuré et un ralentissement de la baisse de pression intra-ventriculaire (Murgo, Westerhof et al. 1980; Gillebert and Lew 1991; Leite-Moreira and Gillebert 1994; Leite-Moreira, Correia-Pinto et al. 1999) (Fig 7). En pratique, il existe une phase de l'éjection pendant laquelle le ventricule interagit avec le système artériel et ceci peut moduler la performance mécanique du ventricule pendant la relaxation (Brutsaert, Rademakers et al. 1984).

### *2-Modulation par l'activation-inactivation*

Dans le cœur entier, comme pour la fibre musculaire isolée, l'activation de l'appareil contractile se dissipe progressivement grâce à plusieurs processus qui consomment de l'énergie. Lorsque le processus d'activation est constant, la relaxation est modulée plutôt par les variations de charges. A contrario, en présence de conditions de charge stables, la relaxation est modulée plutôt par les variations des phénomènes d'activation-inactivation. Les conditions intermédiaires sont évidemment un mélange des deux mécanismes.

Il faut également souligner que le processus d'activation-inactivation est également lié aux conditions métaboliques comme la situation ischémique qui est à l'origine d'un ralentissement de la relaxation (Herman and Gorlin 1969; Tyberg, Parmley et al. 1969; Grossman and McLaurin 1976; St John Sutton, Frye et al. 1978), au contrôle neuro-hormonal et aux éventuelles modulations pharmacologiques.



*Figure 7. Graphiques illustrant les effets d'un clantage total de l'aorte à différents phases de l'éjection (précoce, intermédiaire, tardive). Partie haute : évolution de la pression ventriculaire gauche (mmHg) ; au milieu : évolution de la dérivée première de la pression ventriculaire gauche en fonction du temps ; en bas : combinaison des deux paramètres. (d'après Leite-Moreira 1994)*

### 3-Modulation par la non-uniformité

En raison de la complexité du cœur intact, la distribution non uniforme de la charge et de l'activation-inactivation dans l'espace et le temps constitue un troisième mécanisme de contrôle des phénomènes de contraction et de relaxation (Brutsaert, Rademakers et al. 1984). Suite à la première description en 1915 de la propagation du potentiel d'action via les fibres de Purkinje, l'idée d'une activation étagée du myocarde a fait son apparition (Lewis 1915). L'élaboration progressive de ce

concept à abouti à l'hypothèse selon laquelle le mouvement mécanique du cœur résulte de parcelles de contraction et de relaxation bien équilibrées et distribuées de manière homogène (Wiggers 1927). Faute de techniques appropriées pour détecter ce phénomène, il a fallu attendre jusqu'aux années 1980 pour le décrire *in vivo* (Brutsaert 1987).

La non-uniformité de la contraction-relaxation du cœur intact dérive d'une part des variations régionales de l'initiation et de la vitesse d'activation-inactivation, et d'autre part de la distribution régionale de la force dans sa phase de montée et de chute. Ces phénomènes sont en relation avec les différents niveaux de stress et de déformation (Yin 1981) qui dépendent de la géométrie cavitaire, de l'orientation des fibres myocardiques et des différents profils de remplissage coronaire. La non-uniformité est physiologique et contribue à maintenir la performance ventriculaire tout au long du cycle cardiaque. Son augmentation inappropriée, présente au cours des pathologies cardiaques, ne fera qu'allonger la durée des phénomènes de contraction-relaxation en réduisant l'efficacité mécanique de la pompe musculaire cardiaque.

Il découle de cette vision que les paramètres classiques décrivant la fonction cardiaque, comme la fraction d'éjection, ne tiennent pas compte de la dimension temporelle : la cinétique de la contraction et de la relaxation doivent être considérées (Brutsaert and Sys 1997; Lafitte, Bordachar et al. 2006) afin de décrire et d'interpréter avec exactitude le fonctionnement de la pompe cardiaque. La dysfonction de la pompe musculaire cardiaque peut aujourd'hui être objectivée très précisément par le Doppler tissulaire myocardique et l'imagerie de déformation par l'échographie en « *speckle tracking* » ainsi que par la résonance magnétique nucléaire.

## **F. Implications physiologiques et physiopathologiques du concept de pompe musculaire**

La principale conséquence du concept de pompe musculaire est la redéfinition de la subdivision du cycle cardiaque (Fig. 1) : la contraction et la relaxation du ventricule sont ainsi considérées comme deux phases de la systole, la transition de la contraction vers la relaxation ne pouvant pas être facilement définie. La relaxation iso-volumique et la succion (remplissage ventriculaire rapide) font partie intégrante de la relaxation de la pompe musculaire. La diastole comprend uniquement la diastase et la contraction atriale ; elle sépare deux cycles actifs de contraction-relaxation (Brutsaert and Sys 1989).

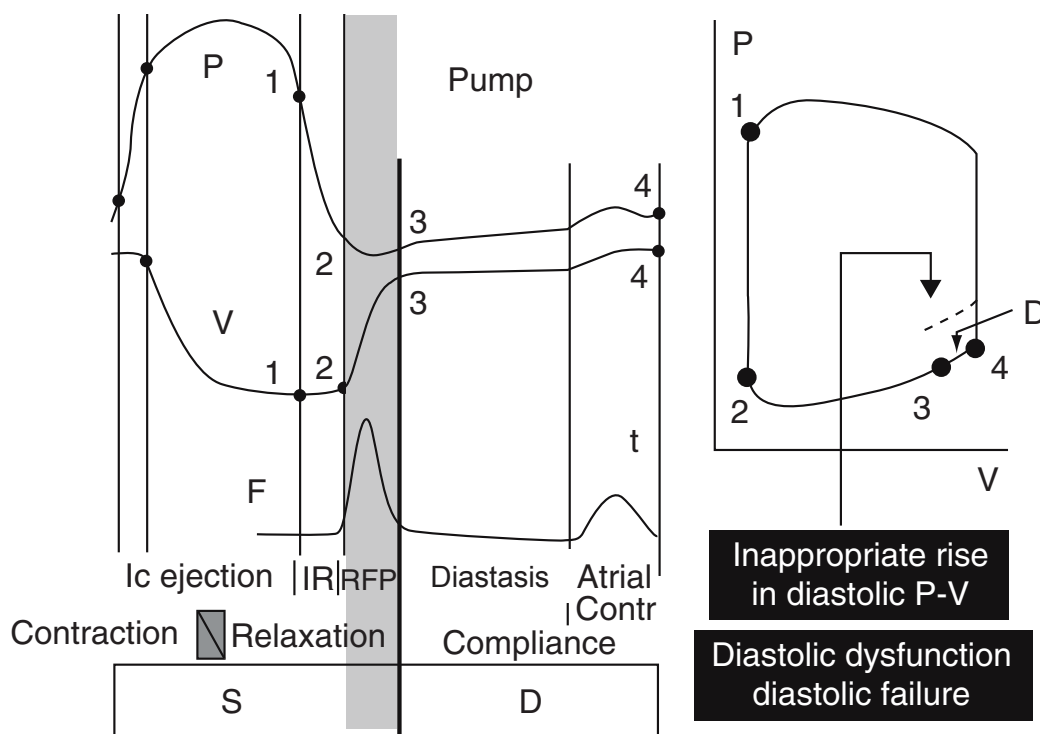
# **CHAPITRE II : LA DYSFONCTION DIASTOLIQUE**



## I. LA DYSFONCTION DIASTOLIQUE : PREAMBULE

Comme nous l'avons vu précédemment, l'évaluation de la fonction cardiaque peut considérer le cœur comme une pompe musculaire. La conséquence la plus importante de cette vision est que la réduction de la pression intraventriculaire au cours de la relaxation iso-volumique de la pompe et l'augmentation du volume ventriculaire au cours du remplissage rapide font partie du cycle contraction-relaxation de la systole musculaire cardiaque : la "vraie" diastole de la pompe musculaire comprend la diastase et la phase de contraction atriale (Brutsaert and Sys 1989).

Aux fréquences cardiaques normales de repos, la diastole dure approximativement 50% du cycle cardiaque alors qu'elle ne représente que 5 à 15% lorsque l'on considère les courbes pression-volume (Fig.8). En effet, c'est le déplacement vers le haut de la partie terminale de cette courbe qui définit la dysfonction diastolique puisque la pression de remplissage du ventricule gauche augmente proportionnellement plus que son volume. Les causes principales de ce déplacement de la courbe pression-volume englobent notamment une réduction de la compliance ventriculaire diastolique et une altération de la relaxation ventriculaire gauche.



**Figure 8. Division du cycle cardiaque en tant que pompe musculaire et courbe pression-volume correspondante.**

IC: contraction isovolumique; IR: relaxation isovolumique; S: systole; D: diastole.

1: fermeture de la valve aortique; 2: ouverture de la valve mitrale; 3: fin de la suction; 4: fermeture de la valve mitrale.

## II. LA DYSFONCTION DIASTOLIQUE EN CLINIQUE HUMAINE

### A. Manifestation

La présence d'altérations diastoliques du ventricule gauche se retrouve dans un large éventail de pathologies au cours desquelles ces anomalies peuvent représenter la première et parfois l'unique manifestation de l'atteinte cardiaque. L'élément principal de cette dysfonction diastolique est la réduction de la capacité du ventricule à se remplir. Comme nous le verrons ultérieurement dans le chapitre concernant l'IC-FEp, l'évolution de ces altérations peut aboutir à une atteinte dans le maintien de l'éjection et donc du débit cardiaque. Un tel processus peut aussi engendrer une augmentation des pressions en amont du ventricule gauche. Ce phénomène se traduit par une dyspnée d'effort dans un premier temps jusqu'à un œdème aigu du poumon dans les stades les plus avancés.

Le caractère aspécifique de la dysfonction diastolique ainsi que sa présence "quasi-anecdotique" dans de nombreuses pathologies rencontrées en médecine interne d'une part, et l'élaboration tardive de critères précis pour sa définition au cours de l'IC-FEp d'autre part (Failure" 1998) justifient le retard de l'exploration de l'incidence de ces altérations dans la population générale, indépendamment de la présence de symptômes d'insuffisance cardiaque. De plus, l'évaluation de la dysfonction diastolique en clinique humaine se heurte à sa détection. A ce titre, la diffusion à grande échelle de l'échocardiographie avec les mesures Doppler du flux trans-mitral a ouvert la voie à l'exploration non invasive et extensive d'un plus grand nombre de sujets (Nishimura and Tajik 1997).

### B. Etiologies

#### *1- Impact de l'âge*

Chez des sujets jeunes, une étude norvégienne (Schirmer, Lunde et al. 2000) a montré un pic élevé de l'onde E associé à un pic bas de l'onde A lors d'examen échocardiographiques. Avec l'âge, le pic de l'onde E se réduit alors que celui de l'onde A s'élève. Ce changement du rapport E/A témoigne du passage d'un profil diastolique dit normal à celui caractérisé par une relaxation ventriculaire gauche anormale. Il est à noter que cette transition est indépendante de la présence de pathologies cardiovasculaires, d'une hypertrophie ventriculaire gauche, d'une hypertension artérielle ou d'une obésité. Eu égard à la fréquence avec laquelle sont retrouvées les modifications de ces indices Doppler, leur présence chez un individu donné n'est pas forcément synonyme de pathologie. En effet, les seuils utilisés pour définir la dysfonction diastolique (recommandations 1998 de l'ESC pour le diagnostic de l'IC-FEp) n'apparaissent pas adaptés à la population générale même s'ils

restent utiles dans les cas d'insuffisance cardiaque. Ces données ont été confirmées par d'autres études (Redfield, Jacobsen et al. 2003; Abhayaratna, Marwick et al. 2006; Kuznetsova, Herbots et al. 2009). Quoiqu'il en soit, il faut souligner que les critères utilisés pour diagnostiquer la dysfonction diastolique *per se* ne sont pas adaptés et ne tiennent pas compte de l'âge, ce qui implique une mésestimation de la prévalence de cette dysfonction à un stade infra-clinique.

### 2- Le sexe

Une étude australienne (Abhayaratna, Marwick et al. 2006) a retrouvé dans une population générale âgée de plus de 60 ans que la dysfonction diastolique était présente chez les hommes et les femmes dans les mêmes proportions.

### 3- Le diabète

Cette pathologie est régulièrement associée à la dysfonction diastolique. Il a été montré que des patients diabétiques ne présentant aucune coronaropathie ou hypertension artérielle peuvent voir leur pression ventriculaire télédiastolique augmenter (Regan, Lyons et al. 1977; Devereux, Roman et al. 2000; Boyer, Thanigaraj et al. 2004; Marwick 2004) et ce, indépendamment de l'âge, de la fonction systolique et de la masse ventriculaire (Liu, Palmieri et al. 2001). Ces altérations ont été imputées à la micro-angiopathie et au stress oxydant qui en découle, à l'effet de l'hyperglycémie sur les fibres myocardiques et aux altérations de la matrice extracellulaire secondaires à la glycosylation de ses composantes (Avendano, Agarwal et al. 1999; Berg, Snorgaard et al. 1999; Brownlee 2001; Gonzalez-Vilchez, Ayuela et al. 2005). A contrario, le contrôle strict de la glycémie permet une régression de la dysfonction diastolique (Fein, Malhotra et al. 1984; Pollack, Malhotra et al. 1986; Hausdorf, Rieger et al. 1988; Devereux, Roman et al. 2000).

### 4- L'hypertension artérielle

L'hypertension artérielle est l'un des facteurs les plus étroitement liés à la dysfonction diastolique (Fischer, Baessler et al. 2003; Redfield, Jacobsen et al. 2003; Abhayaratna, Marwick et al. 2006; Kuznetsova, Herbots et al. 2009) via plusieurs mécanismes. Les altérations de la structure de la matrice extracellulaire jouent un rôle important. Elles semblent être consécutives au dépôt de collagène de type I induit par le stress mécanique et l'activation du système rénine-angiotensine. Ceci est notamment étayé par l'effet bénéfique des inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine et par l'élévation des taux de pro-collagène de type III chez les patients hypertendus (Takatsuji, Mikami et al. 1996; Matsubara, Matsubara et al. 2000; Spinale, Gunasinghe et al. 2002; Poulsen, Andersen et al. 2005). Une activation des fibroblastes est à l'origine de ce phénomène. Cette activation des fibroblastes avait été déjà décrite dans le remodelage après un infarctus du

myocarde (Creemers, Cleutjens et al. 2001). On sait désormais que le stress oxydant et les médiateurs de l'inflammation peuvent modifier l'expression génique des fibroblastes et moduler ainsi la sécrétion de métalloprotéases (Spinale 2002; Tsuruda, Boerrigter et al. 2002) et de TGF- $\beta$  (Reape and Groot 1999; Kuwahara, Kai et al. 2002; Kuwahara, Kai et al. 2003; Kuwahara, Kai et al. 2004).

### 5- La cardiopathie ischémique

Dans les formes aiguë et chronique de la cardiopathie ischémique, on peut observer l'installation d'altérations de la fonction diastolique liées à des modifications de l'homéostasie calcique et au remodelage ventriculaire post ischémique. Les indices évaluant la dysfonction diastolique ont un certain pouvoir prédictif sur la morbi-mortalité chez des patients victimes d'un infarctus (Pipilis, Meyer et al. 1992; Lele, Thomson et al. 1995; Nijland, Kamp et al. 1997; Cerisano, Bolognese et al. 2001; Moller, Poulsen et al. 2003).

### 6- La cardiomyopathie hypertrophique

Certaines maladies héréditaires liées à des mutations des gènes codant pour les protéines du sarcomère sont caractérisées par une fibrose interstitielle, une microangiopathie et une hypertrophie asymétrique du ventricule gauche, cet ensemble concourant à l'apparition de la dysfonction diastolique. La fibrose est un élément clef dans ces processus. La réduction de la compliance ventriculaire qui en découle participe à l'incapacité de maintenir le débit cardiaque pendant l'effort (Lele, Thomson et al. 1995; Nishimura, Appleton et al. 1996). Par ailleurs, la présence de cette dysfonction diastolique modifie le pronostic des patients atteints par la maladie (Nishimura, Appleton et al. 1996).

### 7- Les maladies auto-immunes systémiques

Les maladies auto-immunes systémiques peuvent être responsables d'une atteinte cardiaque qui se manifeste souvent sous la forme d'anomalies diastoliques. Dans le syndrome anti-phospholipides, une corrélation a été démontrée entre les paramètres diastoliques et les taux d'anticorps circulants (Tektonidou, Ioannidis et al. 2001). Dans le cas du lupus, on observe une dysfonction diastolique isolée (Leung, Wong et al. 1990). L'inflammation microvasculaire accompagnée de dépôts de fibrine et d'une prolifération des fibroblastes pourrait expliquer les altérations diastoliques au cours de la maladie de Behcet (Baris, Okan et al. 2006). Enfin, la production dérégulée de collagène est mise en cause dans la pathogénie des anomalies diastoliques qui accompagnent la sclérodermie (Maione, Valentini et al. 1991).

### 8- Les maladies endocriniennes

Certaines pathologies endocriniennes ont un retentissement sur la fonction cardiaque. Le syndrome de surproduction de l'hormone de croissance engendre une apoptose des cardiomyocytes à l'origine d'une accumulation de collagène dans le myocarde et une infiltration lymphomonocytaire. Cette modification de l'architecture myocardique est responsable d'anomalies diastoliques responsables d'une réduction de la tolérance à l'effort (Spinelli, Petretta et al. 2003). Au cours de la maladie de Cushing, les taux élevés de cortisol favorisent le remodelage du ventricule gauche (Whitworth, Mangos et al. 2000; Muiesan, Lupia et al. 2003) et ce indépendamment des valeurs de pression artérielle (Fallo, Budano et al. 1994).

### 9- Association dysfonction diastolique – insuffisance cardiaque

Les données dérivées du registre concernant les habitants de l'Olmsted County (Redfield, Jacobsen et al. 2003) ont montré que la dysfonction diastolique isolée était fréquente dans la population générale et qu'elle n'était pas nécessairement associée à une insuffisance cardiaque clinique. Il est à noter qu'une dysfonction diastolique jugée sévère sur la base de critères échocardiographiques peut rester complètement asymptomatique. La probabilité de la présence simultanée d'une dysfonction diastolique et de signes d'insuffisance cardiaque congestive augmentait avec la sévérité de la première. De même, dans une population australienne d'âge supérieur à 60 ans (Abhayaratna, Marwick et al. 2006), les stades sévères de dysfonction diastolique n'étaient pas toujours associés à des symptômes d'insuffisance cardiaque.

## III. EVALUATION CLINIQUE DE LA FONCTION DIASTOLIQUE

### **A. Evaluation invasive**

La référence pour l'évaluation de la fonction ventriculaire diastolique est le cathétérisme cardiaque. Ce type d'évaluation repose sur deux piliers : l'étude de la cinétique de la relaxation ventriculaire et celle de la distensibilité diastolique du ventricule gauche. D'un point de vue technique, elle s'appuie sur l'utilisation de cathéters dotés de micro-manomètres permettant la mesure précise (haute fréquence de réponse) de la pression ventriculaire et sur des cathéters à conductance, ou des angiogrammes, pour la mesure du volume : les enregistrements des mesures de volume et pression ventriculaires sont simultanés. Ces explorations sont à l'origine de la détermination d'indices décrivant la relaxation ventriculaire isovolumique et la compliance ventriculaire. Contrairement au concept de pompe musculaire, la définition clinique de la diastole englobe la phase de la relaxation isovolumique et c'est pourquoi nous l'intégrerons dans cet exposé.

### 1- La cinétique de la relaxation ventriculaire (remplissage précoce)

Elle peut être décrite à l'aide des deux paramètres suivants :

$dP/dt_{min}$  : la valeur minimale de la dérivée première par rapport au temps de la pression ventriculaire gauche est parfois utilisée pour décrire la vitesse de la relaxation isovolumique mais ce n'est pas un bon indice et il est très lié aux conditions de charge et à la fréquence cardiaque.

*La constante de relaxation isovolumique  $\tau$*  : la période de relaxation iso-volumique caractérise la phase de décroissance de la pression ventriculaire pendant laquelle le volume de la cavité ne varie pas. Elle est définie par l'intervalle de temps compris entre le pic négatif de  $dP/dt$  (assimilé à la fermeture de la valve aortique) et la valeur de la pression ventriculaire gauche correspondant à la pression télé-diastolique du battement suivant à laquelle 2 ou 5 mmHg sont ajoutés. La courbe de décroissance de la pression ventriculaire gauche peut être modélisée à l'aide de modèles mono-exponentiels qui peuvent être asymptotiques ou non asymptotiques. Le modèle de Weiss (Weiss, Frederiksen et al. 1976) suppose une asymptote nulle et que la pression évolue selon l'équation suivante :  $P=P_0 \cdot e^{-t/\tau}$ , avec  $P_0$  étant la valeur de pression au pic négatif de  $dP/dt$ ,  $t$  étant le temps et  $\tau$  la constante de relaxation isovolumique. Les autres modes de calcul de la constante de relaxation isovolumique utilisent des modèles à asymptote non nulle :  $P=(P_0-P_B) \cdot e^{-t/\tau} + P_B$ , où  $P_B$  est caractérisé par des valeurs non physiologiques puisqu'elles sont négatives. Dans cette méthode mono-exponentielle, une relation linéaire entre la pression et sa dérivée première est établie pendant la période de relaxation isovolumique selon l'équation suivante :  $dP/dt = -(1/\tau)(P_0)$  où  $dP/dt = -(1/\tau)(P-P_B)$ . Il est procédé en suite à une régression non linéaire selon l'algorithme de Levenberg-Marquardt en utilisant les paramètres obtenus avec la régression linéaire pour initier l'itération. Dans l'alternative, on peut déterminer une constante de temps de relaxation par un modèle logistique (Matsubara, Takaki et al. 1995; Senzaki and Kass 2010). Une valeur supérieure à 48 msec définit la présence d'une dysfonction (Vasan and Levy 2000).

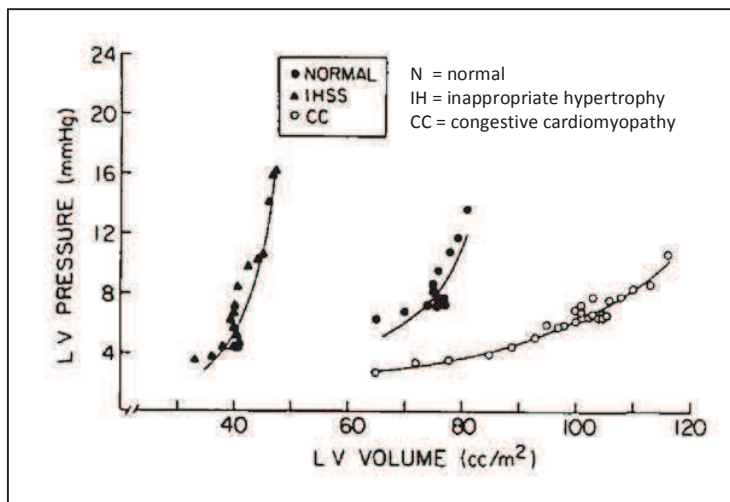
### 2- Distensibilité diastolique du ventricule gauche (diastase et remplissage tardif)

Pendant les phases de diastase et de systole auriculaire, les performances ventriculaires ne sont influencées que par les caractéristiques passives intrinsèques ou extrinsèques du ventricule gauche (Grossman and McLaurin 1976).

*La contrainte pariétale* : plus grand est l'étirement d'un muscle, plus importante est la contrainte qui lui résiste. Le calcul de cette contrainte  $\sigma$  dérive de la loi de Laplace et elle est

exprimée soit par la contrainte circonférentielle, soit par la méridienne. En pratique, la contrainte méridienne est calculée selon la formule :  $\sigma = Pr / 2e (1 + e/r)$ , où P est la pression ventriculaire instantanée (mmHg), e est l'épaisseur de la paroi myocardique en mm, r le rayon en mm.

*La rigidité volumique* : elle est analysée par les courbes pression-volume (Gaasch, Battle et al. 1972; Gaasch, Levine et al. 1976) à l'aide desquelles on définit deux propriétés que sont l'élastance ou la rigidité et la compliance ou distensibilité. La rigidité est déterminée à partir de l'analyse des variations de pression (dP) consécutives à celles du volume (dV). Inversement, la compliance relie les variations de volume (dV) à celles de la pression (dP) (Fig. 9). La compliance normale indexée est de l'ordre de  $C_v = 3 \pm 0,2 \text{ ml/m}^2/\text{mmHg}$ . Pour certains auteurs, plus que le calcul de la rigidité, c'est la position de la courbe pression-volume qui est déterminante pour l'appréciation des capacités de remplissage du ventricule gauche (Glantz and Parmley 1978).



**Figure 9. Relation entre la pression et le volume ventriculaires gauches.**

La fonction diastolique à l'état normal et en situations pathologiques. (d'après Glantz, 1978).

Une autre méthode moins invasive pour l'évaluation de la fonction diastolique est l'angiographie par radio-isotopes. Elle permet le calcul du *normalized filling peak rate* qui met en relation l'évolution du volume ventriculaire gauche avec le temps et qui permet l'étude du remplissage ventriculaire (Udelson, Coleman et al. 1994). Cependant, cette méthode ne donne aucune estimation de la pression télédiastolique ou de la compliance ventriculaire.

## B. Evaluation non-invasive

L'imagerie cardiaque a révolutionné la détection des anomalies structurelles et fonctionnelles du myocarde puisqu'il est impensable d'envisager un cathétérisme cardiaque gauche chez des patients asymptomatiques en dehors de cas très particuliers d'exploration coronaire. L'imagerie par résonance magnétique nucléaire (IRM) est une technique donnant des informations sur l'anatomie et

la fonction myocardique avec un très grand degré de précision. Par ailleurs, l'utilisation d'un agent de contraste comme le gadolinium permet une exploration détaillée, à savoir du collagène et de la microcirculation. Cependant à ce jour, l'échographie cardiaque est la technique utilisée à très grande échelle en raison de sa relative simplicité de mise en œuvre, de sa grande disponibilité, de son innocuité et de son coût modéré.

### *1- L'échocardiographie*

L'évaluation échographique de la fonction diastolique s'appuie traditionnellement sur l'analyse comparée des flux sanguins d'entrée dans l'oreillette (Doppler veineux pulmonaire) et le ventricule (Doppler transmitral) gauches ; l'introduction du Doppler tissulaire et l'évaluation en mode-M ont apporté une contribution substantielle à cette évaluation.

Measurement	Age group (y)			
	16-20	21-40	41-60	>60
IVRT (ms)	50 ± 9(32-68)	67 ± 8(51-83)	74 ± 7(60-88)	87 ± 7(73-101)
E/A ratio	1.88 ± 0.45(0.98-2.78)	1.53 ± 0.40(0.73-2.33)	1.28 ± 0.25(0.78-1.78)	0.96 ± 0.18(0.6-1.32)
DT (ms)	142 ± 19(104-180)	166 ± 14(138-194)	181 ± 19(143-219)	200 ± 29(142-258)
A duration (ms)	113 ± 17(79-147)	127 ± 13(101-153)	133 ± 13(107-159)	138 ± 19(100-176)
PV S/D ratio	0.82 ± 0.18(0.46-1.18)	0.98 ± 0.32(0.34-1.62)	1.21 ± 0.2(0.81-1.61)	1.39 ± 0.47(0.45-2.33)
PV Ar (cm/s)	16 ± 10(1-36)	21 ± 8(5-37)	23 ± 3(17-29)	25 ± 9(11-39)
PV Ar duration (ms)	66 ± 39(1-144)	96 ± 33(30-162)	112 ± 15(82-142)	113 ± 30(53-173)
Septal é (cm/s)	14.9 ± 2.4(10.1-19.7)	15.5 ± 2.7(10.1-20.9)	12.2 ± 2.3(7.6-16.8)	10.4 ± 2.1(6.2-14.6)
Septal é/á ratio	2.4*	1.6 ± 0.5(0.6-2.6)	1.1 ± 0.3(0.5-1.7)	0.85 ± 0.2(0.45-1.25)
Lateral é (cm/s)	20.6 ± 3.8(13-28.2)	19.8 ± 2.9(14-25.6)	16.1 ± 2.3(11.5-20.7)	12.9 ± 3.5(5.9-19.9)
Lateral é/á ratio	3.1*	1.9 ± 0.6(0.7-3.1)	1.5 ± 0.5(0.5-2.5)	0.9 ± 0.4(0.1-1.7)

**Tableau 1. Valeurs normales des indices évaluant la fonction diastolique par Doppler.** Les données sont exprimées en moyennes ± SD (95% de l'intervalle de confiance) (IVRT : temps de relaxation iso-volumique; DT : temps de décélération de l'onde E mitrale; PV S/D ratio : rapport onde systolique/diastolique du flux des veines pulmonaires; PV Ar : onde de régurgitation de la contraction atriale dans les veines pulmonaires; é = E', á = A').

#### *Mesure des vitesses transmitrales*

Ce profil est obtenu sur une coupe apicale 4-cavités avec le Doppler pulsé. La mesure par effet Doppler des vitesses transmitrales est bien corrélée aux mesures invasives (Nishimura, Schwartz et al. 1993). Le profil transmitral normal se caractérise par un temps de relaxation isovolumique (de la fermeture aortique à l'ouverture mitrale) et une onde E protodiastolique de remplissage précoce dont on calcule le pic et la pente de décélération. En effet, à la fermeture de la valve aortique, la pression ventriculaire gauche décroît rapidement jusqu'à permettre l'ouverture de la valve mitrale et la genèse d'un flux transmitral de remplissage ventriculaire important créant l'onde E. Ce flux décélère au fur et à mesure que la pression ventriculaire monte jusqu'à s'arrêter (diastase) ; puis la contraction atriale crée à nouveau un gradient de pression et le flux réapparaît



(onde A) juste avant le nouveau cycle. On caractérise ces signaux en mesurant les pics des ondes E et A, le rapport E/A, le temps de décélération de l'onde E et la durée de l'onde A.

Les valeurs normales selon l'âge sont présentées dans le tableau 1. N'ayant pas de spécificité et n'offrant qu'une approche semi-quantitative, le flux transmitral doit être complété par une mesure Doppler tissulaire à l'anneau mitral ainsi que l'évaluation du flux veineux pulmonaire, de la pente de propagation et de la surface de l'oreillette gauche. Les anomalies diastoliques du flux transmitral ont été décrites par Appleton (Appleton, Hatle et al. 1988) et revues par Ommen (Ommen, Nishimura et al. 2000) (Fig.10) :

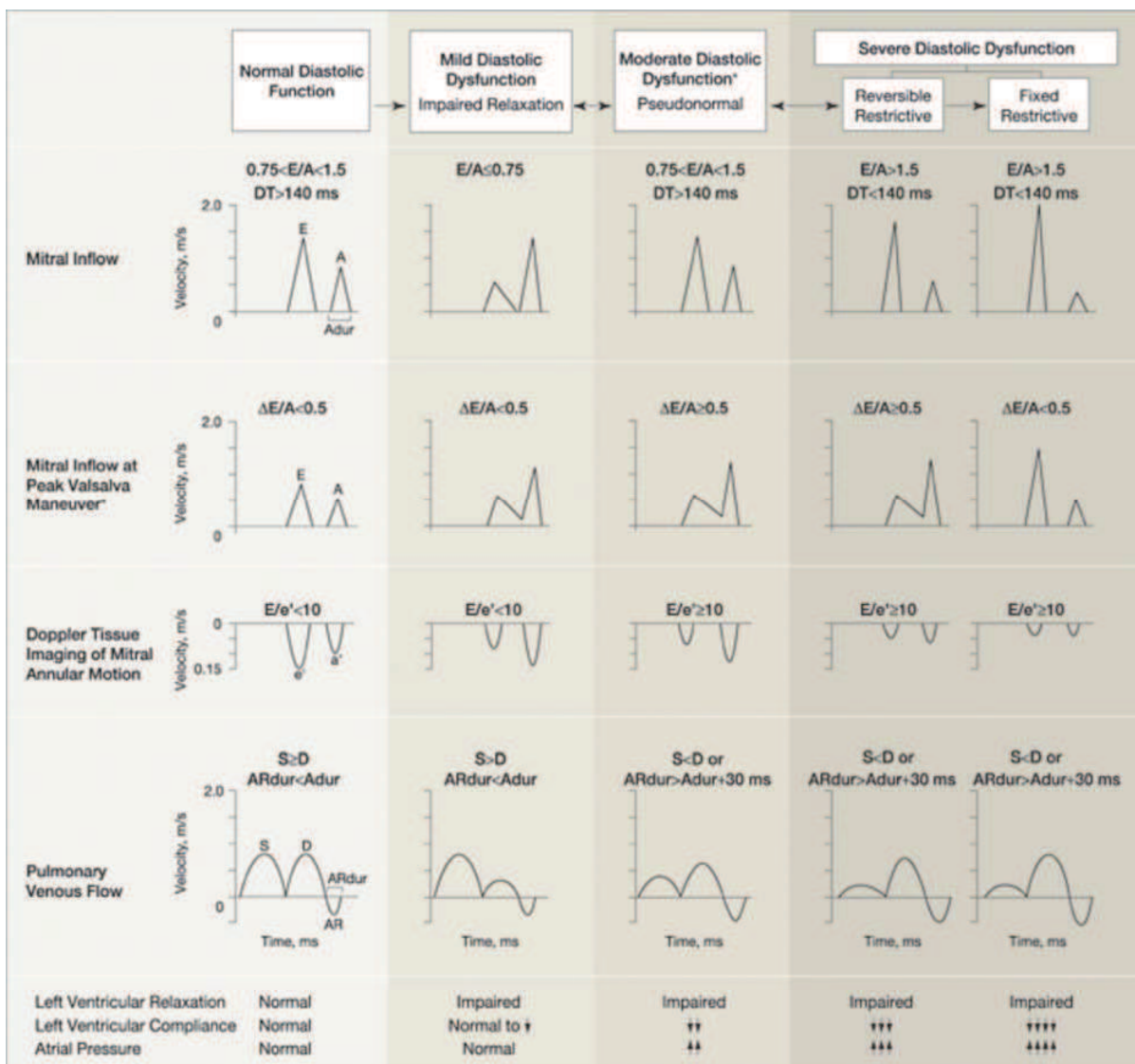


Figure 10. Critères échocardiographiques Doppler pour la classification de la dysfonction diastolique

- les troubles de la relaxation se caractérisent par un allongement du temps de relaxation isovolumique (> 100 ms), du temps de décélération (> 220 ms) et une inversion du

rapport E/A ( $< 1$ ). Cependant, une diminution du rapport E/A peut également être observée au cours de l'hypovolémie qui diminue le gradient « oreillette - ventricule gauche » et qui augmente la contribution de la systole auriculaire dans le remplissage ;

- le flux pseudonormal se caractérise par un flux en apparence normal avec un temps de relaxation isovolémique inférieur à 100 ms, un temps de décélération supérieur à 150 msec et un rapport E/A supérieur à 1. Ce profil traduit en fait une élévation des conditions de charge sur un ventricule gauche moins compliant ;

- le flux restrictif se traduit par une augmentation du remplissage rapide précoce et une diminution du remplissage en fin de diastole en raison de l'élévation importante de la pression ventriculaire. Le rapport E/A est typiquement supérieur à 2, les temps de décélération et de relaxation isovolémique étant réduits (respectivement  $< 150$  et  $60$  msec).

#### *Doppler tissulaire à l'anneau mitral*

Par convention, l'onde E' protodiastolique est obtenue au niveau du septum et de la paroi latérale de l'anneau mitral par Doppler pulsé en mode DTI. Cette valeur est rarement prise isolement mais un pic réduit de vitesse traduit l'existence d'une atteinte longitudinale de la relaxation. Elle est corrélée à l'altération de la constante de relaxation du ventricule gauche (Nagueh, Middleton et al. 1997; Firstenberg, Greenberg et al. 2001). Le rapport E/E' est utile car il permet d'estimer avec une sensibilité et une spécificité acceptables les pressions de remplissage du ventricule gauche. Ce ratio a été validé dans différents types de cardiomyopathies quelque soit la fraction d'éjection mais également en présence d'une tachycardie ou d'une fibrillation atriale (Nagueh, Kopelen et al. 1996; Garcia, Ares et al. 1997; Nagueh, Middleton et al. 1997; Nagueh, Mikati et al. 1998; Nagueh, Lakkis et al. 1999; Nagueh, Lakkis et al. 1999). Un rapport E/E'  $< 10$  ne traduit pas d'élévation de la précharge alors que un rapport E/E'  $> 15$  est un faveur d'une élévation des pressions de remplissage. Il existe une zone d'incertitude entre 10 et 15 qui justifie le recours aux autres indices qui sont la pente de propagation du flux de remplissage passif en TM-souleur, la surface de l'oreillette gauche et la durée de l'onde A pulmonaire rétrograde (Dagdelen, Eren et al. 2001).

### *Vitesse de propagation mitro-apicale du flux sanguin en mode TM-couleur*

Avec le déplacement de la base vers l'apex du cœur, la vitesse du flux sanguin baisse (*mitral inflow propagation velocity*). Cette modification peut être mise en évidence en mesurant la pente du profil en mode M-couleur du jet sanguin entre l'anneau mitral et l'apex. Dans les cœurs normaux, le remplissage protodiastolique est rapide et le changement de vitesse vers l'apex ( $V_p$ ) est minime, déterminant ainsi une pente raide et une haute vitesse de propagation. Dans le cas de dysfonction diastolique, le remplissage précoce est lent, la pente du profil en mode M est abaissée et la vitesse de propagation est réduite.  $V_p$  semble être relativement indépendant des conditions de charges (Brun, Tribouilloy et al. 1992; Stugaard, Smiseth et al. 1993; Stugaard, Smiseth et al. 1995; Gonzalez-Vilchez, Ares et al. 1999; Garcia, Smedira et al. 2000). Le rapport  $E/V_p$  est corrélé aux pressions de remplissage du ventricule gauche. Quand le rapport  $E/V_p$  dépasse 2,5, les pressions de remplissage ventriculaire gauche sont élevées. A l'inverse, lorsque ce rapport est inférieur à 1,5, ces pressions de remplissage sont basses. Il existe donc une zone d'incertitude entre 1,5 et 2,5 nécessitant le recours à une approche multiparamétrique.

### *Surface et volume de l'oreillette gauche*

Ce paramètre est facilement obtenu sur des coupes 2- ou 4-cavités. En clinique, il existe une relation entre le remodelage de l'oreillette gauche et d'autres indices de fonction diastolique (Tsang, Barnes et al. 2002). Cependant, le volume de l'oreillette gauche reflète uniquement les effets cumulés des pressions de remplissage dans le temps. Un volume supérieur ou égal à  $34 \text{ ml/m}^2$  est un facteur prédictif indépendant d'insuffisance cardiaque, de fibrillation atriale et d'accident vasculaire cérébral (Abhayaratna, Seward et al. 2006). Il faut tout de même garder à l'esprit qu'une dilatation de l'oreillette sans dysfonction diastolique peut se retrouver chez les patients présentant une bradycardie, une anémie, des pathologies à haut débit cardiaque, un flutter, une fibrillation atriale ou des pathologies importantes de la valve mitrale. L'oreillette module le remplissage ventriculaire en cumulant le sang pendant la fermeture de la valve mitrale et en l'expulsant dans le ventricule gauche avec sa contraction. Avec la progression de la dysfonction diastolique, la contribution auriculaire faiblit en raison d'une réduction de sa force contractile et de l'augmentation de la pression télé-diastolique du VG.

### *Pressions systolique et diastolique de l'artère pulmonaire*

Les patients symptomatiques avec une dysfonction diastolique présentent souvent des pressions élevées dans l'artère pulmonaire. En l'absence de pathologies pulmonaires, une élévation de la pression artérielle pulmonaire (calculée en utilisant les flux de régurgitation tricuspide ou

pulmonaire) peut être un signe indirect de pressions de remplissage ventriculaires gauches augmentées (Bouchard, Aurigemma et al. 2008).

#### *La manœuvre de Valsalva*

Cette manœuvre est exécutée en réalisant une expiration forcée (environ 40 mmHg) contre un nez et une bouche fermés. Ceci permet le diagnostic différentiel entre un flux normal et pseudo-normal en réduisant la précharge du cœur gauche. En cas de flux transmitral pseudo-normal, la manœuvre est capable de démasquer une altération de la relaxation : l'onde E se réduit et le temps de diastole s'allonge alors que l'onde A reste stable (réduction E/A). En cas de flux normal, les deux ondes E et A décroissent proportionnellement (Hurrell, Nishimura et al. 1997).

#### *Flux veineux pulmonaire*

Le flux veineux pulmonaire est évalué en coupe 4-cavités par Doppler pulsé avec une région d'échantillonnage placée au niveau de la veine pulmonaire. La vitesse du flux veineux reflète la pression atriale gauche. Le flux normal comprend une composante antérograde systolique biphasique (due à la relaxation atriale et à l'augmentation de la pression pulmonaire), une deuxième composante antérograde diastolique PVd (due à l'ouverture de la valve mitrale) et une onde rétrograde liée à la contraction atriale PVa. Chez les sujets normaux, le flux systolique est supérieur ou égal au flux diastolique ; en cas d'altération de la relaxation, la majeure partie du flux antérograde est constituée par la composante diastolique ( $PVd > PVs$ ). Avec l'augmentation des pressions de remplissage du ventricule gauche, le pic de PVd augmente. Une durée de PVa supérieure à celle de l'onde A mitrale suggère une élévation de la pression télédiastolique du ventricule gauche (Appleton 1997; Kinnaird, Thompson et al. 2001).

#### *Mesures de la déformation cardiaque*

Tout au long du cycle cardiaque, le myocarde subit des déformations tridimensionnelles complexes qui produisent des forces de cisaillement. Le Doppler tissulaire permet la mesure des vitesses intra-myocardiques au niveau de différents segments du cœur, en systole et en diastole, dans différentes directions (radiale, longitudinale, circonférentielle) (Derumeaux, Ovize et al. 1998; Hatle and Sutherland 2000; Greenberg, Firstenberg et al. 2002; Serri, Reant et al. 2006; Perk, Tunick et al. 2007). Cependant, ces vitesses sont le reflet des vitesses de déplacement myocardique en rapport non seulement avec la contraction ou la relaxation, mais aussi avec le déplacement du cœur à l'intérieur du thorax. Les gradients de vitesse rapportés à la distance entre deux points intramyocardiques (*strain rate*) permettent de faire abstraction de ce second paramètre, en mesurant

la différence de vitesse entre ces deux points rapportée à la distance séparant ces deux points ( $L_0$ ). L'intégrale de cette valeur permet de mesurer la déformation du myocarde au niveau des différents segments (*strain*). De nombreux travaux ont validé ces approches tant chez l'animal que chez l'homme. Néanmoins, une des limites de l'évaluation du *strain rate* et du *strain* par le Doppler tissulaire est liée au fait que cette mesure ne peut être faite que dans l'axe des ultrasons.

Une nouvelle technique permet une mesure du *strain* sans l'aide du Doppler, en imagerie bidimensionnelle noir et blanc (2D *strain*) (Serri, Reant et al. 2006; Perk, Tunick et al. 2007) : il s'agit du *speckle-tracking* dont le principe consiste à suivre le mouvement d'un petit élément de myocarde de 20 à 40 pixels, image par image. Cette technique récente a fait déjà l'objet de plusieurs études de validation retrouvant une bonne reproductibilité intra- et inter-observateur, ainsi qu'une bonne corrélation avec les méthodes de sonomicrométrie et les méthodes de *tagging* en IRM dont elles sont dérivées (Amundsen, Helle-Valle et al. 2006). Le pourcentage de segments analysables atteint 80% à plus de 90% en fonction des pathologies étudiées. Le 2D *strain* permet d'avoir accès à la contraction radiale, longitudinale et également à la torsion du ventricule gauche (mouvement antihoraire de l'apex par rapport à la base du cœur) sans la limite du Doppler dans l'axe des ultrasons.

À côté de l'analyse quantitative de la fonction cardiaque, l'analyse temporelle des événements est devenue extrêmement importante car l'on sait aujourd'hui que l'absence de synchronisation dans la contraction ou la relaxation entre les différentes régions du cœur obère le bon fonctionnement de la pompe cardiaque et peut aggraver une insuffisance cardiaque. Les techniques précédentes permettent une analyse fine de la contraction et sont donc particulièrement à même de dépister ces phénomènes de désynchronisation.

## 2- L'imagerie par résonance magnétique

L'amélioration des techniques d'acquisition et de reconstruction des images associée à la possibilité de synchroniser les images à l'électrocardiogramme a permis d'étendre l'utilisation de la résonance magnétique au cœur. Cette technique a l'avantage d'offrir une définition précise des contours myocardiques qui peuvent être mesurés dans les trois dimensions de l'espace. La mesure des volumes atrial et ventriculaire peut ainsi s'effectuer sans la nécessité de formuler une hypothèse géométrique. La même précision est possible pour la définition des flux sanguins à travers les valves mitrale et tricuspide. Par rapport aux paramètres échographiques, on parlera de volume par seconde (ml/sec) plutôt que de vitesses (cm/sec). Les flux des veines pulmonaires, en général difficilement évaluables par échographie, sont particulièrement accessibles.

L'analyse de la contraction et de la relaxation segmentaires bénéficie également de la précision de définition des contours myocardiques par IRM. La technique du *tagging* myocardique permet une analyse quantitative de la déformation myocardique (*strain*) dans tous les plans de l'espace durant le cycle cardiaque (Ennis, Epstein et al. 2003). Elle repose sur le marquage du myocarde par des impulsions de radiofréquence séparées par des gradients magnétiques. Les lignes qui apparaissent sur les coupes myocardiques dans les différents plans de l'espace lors de l'acquisition en résonance magnétique se déforment au cours de la contraction et de la relaxation cardiaque. L'analyse quantitative de ces déformations permet de déterminer différents indices des fonctions systolique et diastolique myocardique utiles pour quantifier la contractilité segmentaire (Azevedo, Amado et al. 2004). Les *strains* de cisaillement, y compris la torsion, peuvent être mesurés de cette façon. La torsion est un élément mécanique important de la géométrie ovalisée (Lorenz, Pastorek et al. 2000) du ventricule gauche et permet une fraction d'éjection élevée (65-70%) par un raccourcissement limité des fibres musculaires (15%). La torsion ou « *untwisting* » est une caractéristique clef de la performance diastolique (Rademakers, Buchalter et al. 1992; Buchalter, Rademakers et al. 1994) et se produit en bonne partie avant le remplissage (Rosen, Gerber et al. 2004). Ainsi ce phénomène est essentiel pour la suction (Nagel, Stuber et al. 2000; Fuchs, Müller et al. 2004)

**CHAPITRE III : L'INSUFFISANCE  
CARDIAQUE A FRACTION D'EJECTION  
PRESERVEE**

## I. CRITERES DIAGNOSTIQUES

Les manifestations classiques de l'insuffisance cardiaque sont la congestion pulmonaire conséquence des pressions veineuses élevées qui reflètent une insuffisance diastolique. La distinction entre les insuffisances systolique et diastolique ne peut pas se baser seulement sur l'histoire clinique, l'examen physique, l'électrocardiogramme ou la radiographie pulmonaire. En effet, les mêmes anomalies se retrouvent au cours de l'IC-FEp et de l'IC-FEr (Zile and Brutsaert 2002) (Tab. 2).

	<i>SYSTOLIC HF</i> <i>(EF &lt;50%)</i>	<i>DIASTOLIC</i> <i>HF (EF ≥50%)</i>
Symptoms		
Orthopnea	73	60
Paroxysmal nocturnal dyspnea	50	55
Dyspnea on exertion	96	85
Physical examination		
Jugular venous distention	46	35
Edema	40	30
Hepatomegaly	16	15
Displaced apical impulse	60	50
S <sub>3</sub>	65	45
S <sub>4</sub>	65	45
Rales	70	72
Chest radiography		
Pulmonary venous hypertension	80	75
Cardiomegaly	96	90

*Tableau 2. Prévalence des symptômes et des signes d'insuffisance cardiaque dans l'IC-FEr (systolic HF) et dans l'IC-FEp (diastolic HF).*

A ce jour, il existe quatre recommandations publiées pour le diagnostic de l'IC-FEp ("European Study Group on Diastolic Heart Failure" 1998; Vasan and Levy 2000; Yturralde and Gaasch 2005; Paulus, Tschope et al. 2007). Toutes demandent la présence concomitante et obligatoire de signes d'insuffisance cardiaque, la présence d'une fraction d'éjection préservée ainsi que la démonstration d'une dysfonction diastolique du ventricule gauche.

### A. Signes d'insuffisance cardiaque

Le diagnostic d'insuffisance cardiaque est porté sur les critères diagnostiques de l'étude Framingham (McKee, Castelli et al. 1971). La dyspnée est le signe cardinal de l'insuffisance cardiaque mais n'a aucune spécificité. Avant de rattacher ce signe à une insuffisance cardiaque, il est nécessaire d'éliminer toutes les autres causes de dyspnée comme un déconditionnement physique chez la personne âgée, une inadéquation hémodynamique chez le patient obèse, une



insuffisance respiratoire, des troubles métaboliques, une anémie ou encore une dysfonction thyroïdienne (Caruana, Petrie et al. 2000). La diminution des performances peut être objectivée également par la mesure de la  $VO_2$  max  $< 25$  ml/min/kg ou par la mesure du périmètre de marche à 6 minutes  $< 300$  m.

## **B. Une fraction d'éjection préservée**

Il est nécessaire que la fraction d'éjection soit normale ou modérément altérée dans les suites immédiates de l'épisode d'insuffisance cardiaque (à  $< 72$  heures). Actuellement, un consensus s'est établi pour une valeur seuil de la fraction d'éjection à 50%. Evidemment, il s'agit d'une valeur arbitraire car la distribution de ce paramètre est uni-modale dans l'insuffisance cardiaque (Solomon, Anavekar et al. 2005). Il n'y a donc pas de séparation dichotomique possible en théorie. Il faut souligner que la mesure de la fraction d'éjection donne une bonne appréciation de la fonction globale de pompe. En revanche, elle n'est pas forcément un indicateur précis de la fonction systolique. De nombreuses études renforcent l'idée d'anomalies contractiles infra-cliniques telle que la diminution du déplacement, de la déformation ou du phasage longitudinal du myocarde en Doppler tissulaire (Yip, Wang et al. 2002; Fornander, Nilsson et al. 2004; Vinereanu, Nicolaidis et al. 2005; Wang, Khoury et al. 2008). Par ailleurs, les volumes ventriculaires gauches doivent être normaux (volume télé-systolique  $< 49$  ml/m<sup>2</sup>, volume télé-diastolique  $< 97$  ml/m<sup>2</sup>), ce qui permet d'exclure certaines valvulopathies à l'origine d'une surcharge volumique dans lesquelles la fraction d'éjection se voit normalisée par un effet Starling.

## **C. La dysfonction diastolique du ventricule gauche**

La dysfonction diastolique peut être mise en évidence par la recherche d'altérations mécaniques (élévation de la précharge, trouble de la relaxation, rigidité ventriculaire) ou par des marqueurs indirects (hypertrophie du ventricule gauche, dilatation de l'oreillette gauche, fibrillation atriale, élévation des taux circulants des peptides natriurétiques, des signes échocardiographiques en faveur d'une élévation des pressions de remplissage).

Une première approche (« invasive ») a été appliquée au cours du NHLBI *Framingham Heart Study* et est à la base des recommandations de l'*American Heart Association*. La deuxième approche est issue d'observations cliniques obtenues par des techniques non invasives et est à la base des recommandations de l'*European Society of Cardiology*. Une autre particularité différencie ces deux écoles : d'un côté l'*American Heart Association* demande la mesure directe et invasive de la fonction diastolique chez un patient stabilisé et, de l'autre, l'*European Society of Cardiology* prône une évaluation indirecte et non-invasive de la fonction diastolique en phase de

décompensation. Bien que les deux approches soient diamétralement opposées, elles offrent malgré tout de nombreux avantages et inconvénients qui méritent d'être discutés.

### 1- Approche de l'American Heart Association

On doit cette approche à Vasan et al qui ont défini en 2000 les critères diagnostiques américains de l'IC-FEp (Vasan and Levy 2000). Le cathétérisme cardiaque ne doit pas être réalisé nécessairement en phase de décompensation. Le critère de positivité impose une constante de relaxation  $\tau$  supérieure à 48 ms, une pression télé-diastolique ventriculaire gauche supérieure à 16 mmHg, une raideur ventriculaire gauche supérieure à 0,27 mmHg/ml ou une pression pulmonaire bloquée supérieure à 12 mmHg. Ces anomalies ont été confirmées à posteriori (Zile, Baicu et al. 2004).

L'approche américaine est dite directe car elle permet une mesure objective de la relaxation et de la rigidité ventriculaires gauches. Son caractère invasif limite son application en routine clinique. En effet, le cathétérisme cardiaque provoque un surcout hospitalier évident et surtout, présente un risque de complications non négligeables.

### 2- Approche de l'European Society of Cardiology

L'approche européenne est non-invasive car elle se base sur l'examen échocardiographique pour le diagnostic de l'IC-FEp. Elle est indirecte car elle ne mesure pas directement les paramètres de relaxation et de compliance ventriculaire gauche, bien que des mesures invasives comme celles de la pression télé-diastolique du ventricule gauche ( $>15$  mmHg) ou de la pression pulmonaire bloquée ( $>12$  mmHg) puissent être réalisées. Les paramètres échocardiographiques essentiels sont un rapport E/A supérieur à 2 et un rapport E/E' supérieur à 15.

L'écueil majeur de l'échocardiographie est son caractère indirect. L'ensemble des paramètres obtenus à partir des mesures en Doppler sanguin et tissulaire ne reflète qu'indirectement la relaxation et la compliance ventriculaire gauche. Par ailleurs, ces mesures sont très dépendantes des conditions de charge, de la fréquence cardiaque, de l'âge ou d'une condition physiopathologique sous-jacente. Par ailleurs, le rapport E/E' a une sensibilité et une spécificité qui n'excèdent pas respectivement 60% et 80%, ce qui implique que le diagnostic d'élévation de la précharge peut être omis chez 4 patients sur 10.

En cas de rapport E/E' évocateur d'une dysfonction diastolique ( $15 > E/E' > 8$ ), la présence concomitante d'autres éléments est requise :

- E/A  $< 0,5$  associé à temps diastolique  $> 280$  ms (sur le signal Doppler du flux trans-mitral)

- durée (PVa – PVd) > 30 ms
- dimension de l'oreillette gauche > 40 ml/m<sup>2</sup>
- masse ventriculaire gauche > 149 g/m<sup>2</sup> pour les hommes et > 122 g/m<sup>2</sup> pour les femmes
- fibrillation atriale persistante
- élévation de NT-pro-BNP > 220 pg/ml et BNP > 200 pg/ml.

À l'inverse, la seule élévation des peptides natriurétiques n'est pas suffisante pour un diagnostic de dysfonction diastolique. De manière physiologique, les taux circulants de NT-pro-BNP et de BNP augmentent avec l'âge, l'insuffisance rénale et hépatique. Ces valeurs ne peuvent donc pas s'analyser de manière isolée mais au regard des données échocardiographiques. Cependant, lorsque le NT-pro-BNP et le BNP sont respectivement inférieurs à 120 pg/ml et 100 pg/ml, le diagnostic d'IC-FEp est éliminé.

La valeur diagnostique de certains de ces paramètres nécessite encore d'être validée pour détecter une dysfonction diastolique. Certaines études proposent que :

- une valeur de E/E' > 8 prédit un module de rigidité élevé chez des patients avec IC-FEp (Kasner, Westermann et al. 2007), alors que ce même paramètre reste critiqué en cas d'IC-FEr (Mullens, Borowski et al. 2009). Certains affirment que la seule valeur de E/E' > 8 serait suffisante (Handoko and Paulus 2008).
- des dimensions de l'oreillette gauche > 40 ml/m<sup>2</sup> sont synonymes d'une valeur de E/E' > 15 avec une haute spécificité et sensibilité (Emery, Jadavji et al. 2008).
- une masse ventriculaire > 149 g/m<sup>2</sup> (pour les hommes) et > 122 g/m<sup>2</sup> (pour les femmes) préfigurent une valeur de E/E' > 15 avec une faible sensibilité mais une haute spécificité (Emery, Jadavji et al. 2008).
- la valeur diagnostique de NTproBNP > 220 pg/ml semble avoir une faible sensibilité mais une bonne spécificité (Edelmann, Schmidt et al. 2010).

### 3. Intolérance au stress

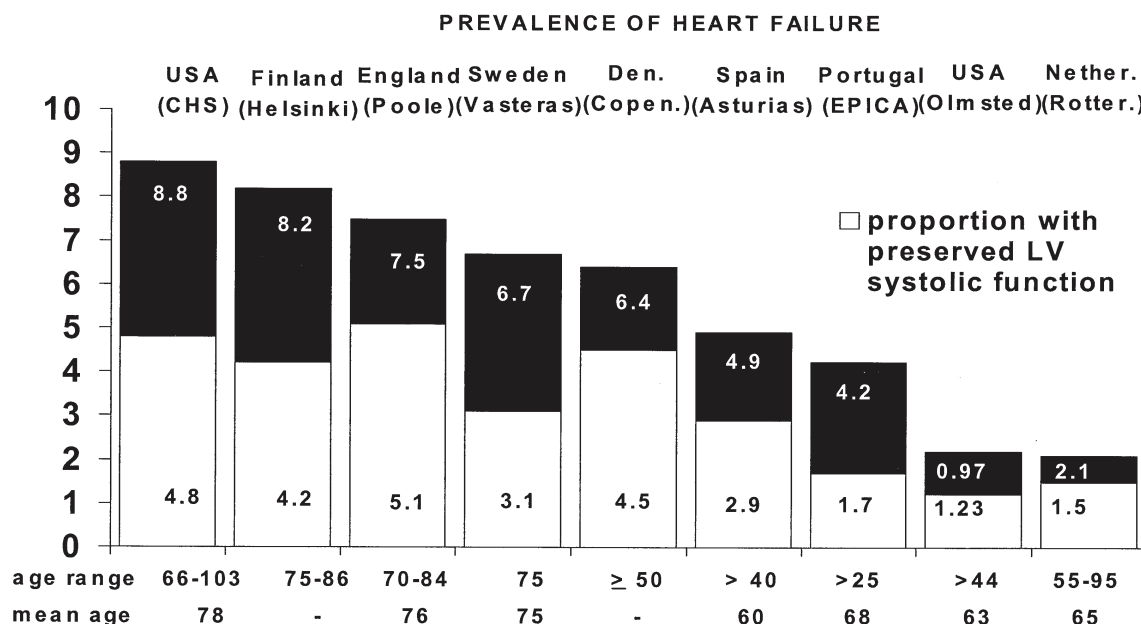
Au cours de l'IC-FEp, la principale altération hémodynamique se résume à une élévation des pressions de remplissage (Zile, Baicu et al. 2004). Lorsque ces pressions sont élevées et que des signes congestifs sont présents au repos, l'IC-FEp est facilement diagnostiquée sur la base de l'histoire clinique, de l'examen physique, de la radiographie du thorax, des taux de peptides natriurétiques circulants et des résultats échocardiographiques (Paulus, Tschope et al. 2007). A un stade plus précoce d'IC-FEp, les patients ne présentent pas de signes évidents de surcharge mais en revanche ils présentent une intolérance à l'effort. Dans ces cas, les anomalies du remplissage

ventriculaire peuvent être révélées par une épreuve de stress comme l'exercice (Borlaug, Nishimura et al. 2010) ou la levée passive des jambes. S'il était possible de les estimer correctement, l'évaluation des pressions de l'artère pulmonaire serait très informative puisque celles-ci suivent de près l'évolution des pressions de remplissage ventriculaire au cours des phases initiales de l'IC-FEp. Certains auteurs préconisent la mesure du rapport E/E' au cours des test d'effort (Burgess, Jenkins et al. 2006). Il est possible que la valeur prédictive de E/E' soit moins robuste dans le cas de tachycardie, d'hyperventilation ou de fusion des vitesses précoces et tardives du flux transmitral.

## II. EPIDEMIOLOGIE

### A. Généralités

Les données relatives à l'incidence de l'IC-FEp sont plutôt rares. Le concept d'IC-FEp a été introduit vers la fin des années 1980. Les premières données épidémiologiques ont montré une prévalence variable (entre 13 et 74% avec une médiane à 45%) (Fig. 11). Cette importante variabilité résulte probablement des différences de critères d'inclusion, de critères diagnostiques, des méthodes d'évaluation de la fonction systolique ventriculaire et de la durée du suivi (Vasan, Benjamin et al. 1995; Hogg, Swedberg et al. 2004; Thomas, Fox et al. 2004). Cette hétérogénéité a suscité de nouvelles vagues d'investigations en utilisant les grands registres épidémiologiques à disposition.



**Figure 11. Prévalence de l'insuffisance cardiaque en fonction de l'origine géographique.** Les parties noires des histogrammes indiquent la prévalence de l'insuffisance cardiaque, les parties blanches indiquent la proportion de cas avec une fraction d'éjection conservée. (d'après Hogg, 2004)

Dans une série de 216 nouveaux cas d'insuffisance cardiaque répertoriés au cours de l'année 1991 dans la population du comté d'Olmsted (Minnesota, Etats-Unis), 43% des patients présentaient une fraction d'éjection normale avec un nombre de cas plus important chez les patients âgés de plus de 70 ans (Senni, Tribouilloy et al. 1998). En comparaison avec l'IC-FEr, cette étude montrait une proportion plus importante de femmes (respectivement 69 vs 41%), un âge moyen plus avancé (respectivement 77 vs 74 ans), une plus haute prévalence de fibrillation atriale (respectivement 29 vs 24%) ainsi que des prévalences moins importantes de maladie coronaire (respectivement 31 vs 53%) et d'infarctus du myocarde (15 vs 42%). Aucune différence dans la prévalence de l'hypertension artérielle et de la bronchopneumopathie obstructive n'était retrouvée. Cependant, cette étude était basée sur un faible nombre de patients et pour 39% d'entre eux aucune évaluation échocardiographique n'était disponible.

Dans la même population, avec un recrutement plus large et quelques années plus tard (Bursi, Weston et al. 2006), 55% des patients présentant une insuffisance cardiaque avaient une fraction d'éjection préservée. L'association avec l'âge et le sexe féminin était confirmée mais aucun antécédent d'infarctus du myocarde n'était retrouvé. L'IC-FEp, tout comme l'IC-FEr, était associée à des taux élevés de BNP circulant et une mortalité importante. Sur un plus petit groupe de patients inscrits dans le registre de la cohorte Framingham (Vasan, Larson et al. 1999), les mêmes tendances étaient retrouvées avec notamment 51% des sujets présentant une fraction d'éjection préservée et une prévalence plus importante chez les femmes. La mortalité annuelle était de 8,7% pour l'IC-FEp vs 18,9% pour l'IC-FEr.

A ce jour, la majeure partie des données épidémiologiques disponibles dans le domaine de l'IC-FEp dérive des registres basés sur les comptes-rendus d'hospitalisation des patients admis avec des signes d'insuffisance cardiaque. Les résultats obtenus par les différents centres sont plutôt homogènes (Tarantini, Faggiano et al. 2002; Masoudi, Havranek et al. 2003; Klapholz, Maurer et al. 2004; Lenzen, Scholte op Reimer et al. 2004; Grigorian Shamagian, Gonzalez-Juanatey et al. 2005; Olsson, Swedberg et al. 2006; Owan, Hodge et al. 2006; Yancy, Lopatin et al. 2006). Selon des données récentes obtenues sur une période de 15 ans dans la population du comté de l'Olmsted (Owan, Hodge et al. 2006), la prévalence de l'IC-FEp a augmenté de 38% à 54%, alors que celle de l'IC-FEr est restée stable dans le même temps. Dans cette étude, une fraction d'éjection était considérée comme normale si sa valeur était supérieure ou égale à 50%, les résultats échocardiographiques étant disponibles dans 76% des cas. Sur la même période, aucune modification de la prévalence de l'IC-FEr n'avait été remarquée.

## B. Impact de l'âge

Comme nous l'avons vu, la prévalence de la HFpEF est significativement importante parmi les patients ayant un âge supérieur à 65 ans. Dans l'étude d'Owan et al. (Owan, Hodge et al. 2006), la fraction d'éjection était normale chez 40% des patients âgés de moins de 50 ans et chez 49% de ceux qui avaient un âge supérieur à 65 ans dans une population de 6076 patients admis à l'hôpital lors d'une décompensation cardiaque entre 1987 et 2001. Masoudi (Masoudi, Havranek et al. 2003) retrouve la même tendance. Ce phénomène pourrait s'expliquer par l'apparition d'une fibrose interstitielle qui accompagne le processus de vieillissement (Lakatta 1979), par l'hypertrophie ventriculaire gauche et par des modifications des profils hémodynamiques ventriculaires (Klein, Burstow et al. 1994).

## C. Impact de sexe

L'IC-FEp est plus fréquente chez les femmes (Hogg, Swedberg et al. 2004). L'exploitation des registres de l'assurance *Medicare* (Masoudi, Havranek et al. 2003) indique que les femmes sont deux fois plus représentées que les hommes chez les patients avec une IC-FEp. Dans la métropole de New York, environ trois-quarts des patients hospitalisés pour une IC-FEp sont des femmes présentant une masse ventriculaire augmentée et une histoire d'hypertension artérielle (Klapholz, Maurer et al. 2004). Ces mêmes tendances sont retrouvées dans les travaux s'appuyant sur la cohorte Framingham (Vasan, Larson et al. 1999) et l'étude de la population du comté d'Olmsted (Senni, Tribouilloy et al. 1998; Owan, Hodge et al. 2006). En Europe, les patients avec une IC-FEp enregistrés dans l'*EuroHeart Failure Survey* (Lenzen, Scholte op Reimer et al. 2004) étaient plutôt des femmes (55% vs. 29% avec une IC-FEr).

Ces différences pourraient être en partie liées à une réponse différente aux contraintes entre les hommes et les femmes. En effet, celles-ci présentent une tendance à l'hypertrophie ventriculaire plus marquée en réponse à l'hypertension artérielle (Krumholz, Larson et al. 1993; Douglas, Katz et al. 1998) ou en présence d'une sténose aortique (Carroll, Carroll et al. 1992). Cette différence pourrait résulter d'une moindre perte cardiomyocytaire chez les femmes et d'un effet des estrogènes sur la régulation des gènes impliqués dans la réponse hypertrophique (Olivetti, Giordano et al. 1995; Sugden and Clerk 2001; Liao, Jollis et al. 2006). Ceci n'est probablement qu'une partie de l'explication puisque la différence selon le sexe persiste en l'absence d'hypertension artérielle (Masoudi, Havranek et al. 2003).

## **D. Impact des comorbidités**

Plusieurs conditions pathologiques chroniques non cardiaques, ou comorbidités, sont présentes avec une haute prévalence au cours des l'IC-FEp : pathologies pulmonaires, pathologies respiratoires associées aux troubles du sommeil, les dysfonction rénales et hépatiques, les désordres thyroïdiens, le diabète, les myopathies, la dépression (Triposkiadis and Skoularigis 2012). De plus en plus d'études épidémiologiques s'intéressent à la description de ce phénomène dans le but de formuler des hypothèses physiopathologiques solides ((Ather, Chan et al. 2012), (Mohammed, Borlaug et al. 2012), (Guder, Frantz et al. 2009), (Edelmann, Stahrenberg et al. 2011), (Lam, Carson et al. 2012), (Brouwers, de Boer et al. 2013), (Pocock, Ariti et al. 2013)).

### 1- L'hypertension artérielle

L'hypertension artérielle est proportionnellement plus fréquente chez les patients avec une IC-FEp que ceux avec une IC-FEr (Lenzen, Scholte op Reimer et al. 2004). L'étude de cohorte sur les registres *Medicare* (Masoudi, Havranek et al. 2003) a confirmé par analyse multivariée l'association hypertension-IC-FEp. Cependant, il semblerait que la prévalence de l'hypertension soit la même chez les patients avec IC-FEp et IC-FEr (Liao, Jollis et al. 2006).

### 2- Les pathologies coronaires et valvulaires

Les pathologies coronaires et valvulaires sont plutôt rencontrées chez des patients avec IC-FEr que IC-FEp (Hogg, Swedberg et al. 2004; Klapholz, Maurer et al. 2004; Lenzen, Scholte op Reimer et al. 2004; Owan, Hodge et al. 2006), avec des pourcentages similaires pour les femmes et les hommes. L'analyse multivariée effectuée sur les données issues de *Medicare* a confirmé ces tendances (Masoudi, Havranek et al. 2003).

### 3- Le diabète et l'obésité

Le diabète et l'obésité représentent chacun la deuxième co-morbidité observée chez les patients avec une IC-FEp. Dans le registre new-yorkais, la prévalence de chacune des deux pathologies est d'environ 46% (Klapholz, Maurer et al. 2004). Ces données sont confirmées par celles du *Strong Heart Study* (Devereux, Roman et al. 2000) et dans la population du comté d'Olmsted (Owan, Hodge et al. 2006). L'analyse des données du *Cardiovascular Health Study* (Liao, Jollis et al. 2006) n'a montré aucune différence de la prévalence du diabète entre l'IC-FEr et l'IC-FEp alors que parmi les patients du comté d'Olmsted, elle était inférieure dans le groupe IC-FEp (Owan, Hodge et al. 2006). Dans une population de 4109 patients avec IC-FEp inclus dans

l'étude I-PRESERVE (Haass, Kitzman et al. 2011), l'obésité contribue à la mortalité avec une relation en 'U' : la mortalité augmente pour un IMC <23 ou >32.

#### 4- La fibrillation atriale

Dans la majorité des études, la fibrillation atriale est beaucoup plus fréquemment observée au cours de l'IC-FEp que l'IC-FEr. Dans une étude italienne, la fibrillation atriale était présente chez 16% des patients avec une IC-FEr et 25% en cas d'IC-FEp (Tarantini, Faggiano et al. 2002). Dans la population de patients du projet *Medicare* (Masoudi, Havranek et al. 2003), une histoire clinique de fibrillation atriale est significativement associée à la présence d'une IC-FEp lorsqu'une analyse multivariée est appliquée. D'autres investigations ont confirmé cette observation (Lenzen, Scholte op Reimer et al. 2004; Varela-Roman, Grigorian et al. 2005; Bhatia, Tu et al. 2006; Owan, Hodge et al. 2006). Le lien de causalité entre la fibrillation atriale et l'IC-FEp peut être réciproque. D'une part, l'apparition d'une fibrillation atriale peut aggraver une insuffisance cardiaque, rendant nécessaire l'hospitalisation ; d'autre part, les patients avec une insuffisance cardiaque peuvent plus facilement présenter cette condition. Les données dérivées de l'étude CHARM sur une population de 7599 patients randomisés entre un traitement par le candesartan ou le placebo, ont montré des pourcentages plus resserrés (17% de fibrillation atriale chez les patients avec une fraction d'éjection  $\leq 40\%$ , 19% chez ceux avec une fraction d'éjection  $>40\%$ ). L'analyse de ces mêmes données (Olsson, Swedberg et al. 2006) a montré que la présence de fibrillation atriale au moment de l'inclusion est associée avec un risque accru de mortalité et de morbidité chez les patients avec une insuffisance cardiaque symptomatique, indépendamment de la fraction d'éjection de départ.

#### 5- La Broncho-Pneumopathie Chronico-Obstructive (BPCO)

La prévalence de la BPCO chez les patients avec insuffisance cardiaque est autour de 20-40% et vice-versa (Iversen, Kjaergaard et al. 2008). La BPCO retarde le diagnostic de l'insuffisance cardiaque. La BPCO est à la fois un identificateur de IC-FEp (Bishu, Hamdani et al. 2011) et un facteur favorisant la mortalité (Ather, Chan et al. 2012). Dans une étude récente menée sur 184 patients insuffisants cardiaques et avec une BPCO associée (Kwon, Kim et al. 2010), la survie indépendante d'évènements cardiaques et pulmonaires était la même entre IC-FEr et IC-FEp.

#### 6- L'anémie

Dans la cohorte de l'étude SENIORS (von Haehling, van Veldhuisen et al. 2011) et dans celle d'une étude japonaise (Kaneko, Suzuki et al. 2013), l'anémie est l'un des facteurs prédictifs



indépendants de mortalité cardiaque toute cause confondue. L'anémie s'associe à un volume et une compliance télé-diastoliques plus importants et un pronostic plus sombre (Mohammed, Borlaug et al. 2012). Le traitement de l'anémie ne semble pas avoir un effet positif en terme de remodelage et de survie (Maurer, Teruya et al. 2013).

### 7- Les maladies renales chroniques

L'insuffisance cardiaque est l'une des complications les plus fréquentes chez les patients dialysés et l'insuffisance rénale chronique est un facteur prédictif indépendant de mortalité et d'hospitalisation chez les patients insuffisants cardiaques, quelle que soit la FE (Smith, Thorp et al. 2013). Une petite étude prospective toute récente (Wang, Wang et al. 2013) a montré que l'IC-FEP présente chez les patients en dialyse péritonéale s'associe à une augmentation de la mortalité et des évènements cardiovasculaires, par rapport aux patients sans insuffisance cardiaque; ce risque est plus bas que en cas de IC-FEr.

### 8- Commentaires

L'inflammation, considérée comme phénomène systémique, semblerait jouer le rôle de dénominateur commun pour toutes ces comorbidités : l'association de l'inflammation avec les pathologies coronaires et l'athérosclérose infra-clinique a été bien documenté (van der Meer, de Maat et al. 2002; Willerson and Ridker 2004), ainsi qu'avec le diabète (Greenfield and Campbell 2006) et l'hypertension (Wong, Leung et al. 2007). Un bas degré d'inflammation systémique a été décrit chez les fumeurs (Yanbaeva, Dentener et al. 2007). L'association de l'inflammation et du stress oxydant est présent au cours des maladies rénales chroniques (Annuk, Soveri et al. 2005).

Chez les patients avec une insuffisance cardiaque, on observe une élévation des marqueurs d'inflammation (Oikonomou, Tousoulis et al. 2011) comme l'interleukine-6 (IL-6), le tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ), la protéine C-réactive (CRP) (Levine, Kalman et al. 1990; Torre-Amione, Kapadia et al. 1996; Roig, Orus et al. 1998; Tsutamoto, Hisanaga et al. 1998; Anand, Latini et al. 2005; Miettinen, Lassus et al. 2008). Leurs niveaux sont corrélés au pronostic.

De manière intéressante, les marqueurs de l'inflammation sont pareillement augmentés chez les patients asymptomatiques avec une dysfonction systolique et diastolique (Raymond, Dehmer et al. 2001; Cesari, Penninx et al. 2003; Vasan, Sullivan et al. 2003; Bahrami, Bluemke et al. 2008; Kosmala, Derzhko et al. 2008; Williams, Shah et al. 2008; Kalogeropoulos, Georgiopoulou et al. 2010) et des travaux expérimentaux ont suggéré que l'IL-6 et le TNF- $\alpha$  puissent jouer un rôle dans le remodelage du ventricule gauche, dans l'expression de gènes fœtaux, dans l'hypertrophie et

l'apoptose des myocytes (El-Menyar 2008). Ces observations laissent penser que l'inflammation puisse être associée à une augmentation du risque d'insuffisance cardiaque.

**CHAPITRE IV : DYSFONCTION  
DIASTOLIQUE ET INSUFFISANCE  
CARDIAQUE A FRACTION D'EJECTION  
PRESERVEE : MECANISMES  
PHYSIOPATHOLOGIQUES ET  
TRAITEMENTS**

## I. MECANISMES PHYSIOPATHOLOGIQUES

### A. Altérations structurelles : la rigidité ventriculaire gauche

En absence de toute atteinte du péricarde ou de l'endocarde, la dysfonction diastolique du ventricule gauche résulte en grande partie d'une augmentation de sa rigidité qui est déterminée par la composition de la matrice extracellulaire et par certaines caractéristiques des cardiomyocytes.

#### *1- Composition de la matrice extracellulaire*

La matrice extracellulaire a trois principales composantes : (1) les protéines fibrillaires comme le collagène type I, type III ou l'élastine ; (2) les protéoglycanes ; (3) les protéines de la membrane basale représentées par le collagène type IV, la laminine ou la fibronectine. La rigidité de la matrice extracellulaire est déterminée par la quantité totale de collagène et le ratio type I/III ainsi que le degré de croisement entre ses fibres. La contrainte pariétale (pré- et post-charges), l'activation neuro-hormonale et les facteurs de croissance modulent le processus de synthèse du collagène (Weber, Brilla et al. 1993).

L'IC-FEp s'accompagne d'un dépôt en excès de collagène de type I, la forme plus rigide, résultant d'un déséquilibre entre une synthèse trop importante et une dégradation diminuée, cet ensemble conduisant à une fibrose interstitielle. Chez des rats hypertendus suite à une sténose de l'aorte sus-rénale, le TGF- $\beta$  semble activer le dépôt de fibrinogène par l'activation des fibroblastes (Kawahara, Kai et al. 2002). L'excès de synthèse a été objectivé chez des patients hypertendus par une libération dans la circulation générale de la partie carboxy-terminale du pro-collagène (Querejeta, Varo et al. 2000; Lopez, Gonzalez et al. 2010). Une dégradation réduite des fibres de collagène a été mise en évidence chez des patients hypertendus présentant une IC-FEp (Ahmed, Clark et al. 2006). Ceci est la conséquence d'expressions respectivement diminuées et augmentées des métalloprotéinases (MMPs) et des inhibiteurs tissulaires de métalloprotéinases (TIMPs) (Gonzalez, Lopez et al. 2010). Ces modifications contrastent avec celles observées chez des patients présentant une cardiomyopathie dilatée chez qui on constate une augmentation de la dégradation de la matrice extracellulaire en raison d'une augmentation d'expression des MMPs (Spinale, Coker et al. 2000). Il est intéressant de constater que chez les patients porteurs d'une sténose aortique et qui évoluent vers une réduction de la fraction d'éjection, on assiste à une inversion de l'équilibre anti-protéolyse vs protéolyse du collagène (Polyakova, Hein et al. 2004).

En plus de la fibrose interstitielle, des variations qualitatives de composition de la matrice extracellulaire sont impliquées dans la modulation de la fonction des fibroblastes, la régulation de

l'hypertrophie et la survie des cardiomyocytes (Schellings, Pinto et al. 2004). Par leur lien avec le collagène, les métalloprotéinases et les récepteurs membranaires, les protéines de la matrice extracellulaire contrôlent également la qualité de cette matrice et les fonctions des cardiomyocytes (Schroen, Heymans et al. 2004). La contribution des modifications de cette composition reste à explorer au cours de l'IC-FEp.

Les difficultés dans l'obtention de matériel biopsique humain n'ont pas facilité l'exploration du rôle de la fibrose chez les patients avec IC-FEp. L'une des rares études avait retrouvé que le pourcentage de collagène de patients en IC-FEp participe à la tension passive des fibres myocardiques en même temps que la rigidité des cardiomyocytes (Borbely, van der Velden et al. 2005). Cependant, ces auteurs n'ont pas détecté de corrélation entre la fraction de collagène et la gravité de la maladie. Cette rigidité peut être réduite par la phosphorylation dépendant des PKA et donc implique les protéines du sarcomère.

## 2- Modification du sarcomère

Les myofibrilles montrent une résistance à l'étirement et une grande partie de cette force élastique est liée à la macromolécule appelée titine (Linke, Popov et al. 1994) alors que la tubuline et la desmine ne contribuent que faiblement (moins de 10%) aux longueurs opérationnelles du sarcomère (Granzier and Irving 1995). La titine possède plusieurs isoformes et participe au contrôle des propriétés mécaniques du ventricule gauche. Elle est exprimée dans les cardiomyocytes selon deux isoformes principales, l'une plus courte et rigide N2B et l'autre plus longue et élastique N2BA. Le ratio N2B/N2BA est en faveur de la première forme chez les rongeurs tandis que ce rapport s'inverse chez les animaux de plus grande taille (Wu, Cazorla et al. 2000). Des modifications d'isoformes sont également rencontrées au cours du développement cardiaque avec le passage d'une forme plus élastique vers une autre plus rigide (Lahmers, Wu et al. 2004). Au cours de l'IC-FEp, la titine joue un rôle essentiel dans les modifications de la rigidité passive avec une augmentation du ratio N2B/N2BA (Wu, Cazorla et al. 2000; Neagoe, Kulke et al. 2002)). A l'inverse dans des cœurs explantés à la suite d'une greffe cardiaque et présentant un remodelage excentrique, le rapport est en faveur de N2BA (Makarenko, Opitz et al. 2004; Nagueh, Shah et al. 2004).

Au-delà des différences structurelles, des modifications post-translationnelles de la titine jouent également un rôle dans la modulation dynamique de la tension diastolique. Ainsi des altérations de sa phosphorylation protéine kinase A et kinase G-dépendantes (Kruger, 2009 #356; Hidalgo, 2009 #358; Borbely, 2009 #357; Hamdani, 2013 #719) ont été décrites. De plus, des

résidus cystéine de N2B peuvent être ciblés par le stress oxydant induisant une augmentation de la tension passive ((Hidalgo and Granzier 2013); (Grutzner, Garcia-Manyes et al. 2009)). Ces anomalies contribuent à l'augmentation de la rigidité de la titine. D'un point de vue expérimental, l'administration de sildénafil, un inhibiteur de la phosphodiestérase 5, chez des chiens présentant une IC-FEp, permet d'augmenter la phosphorylation de la forme N2B et de réduire la rigidité des myofibrilles (Bishu, Hamdani et al. 2011). Une dernière expérience très élégante vient de montrer que la seule délétion du domaine Ig-like de la zone d'ancrage de la titine peut déterminer une augmentation de la rigidité du sarcomère dont elle fait partie (Chung, Hutchinson et al. 2013).

## **B. Altérations fonctionnelles: la relaxation ventriculaire**

La relaxation du ventricule gauche nécessite que les interactions actine-myosine reviennent à l'état de base ou de repos. Ainsi tout ce qui interfère avec la dissociation des ponts actine-myosine ou la réduction des niveaux de calcium cytosolique peut ralentir la relaxation : une réduction de la recapture du calcium vers le réticulum sarcoplasmique, une anomalie au niveau de l'échangeur sodium-calcium sarcoplasmique, une interférence avec le découplage des ponts actine-myosine par un métabolisme altéré des phosphates à haute énergie ou des anomalies des protéines contractiles modifiant leur interaction avec le calcium.

### *1- Altérations de l'homéostasie calcique*

La SERCA2a et son modulateur le phospholamban, le récepteur de la ryanodine et son modulateur la calstabile 2, l'échangeur sodium-calcium peuvent être impliqués dans les altérations des transitoires calciques et contribuer au ralentissement de la relaxation.

Au cours de l'IC-FEp, l'activité de re-pompage calcique du cytosol s'affaiblit secondairement à une réduction d'expression de la SERCA2a et du phospholamban (O'Rourke, Kass et al. 1999; Frank, Bolck et al. 2002). Par ailleurs, cette activité est régulée par la protéine kinase A et son degré de phosphorylation. Ces deux acteurs peuvent être phosphorylés sur un résidu de sérine par la protéine kinase A (Schwinger, Munch et al. 1999; MacLennan and Green 2000; Toyoshima, Asahi et al. 2003). Des expériences de transfert génique ont confirmé le rôle de ces deux protéines dans la relaxation : le transfert de SERCA2a ou d'un mutant négatif de phospholamban améliore la relaxation (Miyamoto, del Monte et al. 2000; Hoshijima, Ikeda et al. 2002; del Monte and Hajjar 2003). A l'inverse, la délétion du phospholamban enlève le frein inhibiteur (Luo, Grupp et al. 1994). Il faut souligner que l'augmentation d'expression de l'échangeur sodium-calcium peut compenser la baisse d'activité SERCA2a, en permettant d'extruder le calcium vers l'extérieur de la cellule (Hasenfuss, Schillinger et al. 1999). Cependant, une libération calcique plus faible, une

concentration sodique plus importante et un potentiel d'action prolongé peuvent retarder la relaxation (Weber, Piacentino et al. 2003; Weisser-Thomas, Piacentino et al. 2003). Par ailleurs, une hyperphosphorylation des récepteurs de la ryanodine et une réduction des niveaux de calstabile 2 peuvent induire des fuites calciques diastoliques (Marks, Reiken et al. 2002; Reiken, Gaburjakova et al. 2003).

Par ailleurs, la voie de signalisation liée au monoxyde d'azote (NO) est aussi impliquée dans la régulation de la relaxation. Son second messenger, la guanosine monophosphate cyclique (GMPc) réduit la sensibilité des myofilaments au calcium et facilite ainsi le détachement des ponts fibrillaires (Paulus, Vantrimpont et al. 1994). Une étroite relation a été mise en évidence dans les cœurs humains défaillants entre ce système et la dysfonction diastolique du ventricule gauche (Wilson Tang, Tong et al. 2008). De même, dans un modèle animal, le découplage de la NO synthase détermine une dysfonction diastolique (Silberman, Fan et al. 2010).

Si de nombreuses données ont ainsi été obtenues dans le domaine de l'IC-FEr, une réévaluation de ces systèmes est nécessaire au cours de l'IC-FEp même si des résultats ont été rapportés dans des modèles d'hypertrophie ventriculaire gauche. Ainsi, alors que la fonction ventriculaire systolique n'est pas déprimée et qu'il existe des anomalies de la relaxation isovolumique, l'expression des récepteurs de la ryanodine est significativement réduite au niveau sous-endocardique alors qu'aucune modification n'est observée au niveau épicaudique en cas d'hypertrophie ventriculaire gauche secondaire à une sténose supra-valvulaire (Hittinger, Patrick et al. 1994). Dans ces conditions, la SERCA2a voit également son expression diminuer alors que celui de la calséquestrine, de l'échangeur sodium-calcium ou du phospholamban restent inchangés (Song, Pi et al. 2005). Ceci s'accompagne d'une augmentation de la fréquence des étincelles calcique ("*calcium sparks*") ainsi qu'une hyperphosphorylation des récepteurs de la ryanodine.

## 2- Augmentation de la rigidité du sarcomère

La relaxation peut être altérée suite à des modifications d'interaction entre le calcium et les protéines contractiles (Westfall, Borton et al. 2002). Ainsi, le remplacement de la troponine I (TnI) avec une forme squelettique qui ne peut pas être phosphorylée prolonge la relaxation (Wolska, Vijayan et al. 2001), alors que l'hyper-expression d'une troponine I fonctionnant comme si elle était hyperphosphorylée raccourcit la relaxation (Takimoto, Soergel et al. 2004). La manipulation pharmacologique de la relation force-calcium peut favoriser la formation de ponts très solides y compris à des niveaux de concentrations calciques diastoliques (Solaro, Gambassi et al. 1993; Palmer, Di Bello et al. 1995; Hajjar, Schmidt et al. 1997). L'allopurinol, inhibiteur de la xanthine-

oxydase, déplace la courbe force-calcium vers la gauche (Perez, Gao et al. 1998) sans modifier la sensibilité aux concentrations calciques diastoliques de  $Ca^{2+}$  (Ekelund, Harrison et al. 1999). Une prédominance de l'isoforme  $\beta$  (par rapport à  $\alpha$ ) de la chaîne légère de la myosine pourrait favoriser la prolongation de l'accroissement de la force et de la phase de relaxation (Fitzsimons, Patel et al. 1998). Des modifications de ces protéines peuvent également être à l'origine d'altérations fonctionnelles. Ainsi une mutation sur le site de la myosine qui interagit avec l'actine (la mutation R403Q de la  $\alpha$ -MHC chez la souris) prolonge considérablement la relaxation, même à un jeune âge, en l'absence d'hypertrophie ou d'altération systolique associée (Geisterfer-Lowrance, Christe et al. 1996). Malgré l'identification de nombreux mécanismes potentiellement capables d'altérer la relaxation ventriculaire, leur interaction et leur impact quantitatif sur cette phase du cycle cardiaque restent à étudier dans le contexte d'IC-FEp (Kass, Bronzwaer et al. 2004).

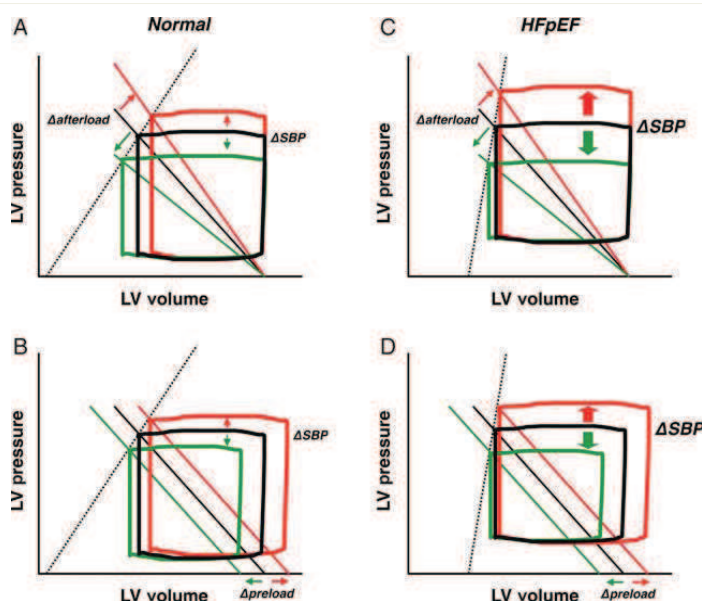
### 3- Altération par la charge

Les modifications des conditions de charge liées à l'augmentation du volume télédiastolique (précharge) et de la contrainte pariétale liée à la post-charge peuvent influencer la vitesse de relaxation du ventricule gauche (Zile and Gaasch 1990), mais ces effets pourraient être potentialisés par l'activation neuro-hormonale. Ainsi chez les patients transplantés cardiaques, les effets lusitropiques de la stimulation sympathique durant l'exercice sont moindres pendant l'augmentation de la charge (Paulus, Bronzwaer et al. 1992; Vantrimpont, Felice et al. 1995). De même, l'application d'une précharge au muscle papillaire suite à son étirement entrave l'accélération de la relaxation induite par une stimulation  $\beta$ -adrénergique (Coudray, Beregi et al. 1993). Comme nous l'avons vu précédemment, la postcharge ventriculaire gauche, surtout celle liée à la résistance artérielle et à la réflexion des ondes de pouls, influence également la relaxation.

## **C. Anomalie du couplage ventriculo-artériel**

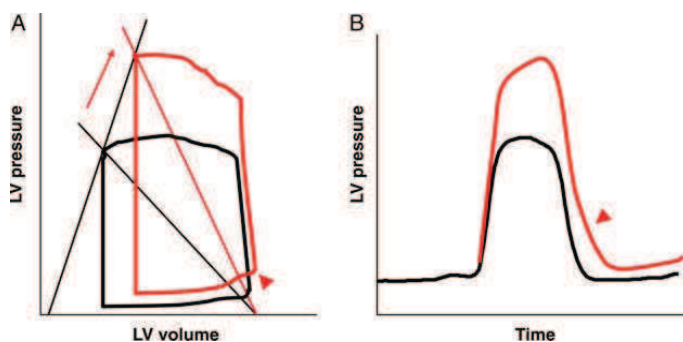
Les rigidités ventriculaire et artérielle augmentent avec le vieillissement, l'hypertension artérielle et le diabète et ceci s'observe également au cours de l'IC-FEp (Melenovsky, Borlaug et al. 2007). Cette réduction de la distensibilité aortique dans l'IC-FEp est par ailleurs étroitement associée à la limitation de la capacité d'exercice (Hundley, Kitzman et al. 2001). L'augmentation simultanée des élastances artérielle et ventriculaire pourrait expliquer l'instabilité de la pression artérielle (Gandhi, Powers et al. 2001; Kawaguchi, Hay et al. 2003). Ceci s'explique par l'instauration d'un système à "haut gain" (Fig. 12) qui amplifie chaque modification de la pression artérielle en réponse à des variations de précharge ou de postcharge.





**Figure 12. Droites d'élastance télé-systolique ( $E_{es}$ ).** Par rapport aux contrôles normaux (A et B), la pente est augmentée dans l'IC-FEp (C et D). Ceci induit des augmentations et des réductions non proportionnelles de la pression artérielle pour les mêmes variations de post-charge (A et C) ou de pré-charge (B et D). (d'après Borlaug et Paulus 2011)

Ainsi l'élévation aiguë de la postcharge dans un contexte de rigidification ventriculo-artérielle cause un accroissement exacerbé de la pression artérielle, qui à son tour, peut entraver la relaxation ventriculaire (Gillebert, Leite-Moreira et al. 2000; Borlaug, Melenovsky et al. 2007) et induire une augmentation importante des pressions de remplissage ventriculaire en cas de stress (Fig. 13). Ces mécanismes physiopathologiques ont été invoqués pour expliquer l'intolérance à l'exercice au cours de l'IC-FEp. Ainsi une diminution de la réponse inotrope positive associée à un accroissement exacerbé de la postcharge contribuent à l'apparition de la dyspnée d'effort (Chantler, Lakatta et al. 2008).



**Figure 13. Couplage des rigidités ventriculaire et artérielle.** La rigidification combinée du ventricule et du système artériel au cours de l'IC-FEp peut conduire à des élévations dramatiques de la pression artérielle avec une augmentation de la précharge (flèche rouge). Ceci peut se traduire par une altération de la position ou de la pente de la relation pression-volume diastolique (A) et/ou par un allongement de la relaxation isovolumique. (d'après Borlaug et Paulus 2011)

Au cours de l'IC-FEp, la vasodilatation systémique est atténuée au cours de l'exercice suite à une dysfonction endothéliale notamment avec une réduction majeure de la dilatation débit-dépendante (Borlaug, Olson et al. 2010). Ceci induit une réduction des débits sanguins périphériques notamment au niveau des muscles squelettiques. L'effet cumulé de ces mécanismes participe à l'apparition de la dyspnée au cours d'efforts modérés (Clark, Poole-Wilson et al. 1996).

Il est important de souligner que la dysfonction vasculaire n'est pas limitée à la circulation systémique puisque l'hypertension artérielle pulmonaire est souvent observée (Lam, Roger et al. 2009). En effet, l'IC-FEp serait la principale cause d'hypertension artérielle pulmonaire (en cas de fraction d'éjection préservée) chez les patients âgés (Shapiro, McGoon et al. 2007). Les pressions pulmonaires augmentent avec le vieillissement et sont corrélées à une augmentation de la rigidité du réseau artériel systémique (Lam, Borlaug et al. 2009). L'hypertension pulmonaire au cours de l'IC-FEp serait due à l'élévation des pressions de remplissage gauches du ventricule gauche et des résistances pulmonaires. Enfin, c'est un facteur prédictif de la mortalité au cours de l'IC-FEp et elle pourrait représenter une cible thérapeutique.

#### **D. Influence de la non-uniformité du myocarde**

La non-uniformité constitue l'une des caractéristiques essentielles du cœur en tant que pompe musculaire et ceci en conditions normales et pathologiques. Le comportement « non uniforme » de la charge et du phénomène d'activation-inactivation est un élément déterminant de la performance et de l'efficacité ventriculaire au cours des processus de contraction et de relaxation (Brutsaert 1987). Par ailleurs, une géométrie anormale ou une dysfonction régionale du ventricule peuvent exacerber cette non-uniformité et participer à la réduction de l'efficacité externe du ventricule et à une mauvaise coordination entre la contraction et la relaxation. Cette non-uniformité s'exprime à plusieurs niveaux. Au niveau de la cellule, on peut remarquer une distribution non uniforme des isomyosines (Samuel, Rappaport et al. 1983), des actinomyosines ATPases (Winegrad 1982) ou du calcium (Wier, Cannell et al. 1987). Les préparations multicellulaires (muscle papillaire isolé ou trabécule) démontrent une non-uniformité segmentaire (Pinto and Win 1977). À l'échelle du ventricule, des non-uniformités spatiales et temporelles ont été observées au cours de la contraction et de la relaxation (Sabbah, Marzilli et al. 1981; Feiring, Rumberger et al. 1988; Monnet, Lucats et al. 2007).

D'un point de vue anatomique, les fibres de la partie intermédiaire de la paroi ont un décours circonférentiel alors que celles des parties épicaudique et endocaudique s'étendent longitudinalement formant un angle d'environ 80% avec les fibres circonférentielles (Streeter, Spotnitz et al. 1969; Streeter and Hanna 1973). Cette conformation anatomique explique les mouvements systoliques dits de « twisting-untwisting » de la pompe musculaire cardiaque et leur rôle dans l'éjection et le remplissage rapide (Zerhouni, Parish et al. 1988; Dong, Hees et al. 2001; Ashikaga, Criscione et al. 2004).

Une autre caractéristique de l'anatomie ventriculaire participe également à cette non-uniformité du ventricule gauche. En effet, la partie trabéculée endocaudique diffère dans son

fonctionnement du reste de la paroi (Brutsaert, Franssen et al. 1998) qui possède un système de pompage cytosolique du  $\text{Ca}^{2+}$  plus efficient et une expression plus importante de l'isoforme N2B de la titine, caractéristiques qui favorisent leur participation à la succion pendant le remplissage ventriculaire précoce. Par ailleurs, le myocarde trabéculaire est impliqué dans la libération de monoxyde d'azote au cours et juste après la relaxation (Pinsky, Patton et al. 1997). Il possède également un plus grand nombre de récepteurs pour l'ANP et le BNP, dont les taux augmentent au cours de l'IC-FEp (Prestle, Dieterich et al. 1999) et en cas de dysfonction des fibres myocardiques longitudinales sous-endocardiques (Vinereanu, Lim et al. 2005).

## E. Dysfonction systolique

De manière étonnante, l'élastance télé-systolique, définie comme la pente de la relation pression-volume télé-systolique, est augmentée au cours de l'IC-FEp (Kawaguchi, Hay et al. 2003; Baicu, Zile et al. 2005), suggérant une activation de la contractilité. En réalité, ce paramètre est influencé par la géométrie de la chambre ventriculaire : le remodelage concentrique et la rigidité ventriculaire passive sont ainsi responsables de l'élévation de ce paramètre. C'est en 2002 que deux études ont décrit des altérations régionales de la fonction systolique à l'aide de l'imagerie tissulaire Doppler alors que la fraction d'éjection était normale (Yip, Wang et al. 2002; Yu, Lin et al. 2002). Par la suite, des altérations des fonctions systoliques longitudinale (Brucks, Little et al. 2005; Fukuta and Little 2007) et radiale (Wang, Khoury et al. 2008) ont également été rapportées au cours de l'IC-FEp. Ces anomalies sont associées à une mortalité accrue (Borlaug, Lam et al. 2009). Il est donc raisonnable de supposer que des anomalies systoliques même discrètes puissent devenir problématiques dans le contexte d'un exercice physique (Ennezat, Lefetz et al. 2008; Phan, Abozguia et al. 2009; Tan, Wenzelburger et al. 2009) et ainsi participer aux symptômes d'intolérance à l'effort. Par ailleurs, la réserve contractile systolique au cours de l'exercice est perturbée au cours de l'IC-FEp avec une élévation insuffisante de la fraction d'éjection et des vitesses de raccourcissement longitudinales (Borlaug, Melenovsky et al. 2006; Ennezat, Lefetz et al. 2008; Phan, Abozguia et al. 2009; Tan, Wenzelburger et al. 2009). L'exercice pourrait démasquer des déficits modérés non perçus dans des conditions de repos. Les mécanismes de ces dysfonctions systoliques pourraient résulter de l'apparition de phénomènes ischémiques, d'un déficit énergétique (Smith, Bottomley et al. 2006), d'anomalies de la signalisation  $\beta$ -adrénergique (Chattopadhyay, Alamgir et al. 2010) ou de l'homéostasie calcique (Liu, Ting et al. 1993). Par ailleurs, les réductions des résistances vasculaires moyennes et de l'élastance artérielle normalement observées au cours de l'exercice sont amoindries. Ceci s'explique par des dysfonctions de l'endothélium et du couplage ventriculo-artériel (Borlaug and Kass 2006), (Ennezat, Lefetz et al. 2008). Beaucoup de ces

anomalies sont retrouvées avec le vieillissement et sont simplement plus prononcées au cours de l'IC-FEp, ce qui est compatible avec la notion selon laquelle l'IC-FEp se développe progressivement comme une forme de vieillissement exagéré du à l'hypertension artérielle (Chantler, Lakatta et al. 2008).

## **F. Incompétence chronotrope**

Beaucoup de patients avec une IC-FEp ne manifestent pas de symptômes au repos mais plutôt au cours d'un exercice physique. Normalement, le débit cardiaque augmente notamment via l'élévation du retour veineux, de la contractilité et de la fréquence cardiaque (Higginbotham, Morris et al. 1986). Chacun de ces mécanismes normaux d'adaptation peut être altéré en cas d'IC-FEp. Ainsi la réserve chronotrope proprement dite est déprimée au cours de l'IC-FEp. Comme pour l'IC-FEr (Colucci, Ribeiro et al. 1989), ceci est probablement lié à un déficit de la signalisation  $\beta$ -adrénergique puisque l'augmentation des catécholamines plasmatiques au cours de l'exercice est similaire chez des patients avec IC-FEp et des volontaires sains (Borlaug, Melenovsky et al. 2006). Une dysfonction du système nerveux autonome pourrait contribuer à cette anomalie puisque la sensibilité du baroréflexe est réduite et la récupération de la fréquence cardiaque est retardée (Phan, Shivu et al. 2010).

## **G. Tachycardie**

Les passages d'un rythme cardiaque sinusal à la fibrillation atriale ou la tachycardie supra-ventriculaire sont à l'origine d'une réduction néfaste du temps de remplissage diastolique. La tachycardie va également raccourcir le temps disponible pour la relaxation et être associée à une élévation de la pression télédiastolique dans le ventricule hypertrophié (Gelpi, Pasipoularides et al. 1991). Cette tachycardie associée à l'accroissement de la post-charge représente la situation la plus fréquemment retrouvée en clinique à l'origine d'une prolongation de la relaxation. (Kawaguchi, Hay et al. 2003). La tachycardie semble être un élément déterminant puisque d'un point de vue expérimental il faut l'accroître de 80% au dessus de sa valeur à l'ouverture des valves aortiques pour provoquer une élévation supraphysiologique de la pression ventriculaire télé-diastolique (Leite-Moreira and Correia-Pinto 2001).

## **H. Une ou des insuffisances cardiaques ?**

L'hétérogénéité de l'insuffisance cardiaque se manifeste également par des multiples profils de remodelage ventriculaire ; ainsi, certains patients développent un remodelage plutôt concentrique, d'autres excentrique, la majeure partie un remodelage panaché. Le remodelage

ventriculaire est le résultat de multiples processus de signalisation qui interagissent entre eux et la part de chacun est en relation avec les traits biologiques et les comorbidités de l'individu. Certains de ces processus de signalisation sont associés à l'insuffisance coronaire, à l'inflammation myocardique ou au diabète type-1 et déterminent en particulier un remodelage excentrique. D'autres, comme le diabète type-2, l'hypertension, le sexe féminin et l'obésité tendent à promouvoir plutôt un remodelage concentrique.

La dichotomie systole-diastole selon le concept de pompe musculaire diffère de celle utilisée en clinique humaine où la diastole débute avec la fermeture de la valve aortique. Cette divergence explique en partie les controverses actuelles rencontrées dans le domaine de l'IC-FEp. En clinique, la fraction d'éjection est utilisée pour discerner, au sein de la symptomatologie de l'insuffisance cardiaque, deux entités distinctes à savoir l'IC-FEp et l'IC-FEr. Il existe clairement deux approches, l'une déclarant que ces deux formes d'insuffisance cardiaque sont en effet deux entités différentes (Borlaug and Redfield 2011) et l'autre, qui au contraire, prône pour une continuum physiopathologique (Brutsaert and De Keulenaer 2006). Dans le premier cas, c'est la vision clinique qui prime car basée sur un paramètre disponible au lit du patient, la fraction d'éjection, et sur les réponses aux traitements actuellement disponibles. Néanmoins, il est indéniable que plusieurs caractéristiques physiopathologiques soient présentes dans les deux 'formes' d'insuffisance cardiaque: les anomalies systoliques et diastoliques, la dysfonction endothéliale, l'inflammation, la dysfonction du système nerveux autonome, les déséquilibres neuro-hormonaux. En effet, d'un point de vue physiologique, le cœur est un organe intégré qui assemble plusieurs niveaux de complexité pour pouvoir fonctionner comme une pompe musculaire et non seulement comme pompe hydraulique. Sur la base de ces considérations, le deuxième concept de 'spectre' d'insuffisance cardiaque a été proposé (De Keulenaer and Brutsaert 2011).

On peut ainsi dériver un schéma de progression temps-dépendante qui permet d'appréhender la dégradation de la fonction contractile selon un continuum (Fig. 14). Par cet abord, le niveau de performance de la pompe musculaire cardiaque peut être d'une part subdivisé en trois stades consécutifs selon les propriétés mécaniques du ventricule; d'autre part, la sévérité de la symptomatologie peut être superposée aux anomalies physiopathologiques. Lors d'un stress, le cœur recrute plusieurs mécanismes de compensation et produit en quelque sorte une « activation systolique » qui retarde le début de la relaxation. Puis, au stade de la « dysfonction systolique », comme observé aux phases initiales de l'hypertrophie ou de l'ischémie, les mécanismes de compensation deviennent mal-adaptatifs: la relaxation régionale ou globale s'allonge et le ventricule perd progressivement la capacité d'en moduler le démarrage. A ce stade, la fraction

d'éjection reste supérieure à 50%. Enfin, au stade de dégradation manifeste de la fonction ventriculaire, l'altération de la fraction d'éjection est due au remodelage irréversible du ventricule (fibrose et nécrose myocardiques, dilatation irréversible). Ces différentes étapes sont également en phase avec la progression de la symptomatologie.

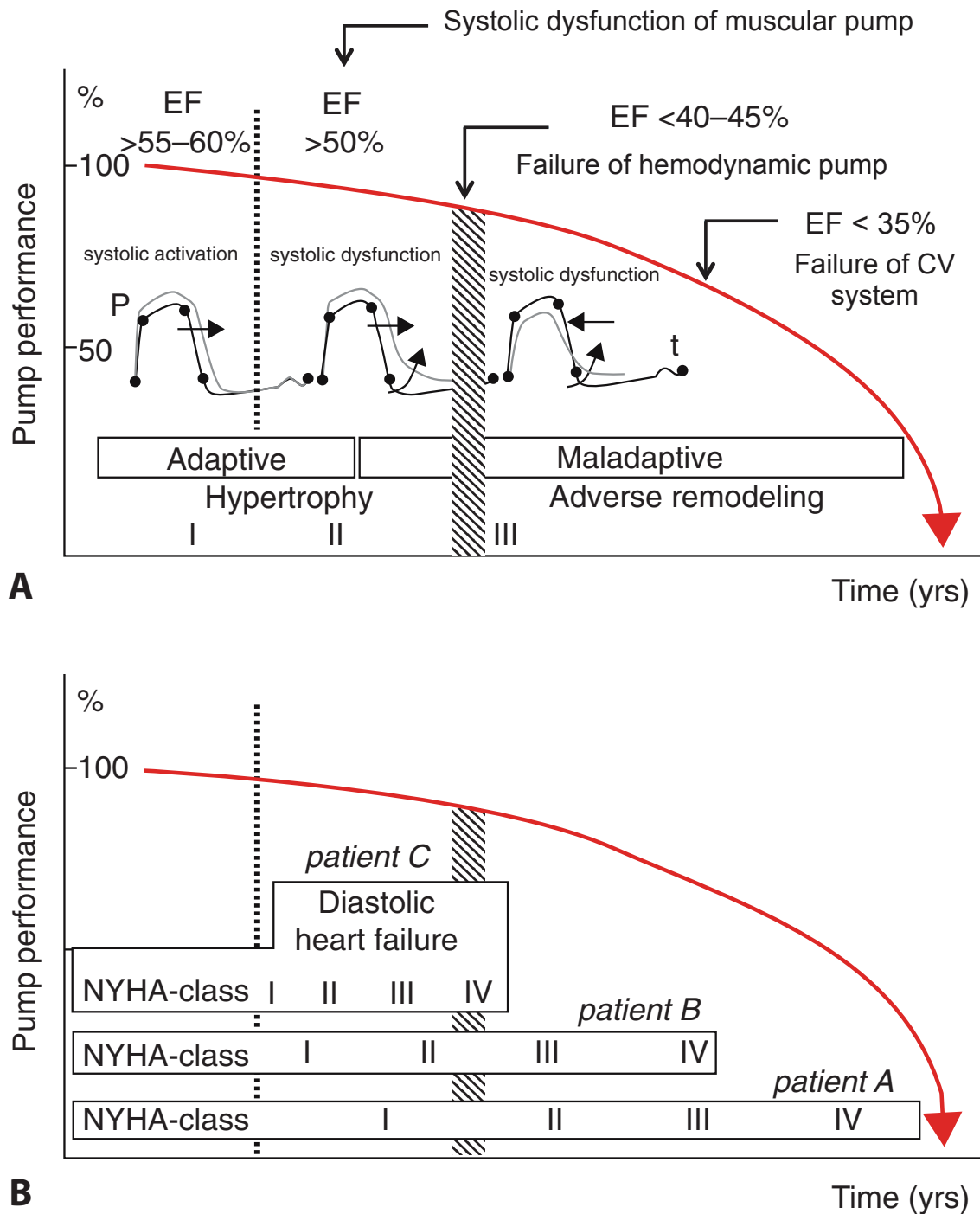


Figure 14. Paradigme temporel de la progression de l'insuffisance cardiaque chronique. Continuum physiopathologique (A) et clinique (B) de l'histoire naturelle de l'insuffisance cardiaque.

Ainsi des patients en classe III-IV de la New York Heart Association (c'est à dire dyspnéiques à des efforts modérés ou au repos) peuvent avoir un fraction d'éjection subnormale (45-50%) et donc bien supérieure à la limite de 20% assumée classiquement comme responsable de la symptomatologie la plus grave au cours de l'insuffisance cardiaque. Des patients présentant des fractions d'éjection supérieures à 45-50% peuvent manifester des anomalies systoliques comme les non-uniformités du couplage contraction-relaxation myocardique ou une altération de la relaxation, comme c'est le cas chez les patients avec IC-FEp.

## II. APPROCHES PHARMACOLOGIQUES ET THERAPEUTIQUES

Contrairement à l'IC-FEr qui a fait l'objet de très nombreuses études randomisées, le traitement de l'IC-FEp est quasi-exclusivement basé sur des recommandations de groupes d'experts, qui demeurent, tant pour les américains que pour les européens, spéculatives et généralement basées sur de faibles niveaux d'évidence (Hunt, Abraham et al. 2009; Jessup, Abraham et al. 2009) (Dickstein, Vardas et al. 2010). Toutefois, l'ESC, l'AHA ainsi que l'*American College of Cardiology* (ACC) s'accordent sur plusieurs points : le traitement de l'IC-FEp doit viser à ralentir la progression de la maladie, en réduire la symptomatologie et les épisodes d'exacerbation ainsi que la mortalité. Il en ressort plusieurs grands principes :

- contrôler la pression artérielle systolique et diastolique puisque l'hypertrophie ventriculaire secondaire à une hypertension artérielle conduit à une augmentation de la rigidité ventriculaire ;
- maintenir le rythme sinusal pour optimiser la contribution atriale au remplissage ventriculaire ;
- prévenir la tachycardie pour favoriser le remplissage ventriculaire et la perfusion coronaire ;
- réduire la pression veineuse ;
- prévenir l'ischémie myocardique pour ne pas altérer la relaxation ventriculaire.

De façon intuitive, en considérant l'IC-FEp comme le résultat d'un continuum débutant par l'accumulation de facteurs de risque vasculaires et se terminant par l'insuffisance cardiaque, on pourrait envisager plusieurs niveaux de prise en charge thérapeutique :

- le traitement préventif par la gestion des facteurs de risque cardio-vasculaires et le traitement étiologique ;
- le traitement spécifique (les grands essais thérapeutiques) ;
- l'identification et le traitement des facteurs déclenchants.

### A. Traitement préventif et étiologique

Plusieurs études épidémiologiques ont montré que la dysfonction diastolique du ventricule gauche est indépendamment associée à une augmentation de la morbi-mortalité cardiovasculaire. Dans le *Strong Heart Study* (Bella, Palmieri et al. 2002), un rapport E/A supérieur à 1,5 ou inférieur à 0,5 était associé à un risque 2 à 3 fois plus élevé de décès toutes causes confondues. Dans le *Cardiovascular Health Study* (Aurigemma, Gottdiener et al. 2001), le même paramètre s'associait à un risque deux fois plus important de congestion cardiaque chez les patients âgés. Dans la population du comté de l'Olmsted, une valeur basse du ratio E/A était associée à un risque élevé



d'évènements cardiovasculaires (Redfield, Jacobsen et al. 2003). Probablement en raison du manque de spécificité de la dysfonction diastolique et de l'absence de critères universellement reconnus pour sa définition, très peu de recommandations sur sa prise en charge ont été élaborées jusqu'à présent et en général la thérapeutique se résume au traitement de la cause sous-jacente.

Le traitement de tout facteur prédisposant à la survenue de l'IC-FEp doit constituer une priorité : l'hypertension artérielle, le syndrome métabolique (diabète, obésité et dyslipidémie), le tabagisme et la maladie coronaire. Des objectifs tensionnels, glycémiques, lipidiques et de masse corporelle ont été élaborés par les sociétés américaine et européenne de cardiologie (Lindenfeld, Albert et al. 2010). Aujourd'hui, on estime qu'au moins la moitié des patients hypertendus présentent également une dysfonction diastolique (Schillaci, Pasqualini et al. 2002; Zile and Brutsaert 2002; Owan, Hodge et al. 2006; Solomon, Verma et al. 2010). L'ESC, l'AHA et l'ACC n'ont formulé aucune recommandation pour le traitement de la dysfonction diastolique au cours de l'hypertension artérielle. Néanmoins, il existe un certain nombre d'évidences montrant une amélioration de la fonction diastolique au fur et à mesure que l'hypertrophie ventriculaire régresse. Ainsi dans une série de 228 patients, un traitement pendant 24 semaines par différentes stratégies pharmacologiques a montré une amélioration des paramètres de remplissage ventriculaire (Solomon, Verma et al. 2010). Chez les patients présentant un remodelage ventriculaire gauche ou une hypertrophie, un contrôle tensionnel rigoureux s'impose par l'utilisation de molécules actives sur la charge et ayant un effet antihypertrophique sur le myocarde. Dans une première méta-analyse (Dahlof and Hansson 1992), il apparaît que les modulateurs du système rénine-angiotensine-aldostérone ont un effet plus puissant sur la réduction de l'hypertrophie que les antagonistes calciques, les diurétiques et les  $\beta$ -bloquants. Ces données ont été confirmées quelques années plus tard par les conclusions de l'étude LIFE (Devereux, Dahlof et al. 2004) et REGAAL (Dahlof, Zanchetti et al. 2002) : à réduction de pression systolique identique, la réduction de l'hypertrophie sur des indices électrocardiographiques ou échographiques est plus importante avec le losartan qu'avec l'aténolol.

Comme nous allons le décrire ci-dessous, un certain nombre de stratégies pharmacologiques permettent d'améliorer la fonction diastolique mais il reste toutefois à explorer les effets de toutes ces molécules sur le pronostic, c'est-à-dire déterminer si les améliorations observées se traduisent par un réel gain de survie.

### 1. Inhibition du système rénine-angiotensine-aldostérone

L'inhibition du système rénine-angiotensine-aldostérone améliore la fonction diastolique en réduisant la vasoconstriction et la charge volumique. Par ailleurs, elle prévient l'hypertrophie et la fibrose cardiaques en neutralisant les effets de l'activation de ce système (Ma, Kam et al. 2010). Dans l'essai randomisé en double aveugle ELVERA, le traitement par lisinopril permettait la réduction de la masse ventriculaire et l'augmentation du rapport E/A (Terpstra, May et al. 2001). L'étude suédoise SILVHIA a montré l'efficacité de l'irbesartan après un traitement de 48 semaines (Muller-Brunotte, Kahan et al. 2006). L'étude LIFE a testé le losartan pendant un an avec une réduction de la masse cardiaque et une normalisation partielle des paramètres décrivant la fonction diastolique (Wachtell, Bella et al. 2002). Cependant, l'étude VALIDD attribue l'amélioration fonctionnelle à la simple réduction de la pression artérielle (Solomon, Janardhanan et al. 2007).

### 2. Les $\beta$ -bloquants

Les  $\beta$ -bloquants sont bénéfiques pour la fonction diastolique (Bonow and Udelson 1992; Zile and Brutsaert 2002). En ralentissant la fréquence cardiaque, ils allongent le temps de remplissage même si une action lusitrope négative pourrait être délétère. En réduisant la pression artérielle ils favorisent la fonction diastolique. Ces concepts ont été validés par l'essai SILVHIA (Muller-Brunotte, Kahan et al. 2006) dans lequel l'aténolol avait les mêmes effets que l'irbesartan.

### 3. Les inhibiteurs calciques

Les inhibiteurs calciques peuvent favoriser la fonction diastolique par différents mécanismes : en modulant l'homéostasie calcique, en réduisant la pression artérielle, en favorisant la régression de l'hypertrophie (Ventura, Loyalka et al. 1999). Peu d'études ont exploré les effets bénéfiques des inhibiteurs calciques sur la fonction diastolique. Dans l'essai clinique ELVERA (Terpstra, May et al. 2001), l'amlodipine avait la même efficacité que le lisinopril dans la réduction de la masse ventriculaire gauche. Dans un sous-groupe de l'étude ASCOT (Tapp, Sharp et al. 2010), l'amlodipine, après un an de suivi, s'est montré supérieure à l'aténolol dans l'amélioration de la fonction diastolique.

### 4. Diurétiques, antagonistes de l'aldostérone

Les avantages des diurétiques dans le traitement de la dysfonction diastolique chez les patients hypertendus n'ont pas été explorés. Les antagonistes de l'aldostérone ont montré leur efficacité dans la réduction de la rigidité ventriculaire et de la fibrose (Izawa, Murohara et al. 2005). Une petite étude incluant une trentaine de patients hypertendus a montré une amélioration des

indices de fonction diastolique après six mois de traitement par la spironolactone (Mottram, Haluska et al. 2004).

### 5. Contrôle métabolique

La dysfonction diastolique associée au syndrome métabolique ou au diabète n'est pas toujours détectée rapidement pour des différentes raisons (honte du surpoids, résignation aux limitations fonctionnelles dans la vie de tous les jours). En effet, les diabétologues n'évaluent pas en routine les niveaux d'activité physiques des malades. Ils ne pratiquent pas le test des 6 minutes de marche ou la mesure de la consommation myocardique en oxygène et demandent encore moins le dosage du BNP. L'*evidence based medicine* a clairement montré la réduction de la mortalité chez les diabétiques de type 2 par les hypoglycémifiants, mais la fonction diastolique ne faisait pas partie des mesures explorées. En considérant l'exposition prolongée au glucose comme le mécanisme de base de la cardiomyopathie diabétique, l'hypothèse qu'un contrôle strict de la glycémie puisse inverser la progression de la dysfonction diastolique a été testée. Ceci a été vérifié par deux études menées chez des patients présentant un diabète de type 2 (von Bibra, Hansen et al. 2004; von Bibra, Siegmund et al. 2007) et une autre chez des patients avec un diabète de type 1 (Grandi, Piantanida et al. 2006). Une étude plus récente chez des patients diabétiques présentant des altérations plus fines de la diastole n'a pas montré d'amélioration supplémentaire avec des mesures visant à baisser encore plus l'HbA<sub>1c</sub> (Jarnert, Landstedt-Hallin et al. 2009). Les mêmes effets sont obtenus en contrôlant plus strictement les taux de glycémie postprandiale (Scognamiglio, Negut et al. 2006; von Bibra, Siegmund et al. 2007).

Une alternative au contrôle pharmacologique de la glycémie est la modification du style de vie : l'exercice physique et la restriction calorique ont un effet positif sur les paramètres de fonction diastolique (Brassard, Legault et al. 2007; Hammer, Snel et al. 2008; Hordern, Coombes et al. 2009). Il faut souligner que le contrôle glycémique ne semble pas être l'unique facteur en cause : en effet, dans une étude d'imagerie par résonance magnétique, la pioglitazone et la metformine étaient capables d'améliorer le métabolisme des patients mais seule la pioglitazone avait une influence sur la fonction diastolique (van der Meer, Rijzewijk et al. 2009). Enfin, le traitement par une statine, traitement fréquent chez les patients présentant un syndrome métabolique, a aussi fait preuve d'une certaine efficacité dans la restauration de la fonction diastolique mais la complexité des propriétés pharmacologiques de ces substances rend difficile la recherche du mécanisme protecteur (Dounis, Siegmund et al. 2006; Okura, Asawa et al. 2007).

## **B. Traitement spécifique : les essais thérapeutiques**

Depuis quelques années, un certain nombre d'essais thérapeutiques ciblent spécifiquement l'IC-FEp. En raison de certains mécanismes physiopathologiques et symptômes communs à l'IC-FEp et l'IC-FEr, ces études ont testé dans l'IC-FEp des molécules ayant déjà fait leur preuve dans l'IC-Fer en interagissant avec le système rénine-angiotensine-aldostérone, le système nerveux sympathique ou l'homéostasie calcique. Quoiqu'il en soit, le registre européen de l'insuffisance cardiaque montre aujourd'hui que ces médicaments sont nettement moins prescrits que dans l'IC-FEr.

### *1- Inhibition du système rénine-angiotensine -aldostérone*

Le système rénine-angiotensine-aldostérone est impliqué dans un certain nombre de processus associés à l'insuffisance cardiaque comme l'hypertension artérielle, l'hypertrophie ventriculaire gauche, la fibrose myocardique et la dysfonction artérielle. Le blocage de ce système à ses différents niveaux a prouvé son efficacité chez les patients avec IC-FEr (CONSENSUS 1987; SOLVD Investigators 1991; Pitt, Zannad et al. 1999; Pitt, Williams et al. 2001; Granger, McMurray et al. 2003; Young, Dunlap et al. 2004) et les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (IEC) ont un effet bénéfique sur la régression de l'hypertrophie ventriculaire chez les patients hypertendus (Pitt, Williams et al. 2001), diabétiques ou ayant une coronaropathie. Cependant, un effet positif est difficile à démontrer au cours de l'IC-FEp.

Une petite étude menée chez 21 patients avec une IC-FEp et un antécédent d'infarctus du myocarde (Aronow and Kronzon 1993) avait initialement démontré l'efficacité de l'énalapril dans l'amélioration de la classe fonctionnelle et la tolérance à l'exercice tout en réduisant la masse ventriculaire gauche. D'autres petits essais cliniques testant le lisinopril sur 12 patients (Lang, McAlpine et al. 1995) et le quinapril sur 74 patients (Zi, Carmichael et al. 2003) n'ont pas apporté de confirmation. De même, une petite étude menée chez 20 patients hypertendus présentant une dyspnée d'effort a montré l'efficacité du losartan dans l'augmentation de la capacité d'exercice (Warner, Metzger et al. 1999) mais cette différence n'a pas été retrouvée avec le valsartan (Parthasarathy, Pieske et al. 2009).

A côté des ces petites études, de grands essais thérapeutiques ont été menés. L'étude PEP-CHF (Cleland, Tendera et al. 2006), multicentrique en double aveugle, en groupes parallèles, randomisée (périndopril versus placebo), a inclus 850 patients de plus de 70 ans et présentant une IC-FEp (définie par une FE>40%). Le critère primaire de jugement était composite et comprenait la mortalité toutes causes confondues et les hospitalisations pour insuffisance cardiaque avec un suivi

programmé d'au moins un an. Aucune différence significative entre les deux groupes n'a été détectée sur ce critère de jugement, même si l'on considère que la puissance de l'étude a été limitée par une fréquence d'événements inférieure à celle prévue. De même dans l'étude ALLHAT (Davis, Kostis et al. 2008), le lisinopril était inférieur à la chlortalidone dans la prévention de nouveaux épisodes d'IC-FEp.

L'étude CHARM avait pour objectif d'évaluer l'efficacité du candésartan sur un groupe de patients atteints d'insuffisance cardiaque chronique et recevant déjà un traitement conventionnel (Yusuf 2003). Parmi les trois groupes de patients traités par cet antagoniste des récepteurs AT<sub>1</sub> de l'angiotensine II, le bras de l'étude dénommé "CHARM-preserved" comprenait 3023 patients admis pour IC-FEp (fraction d'éjection moyenne de 54%), traités par le candésartan (dose cible : 32mg) ou le placebo. Au terme d'un suivi de 3,5 ans, une baisse de 11% des décès d'origine cardiovasculaire ou des hospitalisations pour insuffisance cardiaque a été constatée, mais elle n'a pas atteint le seuil de significativité statistique. Le nombre d'hospitalisations pour insuffisance cardiaque montrait une tendance non significative à la baisse, mais ceci était un critère secondaire de jugement. Ces résultats ont été confirmés par l'étude I-PRESERVE (Massie, Carson et al. 2008) conçue pour démontrer la supériorité de l'irbesartan (dose cible 300 mg/jour) sur le placebo en termes d'amélioration de la survie et de la réduction de la morbidité cardiovasculaire en présence d'une IC-FEp chez 4128 insuffisants cardiaques âgés de plus de 60 ans, symptomatiques, avec une fraction d'éjection supérieure à 45% et récemment hospitalisés pour des symptômes d'insuffisance cardiaque. Après 5 années de suivi, aucune différence significative n'a été détectée entre les deux groupes. Enfin, OPTIMIZE-HF (Fonarow, Stough et al. 2007) incluant 3806 patients avec une IC-FEp a confirmé l'absence d'effet bénéfique d'un antagoniste des récepteurs AT<sub>1</sub> de l'angiotensine II.

Les essais conduits jusqu'alors pour évaluer l'efficacité de la spironolactone ont donné des indications variables : il a été initialement observé une amélioration de la tolérance à l'effort et de la fonction diastolique dans un groupe de femmes avec IC-FEp (Daniel, Wells et al. 2009) tout comme dans un groupe de patients avec un syndrome métabolique et une IC-FEp chez qui les marqueurs de fibrose en résultaient réduits (Kosmala, Przewlocka-Kosmala et al. 2011). Au contraire, dans l'étude Aldo-DHF (Edelmann, Wachter et al. 2013) qui a inclus 422 patients en stade NYHA II-III, la spironolactone (25 mg/j) a permis une amélioration des paramètres de fonction diastolique sans effet sur les symptômes. Avant de retenir cette option thérapeutique, il faut attendre les résultats de l'importante étude TOPCAT (Shah, Heitner et al. 2013). Elle est promue, entre autres, par le *National Heart Blood and Lung Institute*. Les inclusions ont débuté en 2006 et l'étude s'est achevée

le 31 janvier 2012. Elle a inclus 3445 patients présentant une IC-FEp et traités par la spironolactone ou un placebo.

Par ailleurs, un inhibiteur direct de la rénine (l'aliskirène) (Gradman, Schmieder et al. 2005) et de la néprisiline (LCZ696) ont été explorés pour leur utilisation chez l'homme. L'essai ALLAY (Solomon, Appelbaum et al. 2009) a inclus 465 patients avec hypertension et a montré la non infériorité de l'aliskirène vs. le losartan dans la réduction de la masse du VG. L'aliskirène reste contre-indiqué en co-administration avec les IEC et les ARA-II chez les patients diabétiques en raison d'un risque augmenté d'hyperkaliémie, d'hypotension et d'aggravation de la fonction rénale, comme retrouvé par l'essai ALTITUDE (Parving, Brenner et al. 2009). Le LCZ696 cumule un effet de blocage du récepteur type 1 de l'ATII avec l'inhibition de la néprisiline permettant de réduire le catabolisme des peptides natriuretiques), montrant un effet antihypertenseur plus important que le valsartan (Ruilope, Dukat et al. 2010) ; l'essai clinique de phase II PARAMOUNT (Shah, Heitner et al. 2013) chez des patients avec IC-FEp a observé une réduction plus importante des niveaux de NT-proBNP comparé au valsartan.

## 2- $\beta$ -bloquants

Les  $\beta$ -bloquants ont fait la preuve de leur efficacité dans la réduction de la mortalité au cours de l'IC-FEr par des multiples mécanismes (Triposkiadis, Karayannis et al. 2009). Peu d'études se sont par contre intéressées aux patients avec une IC-FEp. Une première étude (Aronow, Ahn et al. 1997) incluant 158 patients de plus de 62 ans montrait un effet bénéfique du propranolol (dose cible 90 mg/jour) avec une réduction de la mortalité toutes causes confondues. Cependant, le pourcentage de décès liés aux causes cardiaques n'était pas significativement différent de celui du groupe ne recevant pas le  $\beta$ -bloquant. Un autre antagoniste, le carvedilol a amélioré les indices échocardiographiques évaluant la fonction diastolique (étude SWEDIC, (Bergstrom, Andersson et al. 2004)). Ces effets bénéfiques du carvedilol ont été retrouvés dans une autre étude menée au japon sur un faible effectif de 40 patients (Takeda, Fukutomi et al. 2004). De même le registre COHERE a examiné l'efficacité du carvedilol dans la prise en charge de l'insuffisance cardiaque (Massie, Nelson et al. 2007). Les patients présentant une fraction d'éjection supérieure à 40% avaient une amélioration de leur état fonctionnel et des taux d'hospitalisation réduits lorsqu'ils étaient traités par le carvedilol. Cependant, l'amélioration était inférieure à celle observée chez les patients avec IC-FEr. L'essai J-DHF (Yamamoto, Origasa et al. 2012) vient de montrer des résultats négatifs dans une population japonaise traitée par une dose faible (environ 7.5 mg/kg) de carvedilol mais laisse entre-apercevoir qu'à une plus forte dose (20 mg/kg) les effets pourraient être bénéfiques.

Un autre  $\beta$ -bloquant a également fait l'objet d'investigations, le nébivolol qui présente la particularité de favoriser la libération de NO (Conraads, Metra et al. 2012). L'étude SENIORS a été réalisée en Europe et a inclus 2135 patients âgés de plus de 70 ans, hospitalisés pour insuffisance cardiaque indépendamment de leur fraction d'éjection (Flather, Shibata et al. 2005). Les patients ont été randomisés pour recevoir en double aveugle le nébivolol (dose cible 10 mg/jour) ou un placebo. Au terme de trois ans de suivi, le critère primaire (mortalité toute cause confondue et admission pour événements cardio-vasculaires) a été réduit de 14% avec un bénéfice dès le sixième mois. Toutefois, le bénéfice du nébivolol n'a pas été retrouvé chez les patients qui avaient une fraction d'éjection systolique supérieure à 40%. Dans l'étude ELANDD récemment publiée (Conraads, Metra et al. 2012), le nébivolol n'a pas amélioré la capacité d'exercice ou les symptômes, comparé au placebo.

De manière plus générale, le registre OPTIMIZE-HF a enrôlé 4153 patients avec HFpEF jamais traités par  $\beta$ -bloquants lors de leur première hospitalisation pour dysfonction cardiaque (Hernandez, Hammill et al. 2009). A la sortie, 39% de ces patients recevaient un traitement  $\beta$ -bloquant : ce traitement n'a pas modifié de façon significative la mortalité, la ré-hospitalisation ou d'autres paramètres combinés de jugement. Un autre essai clinique de grande ampleur (1200 patients) est en cours (l'essai  $\beta$ -PRESERVE (Zhou, Shi et al. 2010)).

### 3- Les antagonistes calciques

Seules des études menées à une petite échelle ont testé les effets d'antagonistes calciques comme le vérapamil. Dans un essai incluant 20 patients pour une durée de 5 semaines (Setaro, Zaret et al. 1990), le vérapamil a augmenté la capacité à l'exercice de 33% et le remplissage diastolique de 30%. Dans un autre essai mené sur 15 patients âgés en classe II-III de la *New York Heart Association* et présentant une fraction d'éjection normale, (Hung, Cherng et al. 2002), après 3 mois de traitement, le vérapamil a significativement amélioré le score de l'insuffisance cardiaque, la durée d'exercice et les paramètres de la fonction diastolique. La nifédipine, un bloqueur des canaux calciques de type L est actuellement en cours d'essai (NCT01157481).

### 4- Les digitaliques

Les digitaliques pourraient théoriquement présenter un bénéfice en raison de la réduction de la fréquence cardiaque et d'une activation des fonctions des barocepteurs. L'essai clinique DIG (Ahmed, Rich et al. 2006) a randomisé 988 patients avec IC-FEp recevant de la digoxine ou un placebo. Aucun bénéfice n'a été constaté en termes d'hospitalisation ou de mortalité liées à l'insuffisance cardiaque elle-même.

### 5- Les diurétiques

Les diurétiques sont indispensables pour le contrôle des symptômes congestifs chez les patients avec IC-FEp tout comme pour l'IC-FEr. Par la réduction de la congestion centrale, le ventricule peut opérer dans une zone plus compliant de la courbe pression-volume. Les diurétiques sont moins utiles chez les patients sans évidence clinique de surcharge, et en raison de la précharge-dépendance plus importante au cours de l'HFpEF, leur utilisation pourrait être dangereuse (Borlaug and Kass 2008). Dans l'étude ALLHAT (Davis, Kostis et al. 2008), la chlortalidone, un diurétique thiazidique, réduisait l'incidence de l'IC-FEp. De même, une autre étude a conclu à un bénéfice dans l'amélioration des symptômes par les diurétiques au cours de l'IC-FEp (Yip, Wang et al. 2008).

### 6- Les dérivés nitrés

Via un mécanisme GMPc-dépendant et PKG-dépendant, les dérivés nitrés peuvent réduire la précharge, permettant ainsi au ventricule de travailler à des niveaux de charge plus bas (Borlaug and Kass 2006). Malgré la multitude d'effets potentiellement bénéfiques (Tsai and Kass 2009), les données cliniques sont rares : leur utilisation sur des courtes ou longues durées pourrait être utile dans le traitement de la dyspnée chez les patients avec IC-FEp, surtout ceux qui sont euvoémiques et chez lesquels les diurétiques ne sont pas indiqués. La combinaison de dinitrate d'isosorbide et de l'hydralazine pourrait avoir un effet favorable au cours de l'IC-FEp ; elle est testée dans un essai clinique actuellement en cours (NTC01516346).

Enfin, au cours de l'insuffisance cardiaque, le stress oxydant favorise le découplage de la NOS. De ce fait, il pourrait exacerber la dysfonction diastolique. La tetrahydrobioptérine (BH<sub>4</sub>), un cofacteur essentiel de la NOS endothéliale, est capable d'atténuer le remodelage et améliorer le couplage de la NOS dans un modèle animal de surcharge volumique (Moens, Takimoto et al. 2008). Il n'y a pas de données cliniques disponibles à ce jour.

## **C. Les nouvelles approches pharmacologiques**

### 1- Les inhibiteurs des 5-phosphodiesterases

Une autre voie alternative est représentée par l'utilisation d'inhibiteurs de la phosphodiesterase-5. Ils peuvent atténuer la stimulation adrénergique (Borlaug, Melenovsky et al. 2005), réduire la rigidité ventriculo-vasculaire (Vlachopoulos, Hirata et al. 2003), le remodelage ventriculaire (Takimoto, Champion et al. 2005), améliorer la fonction endothéliale (Katz, Balidemaj et al. 2000) et réduire les résistances du système vasculaire pulmonaire (Lewis, Lachmann et al.



2007). Un optimisme initial a accompagné l'utilisation du sildénafil dans des petits essais: chez des patients avec IC-FEp et une hypertension artérielle (Guazzi, Vicenzi et al. 2011) ou un diabète (Giannetta, Isidori et al. 2012), cette molécule améliorerait la fonction ventriculaire gauche. Les essais de plus grande taille ont refroidi les attentes : chez les patients avec un infarctus récent du myocarde (étude SIDAMI (Andersen, Ersboll et al. 2013)) ou une IC-FEp (essai RELAX (Redfield, Borlaug et al. 2012)), on ne retrouve pas, respectivement, de réduction des pressions de remplissage et de dynamique du ventricule droit, ou un effet positif sur la capacité à l'exercice ainsi que la fonction et la morphologie du ventricule gauche. Il a été argumenté que la population recrutée dans ces essais avait des comorbidités plus prononcées (comme diabète et insuffisance rénale chronique) ; ainsi, l'udénafil, inhibiteur à demi-vie plus longue, est actuellement testé sur des patients avec peu de comorbidités (NCT01599117).

### 2- Modulation sélective de la fréquence cardiaque

Il faut également souligner la possibilité d'une modulation sélective de la fréquence cardiaque dans le traitement de l'IC-FEp. En raison de l'insuffisance chronotrope, (Brubaker, Joo et al. 2006; Phan, Abozguia et al. 2009), l'essai RESET se propose d'examiner les effets de l'entraînement électrosystolique sur la capacité d'exercice chez les patients avec une IC-FEp (Kass, Kitzman et al. 2010). A l'inverse, certains préconisent une réduction de la fréquence cardiaque. Ainsi l'utilisation d'un inhibiteur des canaux *I<sub>f</sub>* comme l'ivabradine, permettrait de réduire la fréquence cardiaque. Des études précliniques et cliniques ont clairement mis en évidence ses effets anti-ischémiques et bénéfiques sur la fonction ventriculaire gauche (Monnet, Lucats et al. 2007) (Lucats, Ghaleh et al. 2007) mais son efficacité au cours de la dysfonction diastolique et l'IC-FEp n'est pas connue.

### 3- Modulation du « turn-over » de la matrice extracellulaire

La matrice extracellulaire a également été proposée comme cible pharmacologique. En effet, les modifications quantitatives et qualitatives de la matrice extracellulaire contribuent aux changements de compliance ventriculaire (Zile and Brutsaert 2002). Par ailleurs, la glycosylation est un phénomène qui s'intensifie avec l'âge et qui réduit la compliance tissulaire. Ainsi le chlorure d'alagébrium (ALT-711) est capable de rompre les ponts de glucose et d'améliorer la compliance artérielle et ventriculaire chez les animaux (Vaitkevicius, Lane et al. 2001), ainsi que de réduire la pression artérielle et la rigidité vasculaire (Kass, Shapiro et al. 2001). L'ALT-711 a été testé sur 23 patients avec une IC-FEp et a permis de réduire la masse ventriculaire et d'améliorer les paramètres de remplissage diastolique ainsi que la qualité de vie (Little, Zile et al. 2005). Toujours dans ce contexte du ciblage de la matrice extracellulaire, l'administration d'un anticorps anti TGF- $\beta$  dans

un modèle murin de surcharge volumique a permis de réduire la fibrose et de prévenir la dysfonction diastolique (Kawahara, Kai et al. 2002).

#### 4- Modulation du métabolisme énergétique

Puisque les réponses ventriculaires systolique et diastolique à l'effort sont altérées au cours de l'insuffisance cardiaque, il est raisonnable d'imaginer qu'elles pourraient résulter d'une utilisation ou de disponibilité anormales des substrats énergétiques (Smith, Bottomley et al. 2006; Phan, Abozguia et al. 2009). Un apport de L-carnitine dans un modèle animal (rat) d'IC-FEp aboutit à une diminution de la fibrose via une augmentation de la production de prostacycline par la voie de l'acide arachidonique (Omori, Ohtani et al. 2012). Par ailleurs, il a été rapporté une réduction marquée de l'oxydation cardiaque du glucose et du lactate, sans modification de la glycolyse ou de l'oxydation des acides gras. Cette dépression serait liée à une augmentation d'expression de la pyruvate-déshydrogénase-kinase-4. Dans ce contexte, les antidiabétiques oraux de la famille des thiazolidinédiones (rosiglitazone et pioglitazone) sont des puissants agonistes du *peroxisome proliferator-activated receptor-gamma*, récepteur nucléaire de la transcription des gènes répondant à l'insuline. Dans l'essai PIRAMID, des diabétiques sans atteinte cardiaque recevant la pioglitazone à la place de la metformine montraient une meilleure utilisation du glucose au niveau myocardique (van der Meer, Rijzewijk et al. 2009). Il existe, par contre, une contre-indication à l'utilisation de ces molécules chez les patients en classe NYHA classe III et IV. La stimulation des récepteurs pour la GLP-1 (protéine semblable au glucagon) active l'utilisation du glucose au niveau myocardique. Les analogues du GLP-1 (exénatide) ou les inhibiteurs de sa dégradation (sitagliptine) sont en cours d'évaluation clinique sous l'égide du NIH.

#### 5- Modulation du calcium intracellulaire

Théoriquement, empêcher les fuites calciques du réticulum sarcoplasmatique et l'entrée de calcium via l'échangeur sodique dans le cytoplasme pendant la diastole devrait améliorer la relaxation du myocarde. Le K201, un stabilisateur du RyR2, a montré un effet inotrope et lusitrope positif sur les cœurs isolés de lapin, même dans des conditions de surcharge calcique (Kelly, Elliott et al. 2012). Dans un modèle murin hypertendu avec IC-FEp, le SEA0400, un inhibiteur du NCX atténue la fibrose myocardique induite par l'ouabaïne (Kamimura, Ohtani et al. 2012).

#### 6- Modulation du courant sodique lent

La ranolazine, inhibitrice du courant entrant sodique lent, a été proposée comme traitement potentiel de l'IC-FEp : elle pourrait contribuer ainsi à réduire la concentration intracellulaire de  $Ca^{2+}$  et probablement améliorer la relaxation et/ou la rigidité diastolique (Sossalla, Wagner et al.

2008). Récemment, un essai clinique a débuté pour explorer chez l'homme cette option thérapeutique (Jacobshagen, Belardinelli et al. 2011) : il semblerait, d'après les résultats préliminaires, que malgré une réduction des pressions artérielle pulmonaire et télé-diastolique du ventricule gauche, la cinétique de la relaxation reste inchangée.

### 7- modulation du syndrome inflammatoire

L'IL-33 est une cytokine membre de la famille IL-1: ces sont des molécules pro-inflammatoires impliquées dans le remodelage ventriculaire (Bujak and Frangogiannis 2009). L'anakinra, un antagoniste du récepteur pour l'IL-1, utilisé dans l'arthrite rhumatoïde, est en cours d'évaluation (NCT01542502).

### 8- Inhibition des rho-kinases

Les inhibiteurs des rho-kinases comme le fusidil et le Y-27632 ont montré leur efficacité dans le ralentissement de l'hypertrophie des cardiomyocytes et du remodelage cardiaque dans certains modèles animaux d'insuffisance cardiaque (Lai and Frishman 2005).

### 9- Les statines

N'ayant pas démontré d'effets bénéfiques au cours de l'IC-FEr, les statines n'ont pas été testées au cours de l'IC-FEp.

## **D. Commentaires**

Les études cliniques réalisées jusqu'à présent n'ont pas réussi à faire émerger d'option thérapeutique indiscutable pour la réduction des taux d'hospitalisation ou de la mortalité de l'IC-FEp. Ceci peut être lié à différentes raisons. La qualité méthodologique des différents essais est variable et la question du niveau de fraction d'éjection des patients inclus dans les essais se pose. Une revue analysant 21 essais cliniques sur l'IC-FEp a souligné le manque de critères diagnostiques communs (Paulus and van Ballegoij 2010), déterminant ainsi un excès d'inclusion de patients avec un remodelage excentrique du ventricule gauche et la présence d'une pathologie coronaire associée. Il est donc probable qu'une partie des patients n'était pas en véritable situation d'insuffisance cardiaque au moment de l'inclusion dans les essais et la présence de pathologies associées pourrait constituer un facteur confondant (Yusuf, Pfeffer et al. 2003). Par ailleurs, il existe de grandes variabilités démographiques dans les traitements ou les durées d'hospitalisation lorsqu'on étudie les différences géographiques des patients atteints d'IC-FEp (West, Liang et al. 2011). Ceci s'observe notamment lorsqu'on compare les données des registres ADHERE-US et ADHERE-International. Ainsi, les habitudes thérapeutiques, les traitements associés ainsi que les difficultés de diagnostic

expliquent probablement une partie des résultats divergents ou peu concluants des essais thérapeutiques réalisés jusqu'à présent.

# **PARTIE EXPERIMENTALE**

## **CHAPITRE V : OBJECTIFS DU TRAVAIL**

Comme nous l'avons évoqué au cours de la partie bibliographique de ce manuscrit, plusieurs difficultés conceptuelles ont jusqu'à présent compliqué la compréhension de la physiopathologie de l'IC-FEp : la définition et la répartition des différentes phases du cycle cardiaque, la vision mécanique du cœur comme une pompe hémodynamique ou musculaire, la disponibilité à grande échelle de méthodes d'évaluation des paramètres décrivant la fonction de pompe musculaire du cœur, l'absence d'études dans la population générale éclaircissant les rapports et les poids relatifs en termes de prévalence et incidence de la dysfonction diastolique et de l'IC-FEp.

Dans ce contexte, **notre premier objectif** a été de **mettre au point un modèle de dysfonction diastolique reproduisant les caractéristiques de la pathologie humaine** : pour ce faire, le porc a été retenu comme espèce d'expérimentation et la perfusion continue d'angiotensine II a été utilisée pour induire une hypertension artérielle produisant des altérations cardiaques.

A l'aide de ce dispositif expérimental, **notre deuxième objectif** a été d'appliquer le concept de pompe musculaire afin d'**interpréter les modifications fonctionnelles du ventricule gauche au cours de l'hypertension artérielle chronique**.

Au cours du développement et de l'exploration du modèle animal, nous nous sommes aperçus d'une inadéquation entre les variations de fréquence cardiaque et les modifications des différentes phases du cycle. C'est pourquoi, il nous a paru intéressant d'évaluer les effets de la modulation pharmacologique de la fréquence cardiaque sur le couplage contraction-relaxation. Ainsi **notre troisième objectif** a été d'**évaluer les effets de la réduction pharmacologique de la fréquence cardiaque par l'ivabradine, un inhibiteur des canaux  $I_f$ , sur les équilibres entre les différentes phases du cycle**.

## **CHAPITRE VI : MATERIEL ET METHODES**



## I. DISPOSITIF EXPERIMENTAL : PORCS EVEILLES CHRONIQUEMENT INSTRUMENTES

### A. Cadre réglementaire

Les expériences ont été menées au sein des locaux de l'équipe 03 de l'INSERM U 955 localisés au sein de l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort. Les expériences ont été réalisées en accord avec la législation française relative à l'expérimentation animale (autorisations d'établissement et individuelles, avis du comité d'éthique).

### B. Animaux

Ces travaux ont été menés sur des porcs fermiers femelles pesant entre 20 à 30 kg provenant d'un élevage déclaré dans la production de porcs à visée expérimentale.

### C. Instrumentation des animaux

La particularité de ce dispositif expérimental réside dans la réalisation des mesures à l'état éveillé en l'absence de tout agent anesthésique susceptible de modifier les conditions expérimentales lors des expériences. Pour ce faire, les animaux ont été chroniquement instrumentés : dans un premier temps, l'ensemble des dispositifs nécessaires aux mesures hémodynamiques a été mis en place au cours d'une chirurgie initiale ; après une période de récupération post-chirurgicale de deux à trois semaines, les animaux ont été inclus dans les protocoles expérimentaux.

Les animaux ont subi une intervention chirurgicale dans le respect des règles strictes d'asepsie. Après une prémédication sédatrice avec l'azapérone (8 mg/kg, IM), les porcs ont été anesthésiés avec du propofol (2 mg/kg, IV), puis intubés et ventilés avec un volume courant de 8 ml/kg et à fréquence respiratoire adaptée pour atteindre une concentration de CO<sub>2</sub> en fin d'expiration comprise entre 30 et 34 mmHg (respirateur Alphavet, Minerve, Esternay, France). Après curarisation (bromure de pancuronium : 4 mg, IV), les animaux ont subi une thoracotomie au niveau du cinquième espace intercostal. La réclinaison des lobes pulmonaires gauches a assuré la visualisation de l'aorte thoracique descendante sur laquelle a été introduit un cathéter rigide en Tygon (diamètre interne de 1 mm, Bioblock, Illkirch, France). Le péricarde a ensuite été incisé. Un cathéter souple en Silastic (diamètre interne 1 mm, Sedat, Irigny, France) a été inséré dans l'artère pulmonaire et un second cathéter rigide dans l'oreillette gauche. Un capteur de pression miniaturisé Königsberg P3A (Königsberg Instrument Inc., Pasadena, CA, USA) a été introduit dans la cavité du ventricule gauche et fixé à l'apex (Fig. 15).

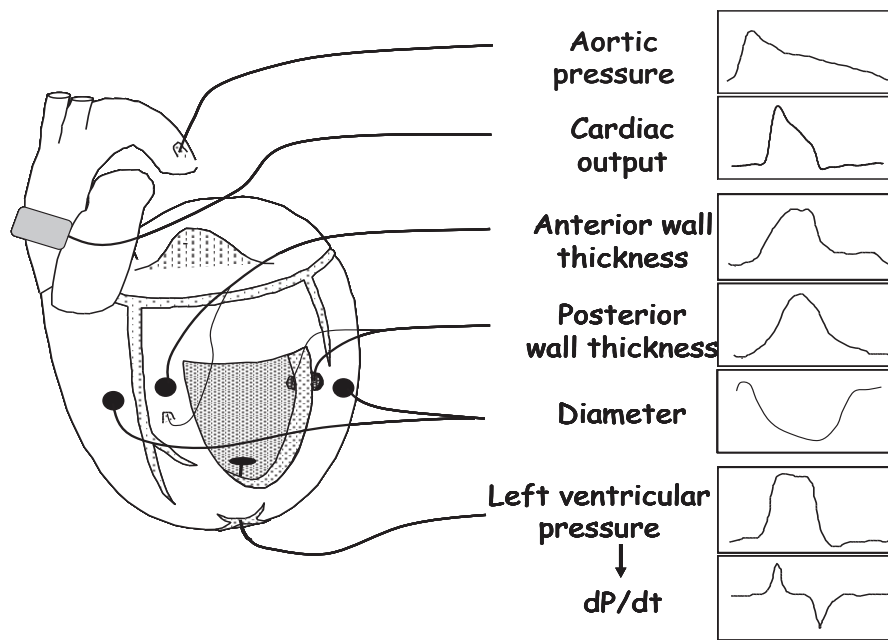


Figure 15. Instrumentation des animaux.

Une paire de cristaux piézo-électriques servant à la mesure de la contractilité transmurale de la paroi ventriculaire gauche antérieure a été positionnée de part et d'autre de la paroi, l'un au niveau de l'endocarde et l'autre au niveau de l'épicarde. Une autre paire de cristaux a été implanté pour la mesure du diamètre interne ventriculaire (petit axe, mi-hauteur entre la base et l'apex). Les cristaux ont été placés l'un en regard de l'autre et leur bon alignement a été vérifié par la visualisation per-opératoire du signal ultrasonique à l'aide d'un oscilloscope (Hameg Instruments, Francfort, Allemagne). Sur la partie sus-valvulaire de l'aorte ascendante, une bague de mesure de débit (Transonic Systems Inc., Ithaca, NY, USA) a été mise en place pour la mesure du débit cardiaque.

Après l'implantation de l'ensemble de ce matériel, chaque plan chirurgical a été suturé et l'ensemble des cathéters et câbles électriques a été tunnellisé dans le plan sous-cutané jusqu'au dos de l'animal et extériorisé dans la région interscapulaire. L'hémo-pneumothorax a été aspiré à la fin de l'intervention chirurgicale. Les animaux ont reçu un traitement antalgique (fentanyl dispositif transdermique [20 µg/kg, 1 fois tous les deux jours pendant 4 jours] et une double antibioprofylaxie [enrofloxacin, 2 mg/kg/j et amoxicilline à libération prolongée, 15 mg/kg tous les deux jours]. Deux à trois semaines après la chirurgie initiale et après avoir vérifié l'apyrexie des animaux et la qualité des signaux enregistrés, ceux-ci ont été inclus dans le protocole et étudiés à l'état éveillé. Les porcs ont été positionnés dans un hamac lors de tous les enregistrements.

## D. Paramètre mesurés

### 1. Mesure des pressions aortique, atriale et ventriculaire

Les pressions aortique et atriale ont été mesurées à l'aide d'un capteur de pression Gould Statham P23ID (Statham Instruments, Oxnard, CA, USA) connecté à un amplificateur (Système 6, module 204, San Diego, CA, USA). La pression ventriculaire gauche a été mesurée à partir du manomètre implantable (Königsberg P3A). La calibration du manomètre implantable a été faite *in vivo* à l'aide des pressions auriculaire et aortique.

### 2. Mesure du débit cardiaque

Le débit cardiaque a été mesuré à l'aide de la bague de débit implantée autour de l'aorte reliée à un module de mesure Transonic T206 (Transonic System Inc., Ithaca, NY, USA).

### 3. Mesure de l'épaisseur pariétale et du diamètre ventriculaire

La mesure instantanée et continue des épaisseurs régionales myocardiques a été réalisée par sonomicrométrie, technique décrite pour la première fois par Rushmer (Rushmer 1954). Elle est basée sur la mesure du temps de transit du signal ultrasonique entre deux quartzs piézo-électriques, comme l'illustre la Figure 16. Les ultrasons produits par l'excitation d'un des cristaux piézo-électriques sont détectés à leur arrivée sur l'autre cristal. Le sonomicromètre (Système 6, module 201, San Diego, CA, USA) mesure le temps de parcours de l'onde entre les deux cristaux. En le multipliant par la vitesse de propagation des ultrasons (1580 m/s dans les milieux biologiques), le sonomicromètre calcule la distance entre les cristaux. Au cours des expériences, le signal ultrasonique a été contrôlé de façon permanente à l'aide d'un oscilloscope, permettant de vérifier la qualité du signal.

L'épaisseur de la paroi en fin de diastole a été mesurée à la fin de la contraction auriculaire correspondant au pied de l'onde positive de la  $dP/dt$  (dérivée première de la pression ventriculaire gauche par rapport au temps). L'épaisseur de la paroi de fin de systole a été mesurée au pic négatif de la  $dP/dt$ . L'épaississement systolique du myocarde, paramètre représentatif de la contractilité transmurale régionale, a été calculé comme étant la différence entre les épaisseurs télésystoliques et télédiastoliques.

Le diamètre de la cavité ventriculaire gauche de fin de diastole a été mesuré à la fin de la contraction auriculaire correspondant au pied de l'onde positive de la  $dP/dt$  (dérivée première de la pression ventriculaire gauche par rapport au temps). Le diamètre de la cavité ventriculaire gauche de fin de systole a été mesuré au pic négatif de la  $dP/dt$ . La fraction de raccourcissement a été

calculée comme étant la différence entre les diamètres télédiastoliques et télésystoliques rapportée à sa valeur télédiastolique et exprimée en pourcentage.

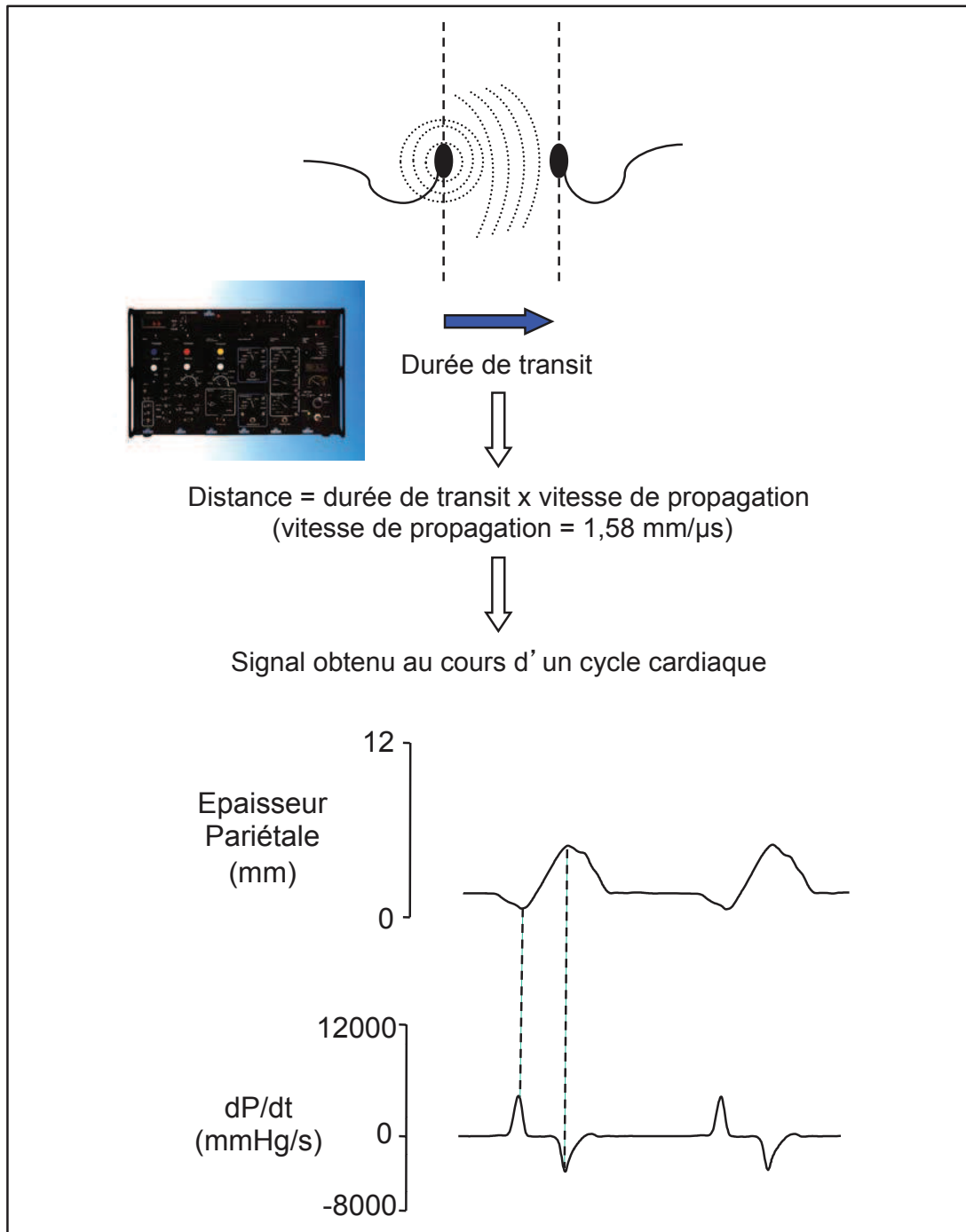


Figure 16. Schéma illustrant le principe de la mesure de la contractilité régionale par la technique de la sonomicrométrie.

#### 4. Mesure des conditions de charge

En télédiastole, le volume ventriculaire est maximal et correspond à la précharge du ventricule. D'après la loi de Starling, c'est de cette charge que dépendent la force de contraction musculaire et le degré de raccourcissement de la fibre. Cette charge est responsable du développement d'une tension pariétale qui peut être approchée en utilisant la relation de Laplace :  $\sigma = PR/2h$  (P : pression, R : rayon, h : épaisseur). A partir de cette relation, en supposant la paroi homogène, de nombreuses formules ont été proposées pour le calcul des contraintes dans de nombreuses directions : méridionale, radiaire et circonférentielle (Grossman 1986). Nous avons utilisés la formule de calcul du stress radial en modélisant le cœur selon une approche cylindrique (Sato, Uechi et al. 1997) :

$$\sigma_{\text{cyl}} = 1,38 \times [\text{diamètre interne}] \times [\text{pression ventriculaire}] / (2 \times [\text{épaisseur pariétale}])$$

Ainsi lorsque les mesures sont effectuées en télédiastole, on dispose d'une évaluation de la précharge. En systole, la charge que le ventricule gauche doit vaincre pour éjecter son contenu est variable au cours de l'éjection. On peut donc calculer un stress pariétal maximal systolique (il faut pour cela tracer la courbe de stress pariétal de manière continue sur un cycle et déterminer sa valeur maximale) et un stress télésystolique. La post-charge a été définie comme la valeur moyenne du stress pendant l'éjection :  $E_{\text{moy}} = \int_a^b E(t) \cdot dt$  avec a et b correspondant respectivement aux moments d'ouverture et de fermeture de la valve aortique.

#### 5. Mesure des intervalles de temps du cycle cardiaque

La télédiastole a été définie comme étant le début de la montée de la pression ventriculaire gauche juste après la contraction atriale et correspondant à l'augmentation initiale du signal de  $dP/dt$ . L'ouverture et la fermeture de la valve aortique ont été identifiées par l'intersection des tracés des pressions aortique et ventriculaire. Ces déterminations ont été confirmées par leur superposition avec le signal de débit aortique. Le temps de contraction isovolumique a été défini comme l'intervalle entre la fin de la diastole et l'ouverture de la valve aortique. Le temps d'éjection a été défini comme l'intervalle entre l'ouverture et la fermeture de la valve aortique. L'ouverture de la valve mitrale a été identifiée par l'intersection des tracés des pressions atriale et ventriculaire gauches. Le temps de relaxation isovolumique a été défini comme la période écoulée entre la fermeture de la valve aortique et l'ouverture de la valve mitrale. Le temps de remplissage a été calculé dès la fin de la relaxation isovolumique à la fin de la diastole.

### 6. Evaluation de la relaxation isovolumique

La valeur minimale de la dérivée première par rapport au temps de la pression ventriculaire gauche,  $dP/dt_{min}$ , est parfois utilisée pour décrire la phase toute initiale de la relaxation. Cet indice caractérise mal la relaxation car il dépend de la fréquence cardiaque, du pic positif de  $dP/dt$ , de la pression systolique du ventricule gauche et du volume téléstolique (Weisfeldt, Scully et al. 1974).

Même si un certain nombre de limites peuvent être objectées, la mesure d'une constante de temps caractérisant la relaxation isovolumique permet de mieux apprécier cette période du cycle cardiaque.

La période de relaxation isovolumique caractérise la phase de décroissance de la pression ventriculaire pendant laquelle le volume de la cavité ne varie pas. Elle est définie par l'intervalle de temps compris entre le pic négatif de  $dP/dt$  (correspondant à la fermeture de la valve aortique) et la valeur de la pression ventriculaire gauche correspondant à la pression télédiastolique du battement suivant à laquelle 5 mmHg sont ajoutés. La courbe de décroissance de la pression ventriculaire gauche peut être modélisée à l'aide de modèles mono-exponentiels qui peuvent être asymptotiques ou non asymptotiques. Le modèle de Weiss suppose que l'asymptote est égale à 0 et que la pression évolue selon l'équation suivante :  $P = P_0 \cdot e^{-t/\tau}$  avec  $P_0$  étant la valeur de pression au pic négatif de  $dP/dt$  ( $t=0$ ),  $t$  étant le temps et  $\tau$  la constante de temps de la relaxation isovolumique (Weiss, Frederiksen et al. 1976). Les autres modes de calculs de la constante de temps de relaxation utilisent des modèles à asymptote non nulle :  $P = (P_0 - P_B) \cdot e^{-t/\tau} + P_B$ , où  $P_B$  est la valeur de l'asymptote (Raff and Glantz 1981). Nous avons choisis la méthode décrite par Matsubara (Matsubara, Takaki et al. 1995) et validée par Sensaki (Senzaki and Kass 2010) consistant à utiliser une régression logistique :  $P = P_A / (1 + e^{-t/\tau}) + P_B$  où  $P_A$  est une constante d'amplitude. Afin d'améliorer le calcul, il est possible d'effectuer une régression non linéaire selon l'algorithme de Levenberg-Marquardt.

### 7. Recueil des données

L'ensemble des signaux mesurés a été simultanément enregistré en continu (fréquence d'acquisition : 1000 Hz) et numérisé à l'aide d'un logiciel d'acquisition, les différents paramètres étudiés étant calculés et analysés sur tableur. Tout ceci a été réalisé à l'aide du logiciel d'acquisition et d'analyse HEM v4.5 (Notocord System, Croissy sur Seine, France).

## **E. Analyses histologiques**

Après sacrifice des animaux, le cœur a été prélevé et des coupes du ventricule gauche ont été fixées dans du formol 4% et incluses dans la paraffine. Des sections d'une épaisseur de 5  $\mu$ m ont

été colorées par le rouge Sirius afin de visualiser les fibres de collagène. La fibrose interstitielle a été quantifiée et exprimée en pourcentage des champs observés (10 champs analysés à un agrandissement X 10).

## **F. Substances utilisées**

Les substances utilisées dans ce travail ont été l'angiotensine II (Angiotensin II, Human, Calbiochem®, La Jolla, Etats-Unis), l'azapérone (Stresnil®, Janssen Santé Animale, Issy-les-Moulineux, France), le propofol (Rapinovet®, Schering-Plough Vétérinaire, Levallois-Perret, France), l'isoflurane (Isoflurane Belamont®, Nicholas Belamont, London, Royaume-Unis), la buprénorphine (Temgesic®, Schering-Plough, Levallois-Perret, France), l'amoxicilline (Clamoxyl®, Pfizer Santé Animale, Borgo San Michelle, Italie), le diazepam (Valium®, Roche, Neuilly-Sur-Seine, France), le pentobarbital sodique (Pentobarbital Sodique®, Ceva Santé Animale, Libourne, France), la dobutamine (Panpharma, Fougères, France), et l'héparine (Héparine Choay®, Sanofi Aventis, Paris, France).

## **G. Analyses statistiques**

Les résultats ont été exprimés sous forme de moyenne  $\pm$  SEM des valeurs individuelles obtenues chez chaque animal. La comparaison des différents paramètres mesurés de J1 à J28 a été effectuée à l'aide d'une analyse de variance à deux facteurs avec mesures répétées à la recherche d'un effet « temps », d'un effet « substance étudiée » ou d'interaction entre ces deux facteurs. Le seuil de significativité a été fixé à  $p < 0,05$ . Si besoin, des comparaisons individuelles ont été évaluées à l'aide d'un test  $t$  de Student avec une correction de Bonferroni. Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel StatView 5.0 (Abacus, Berkley, CA, Etats-Unis).

## **H. Justification du dispositif expérimental**

L'exploration de la dysfonction diastolique et de l'IC-FEp nécessite le développement de modèles expérimentaux permettant l'acquisition de données extrapolables à la clinique humaine. Une des raisons principales des difficultés dans la compréhension des mécanismes physiopathologiques de l'IC-FEp et l'évaluation de stratégies pharmacologiques est le manque de modèles animaux pertinents. L'évaluation de la relaxation isovolumique et du remplissage est un pré-requis incontournable pour la pertinence de tout modèle expérimental proposé. Si la souris, modèle animal le plus répandu actuellement, permet d'appréhender des mécanismes cellulaires et moléculaires de cette pathologie, les données hémodynamiques qui la caractérisent restent entachées de limites importantes qui rendent difficiles leur extrapolation à l'Homme. En premier

lieu, la fréquence cardiaque très élevée de cette espèce est sans aucune comparaison avec celle mesurée chez l'Homme (600 batt/min vs 70 batt/min à l'état éveillé). On observe par ailleurs une homéostasie calcique ainsi que des distributions dans les isoformes de protéines du sarcomère et de la membrane différentes de celles rencontrées chez l'Homme. La caractérisation hémodynamique chez la souris n'est pas aisée même si les approches échocardiographiques se sont considérablement affinées ces dernières années. De plus, on peut objecter que cette approche reste éminemment opérateur-dépendante et d'une reproductibilité perfectible. Dans ce contexte, seuls les modèles animaux réalisés chez le gros animal permettent d'appréhender de manière approfondie la fonction ventriculaire gauche. Par ailleurs, le modèle animal que nous avons utilisé est un dispositif dit "éveillé chroniquement instrumenté". Dans ces conditions les animaux sont étudiés à distance d'une chirurgie au cours de laquelle les dispositifs destinés à l'évaluation de la fonction systolique et diastolique sont implantés définitivement *in situ*. Les animaux sont étudiés à distance en l'absence de toute sédation ou anesthésie dont on sait qu'elles modifient la fonction ventriculaire (Vatner and Braunwald 1975). C'est là encore un avantage indéniable sur les modèles murins qui nécessitent une sédation ou une anesthésie avant l'évaluation échocardiographique.

## II. MODELE EXPERIMENTAL D'HYPERTENSION ARTERIELLE CHRONIQUE

### A. Préambule

Afin de s'approcher d'une situation clinique à l'origine d'une dysfonction diastolique et de l'IC-FEp, nous avons choisi d'induire une hypertension artérielle chronique à l'aide d'une perfusion d'angiotensine II. En effet, l'hypertension artérielle est l'un des facteurs étiologiques le plus fréquemment rencontré chez les patients développant une IC-FEP. Dans ce cadre, l'activation du système rénine angiotensine est un élément central dans l'élévation des valeurs de pression artérielle et dans le remodelage ventriculaire. Certains auteurs ont ainsi précédemment proposé d'administrer de manière chronique de l'angiotensine II ou d'utiliser le modèle de constriction rénal (Munagala, Hart et al. 2005). Cependant le développement de ces hypertensions est irréversible et l'influence de l'augmentation des conditions de charge ne peut pas être distinguée des modifications intrinsèques du ventricule gauche. Nous avons choisi d'adopter la même stratégie en la modifiant et remplaçant l'utilisation de pompes osmotiques implantées par celle de perfuseurs miniatures externes. Ceci permet, à la différence des pompes osmotiques, l'arrêt de la perfusion et le retour des valeurs de pression artérielle (et de conditions de charge) à des niveaux similaires aux conditions de base. Ainsi, nous pouvons évaluer la fonction ventriculaire gauche intrinsèque, indépendamment des variations des conditions de charge qui sont un facteur confondant.



## B. Courbe dose-réponse

Dans un premier temps et afin de déterminer la dose adéquate d'angiotensine II à perfuser, nous avons établi la courbe dose-réponse hypertensive à l'administration de doses croissantes d'angiotensine II (figure 17). Nous avons retenu la dose de 30 ng/kg/min qui représentait la dose sous-maximale et qui permettait d'induire une augmentation aigüe d'environ 30 mmHg des pressions artérielles systolique, diastolique et moyenne.

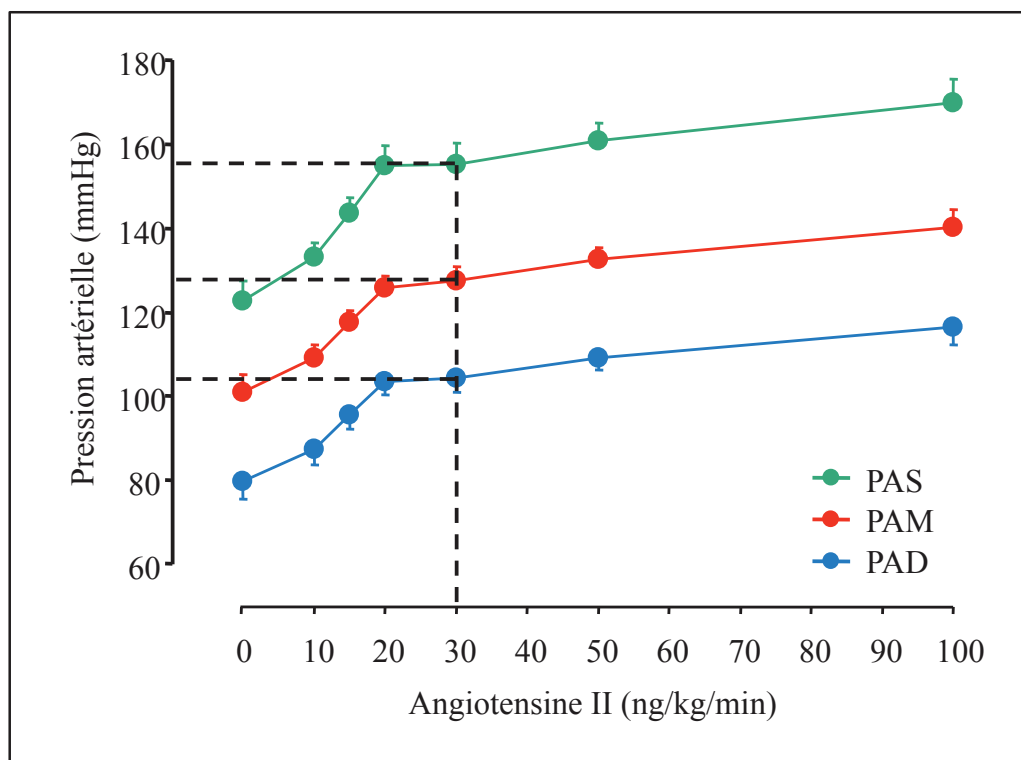
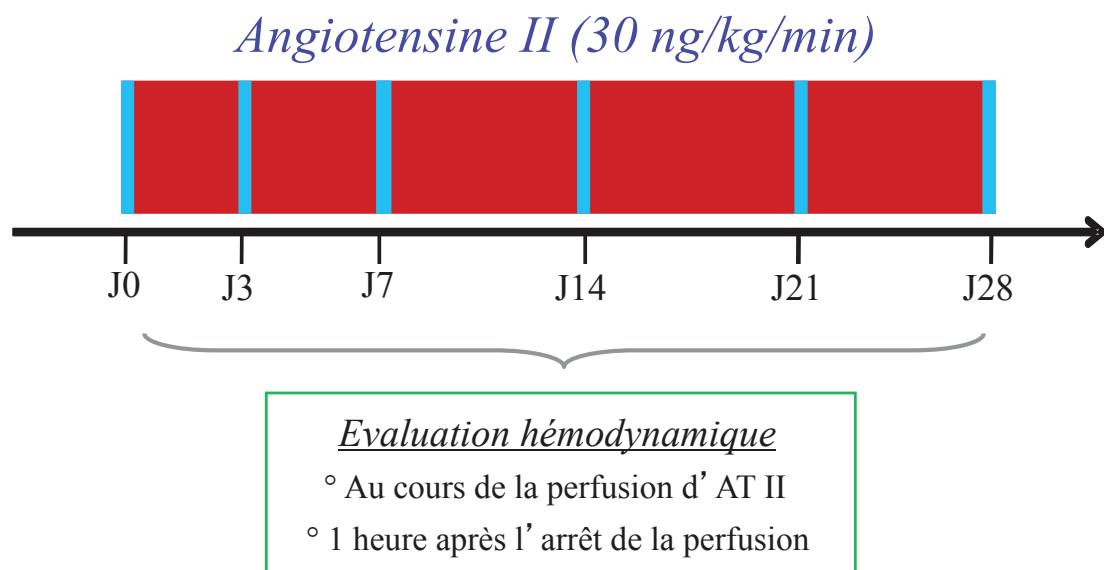


Figure 17. Courbe dose-réponse à l'angiotensine II. PAS : pression artérielle systolique ; PAM : pression artérielle moyenne ; PAD : pression artérielle diastolique (n=6).

## C. Protocole hypertensif

Dans un premier temps, des enregistrements ont été réalisés pour obtenir des mesures à l'état de base (J0) et en réponse à l'administration de dobutamine (10  $\mu$ g/kg/min, 5 min) (Fig. 18). Ensuite, une perfusion continue d'angiotensine II (30 ng/kg/min, IV) a été instaurée pour une période de 4 semaines. Celle-ci a été effectuée à l'aide d'une pompe miniaturisée fixée sur dos de l'animal (MICROJECT, Sorenson Medical, France). Le bon fonctionnement de cette pompe a été vérifié de manière quotidienne. L'hémodynamique systémique et cardiaque a été enregistrée à l'état éveillé à J3, J7, J14, J21 et J28. A chaque enregistrement, les différents paramètres hémodynamiques ont été recueillis dans un premier temps en présence d'angiotensine II. Dans un

second temps, la perfusion a été arrêtée 60 min afin de permettre un retour de la pression artérielle aux conditions observées à J0. Cette double évaluation avait pour objectif d'évaluer les performances ventriculaires gauches intrinsèques, *i.e.*, en minimisant la modification des conditions de charge. A J28, alors que la perfusion d'angiotensine II était arrêtée, nous avons évalué les réponses hémodynamiques à l'administration de dobutamine. Au terme des expériences, les animaux ont été sacrifiés à l'aide d'une injection de pentobarbital (60 mg/kg). Le cœur a été excisé et pesé. La position des cristaux piézoélectriques a été vérifiée. Un deuxième groupe d'animaux a été étudié de manière similaire mais l'angiotensine II a été remplacée par l'administration de sérum physiologique.



*Figure 18. Protocole expérimental.*

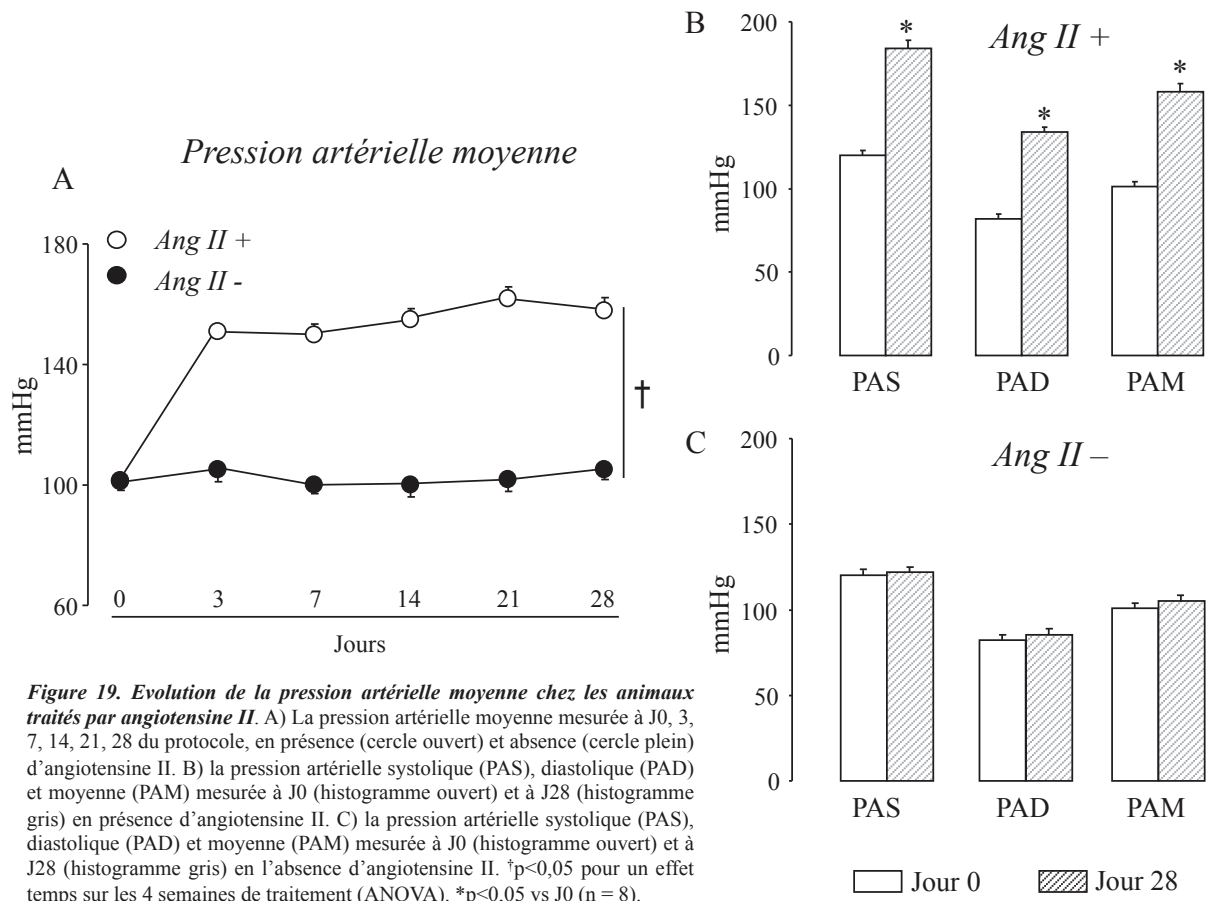
## D. Caractéristiques du modèle expérimental

### 1- Hémodynamique générale

Comme l'illustre la Figure 19, l'administration chronique d'angiotensine II a provoqué une augmentation des pressions artérielles systolique, diastolique et moyenne. Pour exemple et sur un lot de 8 animaux, nous avons observé des augmentations respectives de  $61 \pm 3$ ,  $50 \pm 3$  et  $54 \pm 3$  mmHg sur la période 4 semaines. A J28, les pressions artérielles systoliques, diastoliques et moyennes ont atteint respectivement les valeurs de  $184 \pm 5$ ,  $134 \pm 3$  et  $158 \pm 5$  mmHg.

De manière concomitante, la fréquence cardiaque mesurée à J28 a augmenté par rapport à J0 (respectivement avec et sans angiotensine II *vs* J0,  $93 \pm 4$  et  $107 \pm 8$  *vs*  $80 \pm 2$  batt/min) (Tableau 3). Il est important de souligner que la pression télédiastolique du ventricule gauche est demeurée

inchangée, montrant ainsi l'absence de toute décompensation. Par ailleurs, nous n'avons observé aucun signe congestif à ce stade.



**Figure 19.** Evolution de la pression artérielle moyenne chez les animaux traités par angiotensine II. A) La pression artérielle moyenne mesurée à J0, 3, 7, 14, 21, 28 du protocole, en présence (cercle ouvert) et absence (cercle plein) d'angiotensine II. B) la pression artérielle systolique (PAS), diastolique (PAD) et moyenne (PAM) mesurée à J0 (histogramme ouvert) et à J28 (histogramme gris) en présence d'angiotensine II. C) la pression artérielle systolique (PAS), diastolique (PAD) et moyenne (PAM) mesurée à J0 (histogramme ouvert) et à J28 (histogramme gris) en l'absence d'angiotensine II. † $p < 0,05$  pour un effet temps sur les 4 semaines de traitement (ANOVA). \* $p < 0,05$  vs J0 (n = 8).

Le calcul du stress pariétal éjectionnel moyen a permis de confirmer que l'arrêt temporaire de la perfusion permettait un retour aux valeurs de base (J0) des conditions de charge ( $247 \pm 23$  à J0 vs  $270 \pm 39$  g/cm<sup>2</sup> à J28).

## 2- Hypertrophie ventriculaire gauche

La perfusion chronique d'angiotensine II a induit une augmentation progressive et significative de l'épaisseur pariétale télédiastolique du ventricule gauche (Fig. 20, Tab. 3). Le groupe d'animaux recevant le sérum physiologique n'a pas montré ces modifications (Tab. 4).

Par ailleurs, le rapport de la masse du ventricule gauche vs la masse corporelle était significativement augmenté, démontrant le développement d'une hypertrophie ventriculaire gauche.

**Table 3. Paramètres hémodynamiques des porcs traités par ATII**

	n	Jour 0	Jour 28	
			Ang -	Ang +
<i>Fréquence cardiaque (batt/min)</i>	8	80 ± 2	107 ± 8*	93 ± 4*
<i>Pression artérielle moyenne (mmHg)</i>	8	101 ± 3	105 ± 3	158 ± 5*
<i>Pression VG (mmHg)</i>	8	120 ± 3	130 ± 5	186 ± 4*
<i>Pression télé-diastolique du VG (mmHg)</i>	8	11 ± 3	9 ± 2	14 ± 2
<i>Épaisseur pariétale télédiastolique du VG (mm)</i>	7	9,4 ± 0,7	12,4 ± 0,5*	11,8 ± 0,7*
<i>Épaisseur pariétale télésystolique du VG (mm)</i>	7	11,9 ± 0,8	15,9 ± 1,1*	14,4 ± 0,8*
<i>Épaississement pariétale du VG(mm)</i>	7	2,5 ± 0,2	2,6 ± 0,3	2,6 ± 0,2
<i>Diamètre interne télédiastolique du VG (mm)</i>	6	40 ± 2	42 ± 1	44 ± 1*
<i>Diamètre interne télésystolique du VG (mm)</i>	6	33 ± 1	35 ± 1	37 ± 1*
<i>Fraction de raccourcissement (%)</i>	6	18 ± 1	16 ± 1	17 ± 2
<i>LV dP/dt max (mmHg/s)</i>	8	2305 ± 140	3277 ± 316*	3537 ± 169*

Values are mean ± s.e.m.

\* p<0.05 vs Day 0

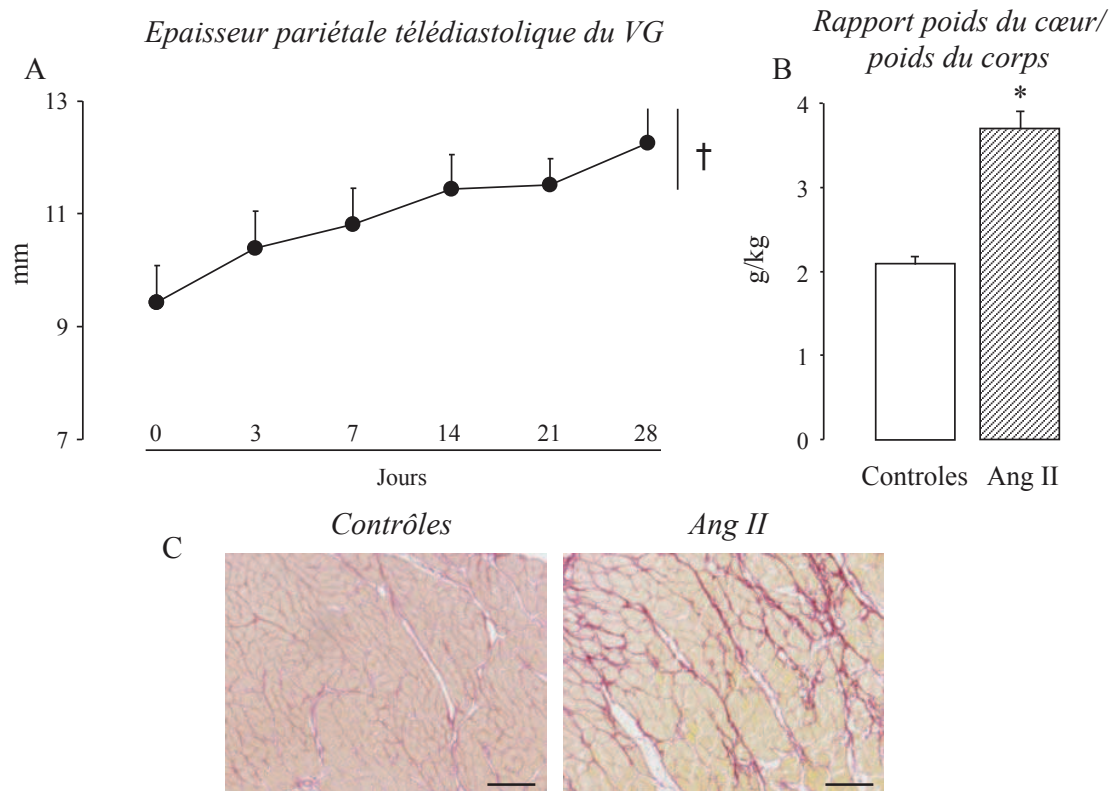
**Table 4. Paramètres hémodynamiques des porcs perfusés par sérum physiologique**

	n	Day 0	Day 28	
			Saline -	Saline +
<i>Fréquence cardiaque (batt/min)</i>	6	84 ± 1	84 ± 3	81 ± 2
<i>Pression artérielle moyenne (mmHg)</i>	6	107 ± 2	111 ± 2	113 ± 3
<i>Pression VG (mmHg)</i>	6	132 ± 3	135 ± 3	132 ± 3
<i>Pression télé-diastolique du VG (mmHg)</i>	6	12 ± 2	13 ± 3	12 ± 4
<i>Épaisseur pariétale télédiastolique du VG (mm)</i>	4	9,2 ± 0,2	10,1 ± 0,4	10,2 ± 0,4
<i>Épaisseur pariétale télésystolique du VG (mm)</i>	4	11,7 ± 0,7	12,3 ± 0,9	12,3 ± 0,8
<i>Épaississement pariétale du VG(mm)</i>	4	2,5 ± 0,7	2,1 ± 0,5	2,2 ± 0,5
<i>Diamètre interne télédiastolique du VG (mm)</i>	5	42 ± 2	45 ± 1*	44 ± 1
<i>Diamètre interne télésystolique du VG (mm)</i>	5	35 ± 2	40 ± 2*	40 ± 2*
<i>Fraction de raccourcissement (%)</i>	5	18 ± 2	18 ± 3	18 ± 2
<i>LV dP/dt max (mmHg/s)</i>	6	2352 ± 41	2318 ± 179	2276 ± 42

Values are mean ± s.e.m.

\* p<0.05 vs Day 0

Cette hypertrophie s'est accompagnée d'une augmentation de la fibrose interstitielle ( $6,2 \pm 0,7$  vs  $10,2 \pm 1,2$  % chez les animaux perfusés avec l'angiotensine II vs. le sérum physiologique) (Fig. 20).



**Figure 20. Hypertrophie myocardique chez les animaux traités par angiotensine II.** A) L'épaisseur pariétale télédiastolique mesurée aux jours 0, 3, 7, 14, 21 et 28 du protocole, après arrêt de la perfusion d'angiotensine II. B) Rapport poids du cœur / corps chez les contrôles (histogramme ouvert, n=6) et les traités (histogramme gris, n=8). C) Coloration par rouge Sirius des fibres de collagène chez les contrôles et les traités. †p<0,05 pour un effet temps sur les 4 semaines de traitement (ANOVA). \*p<0,05 vs J0 (n = 8).

# CHAPITRE VII : ETUDE DU COUPLAGE CONTRACTION-RELAXATION

Cette étude a fait l'objet d'une publication :

*Impaired left ventricular function in presence of preserved ejection in chronic hypertensive conscious pigs.*

par Rienzo M, Bizé A, Pongas D, Michineau S, Melka J, Chan HL, Sambin L, Su JB, Dubois-Randé JL, Hittinger L, Berdeaux A, Ghaleh B.

Basic Res Cardiol (2012), 107 : 298.

## Impaired left ventricular function in the presence of preserved ejection in chronic hypertensive conscious pigs

Mario Rienzo · Alain Bizé · Dionyssi Pongas · Stéphanie Michineau · Jonathan Melka · Hon Lai Chan · Lucien Sambin · Jin Bo Su · Jean-Luc Dubois-Randé · Luc Hittinger · Alain Berdeaux · Bijan Ghaleh

Received: 16 May 2012 / Revised: 23 July 2012 / Accepted: 24 August 2012  
© Springer-Verlag 2012

**Abstract** Systolic function is often evaluated by measuring ejection fraction and its preservation is often assimilated with the lack of impairment of systolic left ventricular (LV) function. Considering the left ventricle as a muscular pump, we explored LV function during chronic hypertension independently of increased afterload conditions. Fourteen conscious and chronically instrumented pigs received continuous infusion of either angiotensin II ( $n = 8$ ) or saline ( $n = 6$ ) during 28 days. Hemodynamic recordings were regularly performed in the presence and 1 h after stopping angiotensin II infusion to evaluate intrinsic LV function. Throughout the protocol, the mean arterial pressure steadily increased by  $55 \pm 4$  mmHg in angiotensin II-treated animals. There were no significant changes in stroke volume, LV fractional shortening or LV

wall thickening, indicating the lack of alterations in LV ejection. In contrast, we observed maladaptive changes with (1) the lack of reduction in isovolumic contraction and relaxation durations with heart rate increases, (2) abnormally blunted isovolumic contraction and relaxation responses to dobutamine and (3) a linear correlation between isovolumic contraction and relaxation durations. None of these changes were observed in saline-infused animals. In conclusion, we provide evidence of impaired LV function with concomitant isovolumic contraction and relaxation abnormalities during chronic hypertension while ejection remains preserved and no sign of heart failure is present. The evaluation under unloaded conditions shows intrinsic LV abnormalities.

**Keywords** Isovolumic contraction · Isovolumic relaxation · Hypertension · Left ventricular function

M. Rienzo · A. Bizé · D. Pongas · S. Michineau · J. Melka · H. L. Chan · L. Sambin · J. B. Su · J.-L. Dubois-Randé · L. Hittinger · A. Berdeaux · B. Ghaleh (✉)  
Faculté de Médecine, INSERM Unité U955 Equipe 03,  
8 rue du Général Sarrail, 94000 Créteil, France  
e-mail: bijan.ghaleh@inserm.fr

M. Rienzo · A. Bizé · D. Pongas · S. Michineau · J. Melka · H. L. Chan · L. Sambin · J. B. Su · J.-L. Dubois-Randé · L. Hittinger · A. Berdeaux · B. Ghaleh  
Faculté de Médecine, Université Paris-Est,  
UMR-S U955, 94000 Créteil, France

M. Rienzo · A. Bizé · D. Pongas · S. Michineau · J. Melka · H. L. Chan · L. Sambin · J. B. Su · J.-L. Dubois-Randé · L. Hittinger · A. Berdeaux · B. Ghaleh  
Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort,  
Université Paris-Est, 94000 Maisons-Alfort, France

D. Pongas · J.-L. Dubois-Randé · L. Hittinger · A. Berdeaux  
AP-HP, Groupe Hospitalier Henri Mondor,  
Fédération de Cardiologie, 94000 Créteil, France

### Introduction

Systolic function is often evaluated by measuring ejection fraction, and its preservation is often interpreted as an absence of impairment of systolic left ventricular (LV) function [15]. Usual description of LV function distinguishes systolic from diastolic alterations based on a classic hemodynamic model of the heart [36]. However, it has to be emphasized that the classical so-called diastole and systole are tightly coupled [14, 21], and it is well known that concomitant alterations of systolic and diastolic ventricular function occur during ischemic heart disease [22, 26]. Moreover, several human studies have reported some alterations in parameters describing systolic function, e.g., mitral annular DTI velocity [2] or long axis systolic DTI velocity [33, 37] when ejection fraction was

preserved. Most of these studies analyzed LV function as a hydraulic input–output system as opposed to a muscular pump perspective [7, 23, 38].

In this setting and considering the heart as a muscular pump, we aimed at investigating LV function during chronic hypertension in a large mammal. Previous large animal hypertensive models used renal wrapping [13, 27] or angiotensin II delivered through implanted osmotic pumps [29, 30]. This hypertension was irreversible and the influence of increased afterload per se could not be easily distinguished from intrinsic LV alterations. Moreover, there is generally missing information about early phases of LV dysfunction development. Alternatively, we focused on the development of LV dysfunction during chronic hypertension in the absence of any signs of heart failure and investigated LV contraction, relaxation and filling independently of increased afterload condition. In the present study, hypertension was induced by continuously infusing angiotensin II during 4 weeks with external peristaltic pumps in chronically instrumented conscious pigs. During the protocol, hemodynamic status was regularly investigated and, at each scheduled recording, infusion of angiotensin II was stopped for an hour in order to allow arterial blood pressure to return to pre-treatment values. This novel approach allowed both the characterization of LV function during hypertension and the evaluation of the intrinsic LV properties under unloaded conditions, i.e., in the absence of angiotensin II infusion.

## Methods

The experiments were conducted in accordance with the regulations concerning the use of animals in research.

### Surgical instrumentation

Under anesthesia, 14 female pigs (20–30 kg) underwent left thoracotomy. Fluid-filled Tygon catheters were implanted in the proximal descending thoracic aorta, in the left atrium and in the pulmonary artery for the measurement of arterial blood pressure and angiotensin II infusion. A solid-state pressure transducer (P5A, Konigsberg Instruments, Pasadena, CA, USA) was introduced into LV. A flow probe (Transonic Systems Inc., Ithaca, NY, USA) was implanted around the aortic root. Piezoelectric crystals were implanted (1) on opposing LV anterior and posterior endocardial surfaces to measure LV internal diameter, and (2) on opposing LV endocardial and epicardial anterior free wall surfaces to measure wall thickness. All catheters and wires were exteriorized between the scapulae. Animals were sedated with diazepam (0.2–0.4 mg/kg iv) for post-operative care. Enrofloxacin (2 mg/kg/day, im) and long

acting amoxicillin (15 mg/kg every 2 days, im) were administered for 10 days after surgery. Buprenorphine (0.3 mg sc) was administered for 5 days after surgery. The position of all catheters and crystals was confirmed at autopsy.

### Hemodynamic measurements

All hemodynamic data were recorded (1 kHz), digitized and analyzed using HEM v4.2 software (Notocord Systems, Croissy sur Seine, France). Aortic and left atrial pressures were measured with P23XL pressure transducers (Becton–Dickinson, Franklin Lakes, NJ, USA). Cardiac output was measured using a T206 blood flow meter (Transonic Systems Inc., Ithaca, NY, USA). Left ventricular pressure was cross calibrated with the left atrial and aortic pressures. The change in LV pressure over time ( $dP/dt$ ) was computed from the LV pressure signal. Percentage of wall thickening was defined as end-systolic minus end-diastolic thicknesses divided by end-diastolic thickness  $\times 100$ . The signal of LV wall thickness and LV internal diameter were suitable in 11 of the 14 instrumented pigs.

LV end-diastole was defined as the initiation of the upstroke of LV pressure tracing after atrial contraction and indicated by the initial increase in LV  $dP/dt$ . Aortic valve opening and closure were identified by crossing LV and aortic pressure waveforms. Furthermore, these determinations were confirmed by matching the waveforms with the aortic flow signal. The isovolumic contraction time was defined as the time interval between end diastole and aortic valve opening. The ejection time was defined as the time interval between aortic valve opening and closure. Mitral valve opening was identified by crossing LV and atrial pressure waveforms. The isovolumic relaxation period was defined as the period elapsed from aortic valve closure and mitral valve opening. The filling period was computed from the end of isovolumic relaxation to end diastole.

### Mean ejection LV wall stress

Cylindrical wall stress was calculated as:  $\text{stress} = 1.36 [(LVP \times ID)/2h]$ , where LVP is LV pressure, ID is internal diameter (short axis) and  $h$  is wall thickness. The integral of the systolic wall stress over time, so-called mean ejection wall stress, was calculated during the ejection period.

### Isovolumic relaxation time constant

The time constant of isovolumic LV pressure (LVP) decay  $\tau$  was calculated using pressure data points during the



isovolumic relaxation period and was computed using the logistic method [25, 31]:

$$LVP = P_A / (1 + e^{t/\tau}) + P_B$$

where  $P_A$  is an amplitude constant and  $P_B$  is the pressure asymptote. The non-linear least squares problem was solved utilizing the Levenberg–Marquardt algorithm.

#### Protocol

The experiments were conducted 2–3 weeks after surgery when pigs were healthy and afebrile. All animals were studied in the conscious state staying in a sling and care was taken that at least two respiratory cycles were included in each recording. The first set of recordings was performed to obtain measurements at Day 0. Then, responses to dobutamine (10  $\mu$ g/kg/min, 5 min) were evaluated. Thereafter, eight pigs received a continuous angiotensin II infusion (30 ng/kg/min) for 4 weeks using external peristaltic portable pumps. This dose was chosen on the basis of dose–response curves established in preliminary experiments (angiotensin II, 10–100 ng/kg/min iv).

Hemodynamic data were regularly recorded at Days 3, 7, 14, 21 and 28. Each recording was performed in the presence and 1 h after stopping the angiotensin II infusion in order to minimize the impact of changes on loading conditions, i.e., to evaluate the intrinsic LV contractile properties. Dobutamine infusions were repeated at Day 28 in the absence of angiotensin II. Each animal served as its own control. In addition, six other pigs received saline infusion and served as matched controls.

#### Histology

Slices from the left ventricle were fixed in 4 % formalin and embedded in paraffin for histology. Thick paraffin-embedded sections of 5  $\mu$ m were stained with Sirius red for the visualization of collagen fibers. Sections were mounted in Eukitt and examined under a bright-field microscope. Interstitial fibrosis was quantified and expressed as a percentage of the field area (10 fields analyzed at 10 $\times$  magnification).

#### Statistical analysis

All results are mean  $\pm$  SEM. Statistical analysis was performed using one-way analyses of variance for repeated measures. When overall differences were detected, individual comparisons were performed by Student's *t* test for paired observations with Bonferroni's correction. A value of  $p < 0.05$  was considered statistically significant.

## Results

### Hemodynamic

Hemodynamic parameters in angiotensin II- and saline-treated pigs are shown in Tables 1 and 2, respectively. The angiotensin II-treated animals did not develop any clinical signs of heart failure such as dyspnea, edema or ascites.

In angiotensin II-treated animals, arterial blood pressure significantly increased during 4 weeks of angiotensin II infusion and this effect remained stable (Fig. 1a), confirming the constant effectiveness of angiotensin II infusion. The rises in systolic, diastolic and mean blood pressures averaged  $61 \pm 3$ ,  $50 \pm 3$  and  $54 \pm 3$  mmHg over 4 weeks, respectively. At Day 28, systolic, diastolic and mean arterial blood pressures reached  $184 \pm 5$ ,  $134 \pm 3$  and  $158 \pm 5$  mmHg, respectively (Fig. 1b).

In order to evaluate the intrinsic LV function independently of an increase in arterial blood pressure, angiotensin II infusion was stopped for 1 h during each recording. Values of systolic, diastolic and mean arterial pressure returned to Day 0 levels ( $122 \pm 3$  vs.  $120 \pm 3$ ,  $85 \pm 4$  vs.  $82 \pm 3$  and  $105 \pm 3$  vs.  $101 \pm 3$  mmHg, respectively) (Fig. 1c). Calculation of mean ejection wall stress confirmed that the loading conditions were matched between Day 0 and Day 28 when the infusion of angiotensin II was stopped ( $247 \pm 23$  vs.  $270 \pm 39$  g/cm<sup>2</sup>, respectively,  $p = \text{NS}$ ).

Heart rate values measured at Day 28 either with or without angiotensin II were significantly increased versus Day 0 ( $93 \pm 4$  and  $107 \pm 8$  vs.  $80 \pm 2$  beats/min, respectively). None of these effects were observed in saline treated pigs.

### Development of LV hypertrophy

Chronic infusion of angiotensin II induced a progressive and significant increase in LV end-diastolic wall thickness (Fig. 2a). As compared to age and weight-matched control pigs ( $n = 6$ ), LV to body weight ratio was significantly increased in angiotensin II-treated animals (Fig. 2b), indicating LV hypertrophy. Histological analysis also showed a clear increase in interstitial fibrosis (Fig. 2c). Collagen content evaluated with Sirius red was increased from  $6.2 \pm 0.7$  to  $10.2 \pm 1.2$  % in saline- versus angiotensin II-treated animals ( $p < 0.05$ ).

### Isovolumic relaxation alterations

We observed abnormal evolution of isovolumic relaxation over 4 weeks of angiotensin II infusion (Table 3). Along with the increase in heart rate at Day 28, total cycle was significantly reduced by 22 % in the absence of angiotensin

**Table 1** Hemodynamic parameters in angiotensin II-treated pigs

	<i>n</i>	Day 0	Day 28	
			Ang–	Ang+
Heart rate (beats/min)	8	80 ± 2	107 ± 8*	93 ± 4*
Mean arterial pressure (mmHg)	8	101 ± 3	105 ± 3	158 ± 5*
LV pressure (mmHg)	8	120 ± 3	130 ± 5	186 ± 4*
LV end-diastolic pressure (mmHg)	8	11 ± 3	9 ± 2	14 ± 2
LV end-diastolic wall thickness (mm)	7	9.4 ± 0.7	12.4 ± 0.5*	11.8 ± 0.7*
LV end-systolic wall thickness (mm)	7	11.9 ± 0.8	15.9 ± 1.1*	14.4 ± 0.8*
LV wall thickening (mm)	7	2.5 ± 0.2	2.6 ± 0.3	2.6 ± 0.2
LV end-diastolic internal diameter (mm)	6	40 ± 2	42 ± 1	44 ± 1*
LV end-systolic internal diameter (mm)	6	33 ± 1	35 ± 1	37 ± 1*
LV fractional shortening (%)	6	18 ± 1	16 ± 1	17 ± 2
LV $dP/dt_{max}$ (mmHg/s)	8	2,305 ± 140	3,277 ± 316*	3,537 ± 169*
LV $dP/dt_{min}$ (mmHg/s)	8	–2,182 ± 97	–2,277 ± 150	–3,411 ± 105*

Values are mean ± SEM  
\*  $p < 0.05$  versus Day 0

**Table 2** Hemodynamic parameters in saline-treated control pigs

	<i>n</i>	Day 0	Day 28	
			Saline–	Saline+
Heart rate (beats/min)	6	84 ± 1	84 ± 3	81 ± 2
Mean arterial pressure (mmHg)	6	107 ± 2	111 ± 2	113 ± 3
LV pressure (mmHg)	6	132 ± 3	135 ± 3	132 ± 3
LV end-diastolic pressure (mmHg)	6	12 ± 2	13 ± 3	12 ± 4
LV end-diastolic wall thickness (mm)	4	9.2 ± 0.2	10.1 ± 0.4	10.2 ± 0.4
LV end-systolic wall thickness (mm)	4	11.7 ± 0.7	12.3 ± 0.9	12.3 ± 0.8
LV wall thickening (mm)	4	2.5 ± 0.7	2.1 ± 0.5	2.2 ± 0.5
LV end-diastolic internal diameter (mm)	5	42 ± 2	45 ± 1*	44 ± 1
LV end-systolic internal diameter (mm)	5	35 ± 2	40 ± 2*	40 ± 2*
LV fractional shortening (%)	5	18 ± 2	18 ± 3	18 ± 2
LV $dP/dt_{max}$ (mmHg/s)	6	2,352 ± 41	2,318 ± 179	2,276 ± 42
LV $dP/dt_{min}$ (mmHg/s)	6	–2,560 ± 78	–2,442 ± 101	–2,473 ± 68

Values are mean ± SEM  
\*  $p < 0.05$  versus Day 0

II. However, isovolumic relaxation time remained paradoxically unchanged between Day 0 and Day 28, i.e., the ratio of isovolumic relaxation to total systolic time was significantly increased by 21 %. That is, the time devoted to isovolumic relaxation during each minute increased by 36 % ( $8.0 \pm 0.3$  vs.  $5.9 \pm 0.1$  s/min at Day 28 vs. Day 0, respectively). Similar alterations were observed in the presence of angiotensin II at Day 28 as compared to Day 0. Thus, regardless of the presence or absence of angiotensin II, the relative time of isovolumic relaxation was abnormally prolonged at Day 28. These changes were not observed in control pigs (Table 4).

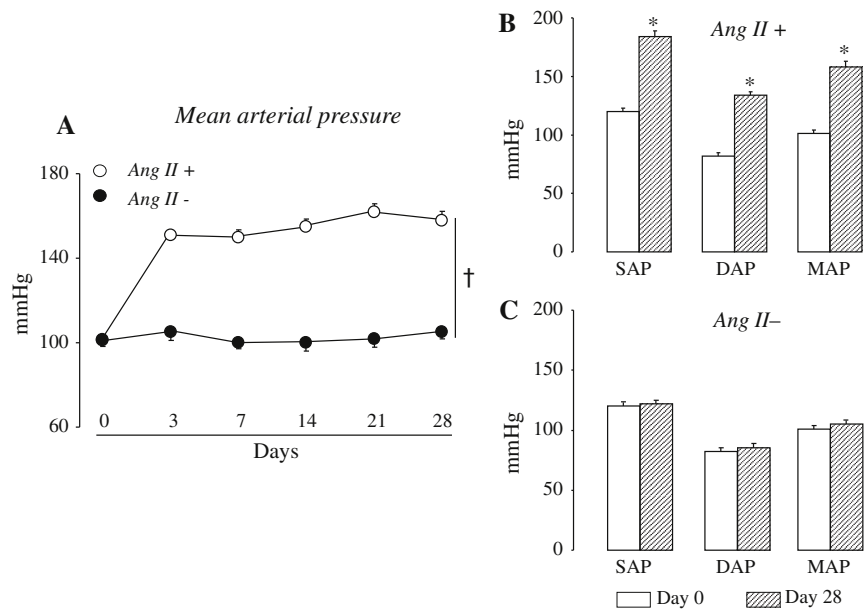
We further analyzed the isovolumic relaxation period by calculating the isovolumic time constant  $\tau$ . Paradoxically,  $\tau$  remained unchanged at Day 28 both in the presence and absence of angiotensin II as compared to Day 0 ( $17 \pm 1$

and  $18 \pm 1$  vs.  $17 \pm 1$  ms), i.e., isovolumic relaxation failed to accelerate with the increase in heart rate.

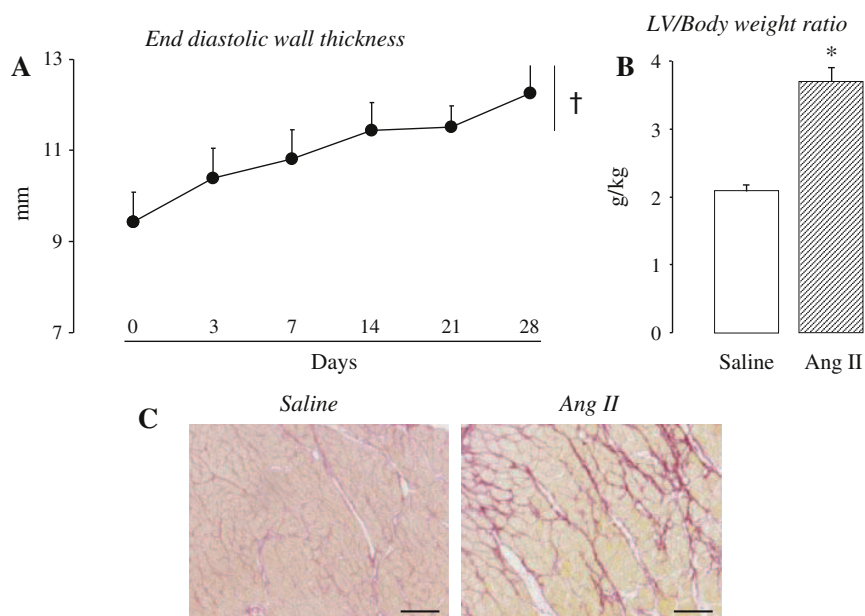
Importantly, as increasing heart rate differently influences the various phases of the cardiac cycle, we further analyzed the hemodynamic recordings at different levels of heart rate measured at Day 0 before any angiotensin II infusion. As shown in Fig. 3a, the physiological increase in heart rate in these pigs (before starting angiotensin II infusion,  $n = 8$ ) induced significant decreases in isovolumic relaxation time, as opposed to the lack of decrease after 4 weeks of angiotensin II infusion.

Concerning dobutamine infusion, at Day 0, isovolumic relaxation time decreased by 18 % with the normal increase in triple product of heart rate, LV  $dP/dt_{max}$  and maximal LV pressure. Interestingly, this response was significantly blunted after 4 weeks of angiotensin II

**Fig. 1** Arterial blood pressure in angiotensin II-treated animals. **a** Mean arterial pressure measured at Days 0, 3, 7, 14, 21 and 28 of the protocol, in the presence (*open circle*) and absence (*filled circle*) of angiotensin II; **b** systolic (SAP), diastolic (DAP) and mean (MAP) arterial blood pressures measured at Day 0 (*open bars*) and Day 28 (*gray bars*) in the presence of angiotensin II; **c** systolic (SAP), diastolic (DAP) and mean (MAP) arterial blood pressures measured in the absence of angiotensin II, at Day 0 (*open bars*) and Day 28 (*gray bars*). †*p* < 0.05, time effect over 4 weeks of the protocol (ANOVA). \**p* < 0.05 versus Day 0 (*n* = 8)



**Fig. 2** Myocardial hypertrophy in angiotensin II-treated animals. **a** End diastolic-wall thickness measured at Days 0, 3, 7, 14, 21 and 28 of the protocol, in the absence of angiotensin II; **b** LV to body weight ratio in saline (*open bar*, *n* = 6) and in angiotensin II-treated (*gray bar*, *n* = 8) animals. **c** Representative staining of collagen (Sirius red staining) fiber network in the left ventricle of saline- and angiotensin II-treated pigs. Scale bars 100  $\mu$ m. †*p* < 0.05, time effect over 4 weeks of the protocol (ANOVA). \**p* < 0.05 versus Day 0 (*n* = 8)



infusion (-11 %) (Fig. 3b). Saline-treated animals exhibited similar response between Day 0 and Day 28 (-16 and -17 %, respectively).

**Preserved ejection**

During 4 weeks of chronic angiotensin II infusion, stroke volume, LV fractional shortening and LV wall thickening were similar both in the presence and absence of angiotensin II as compared to Day 0 (Fig. 4). Concomitantly and due to the rise in heart rate, cardiac output increased at Day

28 as compared to Day 0 (3.5  $\pm$  0.4 and 3.3  $\pm$  0.5 L/min with or without angiotensin II at Day 28, respectively, vs. 2.7  $\pm$  0.3 L/min at Day 0, *p* < 0.05).

**Altered isovolumic contraction**

We next analyzed isovolumic contraction to determine whether it was altered along with isovolumic relaxation. We first focused on time intervals (Table 3). Despite significant decrease in cycle time, absolute values of isovolumic contraction time remained paradoxically unchanged

**Table 3** Diastolic time intervals in angiotensin II-treated pigs

	Day 0	Day 28	
		Ang-	Ang+
Total cycle time (ms)	754 ± 19	587 ± 42*	654 ± 29*
Isovolumic contraction time (ms)	54 ± 2	56 ± 3	61 ± 3
Ejection time (ms)	251 ± 6	196 ± 7*	210 ± 5*
Isovolumic relaxation time (ms)	74 ± 2	78 ± 5	78 ± 4
Total systolic time (ms)	378 ± 8	330 ± 12*	349 ± 8
Total diastolic filling time (ms)	376 ± 16	258 ± 32*	305 ± 23*
Systolic time to total cycle time (%)	50 ± 1	57 ± 2*	54 ± 2
Diastolic filling time to total cycle time (%)	50 ± 1	43 ± 2*	46 ± 2
Isovolumic contraction time to total systolic time (%)	14 ± 1	17 ± 1*	17 ± 1*
Ejection time to total systolic time (%)	66 ± 1	59 ± 1*	60 ± 1*
Isovolumic relaxation time to total systolic time (%)	19 ± 1	23 ± 1*	22 ± 1*

Values are mean ± SEM,  $n = 8$

\*  $p < 0.05$  versus Day 0

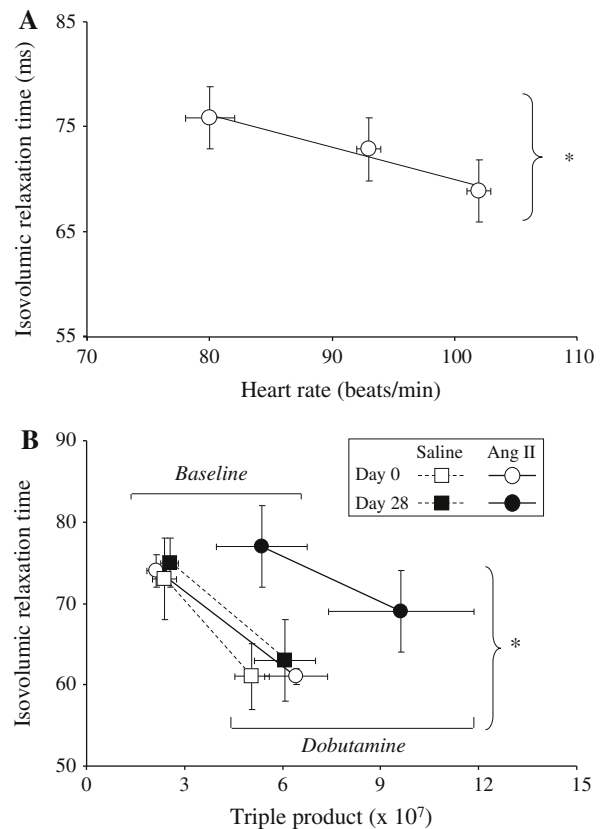
**Table 4** Time intervals in saline-treated pigs

	Day 0	Day 28	
		Saline-	Saline+
Total cycle time (ms)	723 ± 8	752 ± 19	719 ± 23
Isovolumic contraction time (ms)	51 ± 3	54 ± 3	53 ± 2
Ejection time (ms)	250 ± 6	251 ± 8	244 ± 6
Isovolumic relaxation time (ms)	65 ± 2	70 ± 3	68 ± 3
Total systolic time (ms)	366 ± 6	376 ± 13	365 ± 10
Total diastolic filling time (ms)	357 ± 10	377 ± 9	354 ± 18
Systolic time to total cycle time (%)	51 ± 1	50 ± 1	51 ± 1
Diastolic filling time to total cycle time (%)	49 ± 1	49 ± 1	50 ± 1
Isovolumic contraction time to total systolic time (%)	14 ± 1	14 ± 1	15 ± 1
Ejection time to total systolic time (%)	68 ± 1	67 ± 1	67 ± 1
Isovolumic relaxation time to total systolic time (%)	18 ± 1	19 ± 1	19 ± 1

Values are mean ± SEM,  $n = 6$

No statistical differences were detected

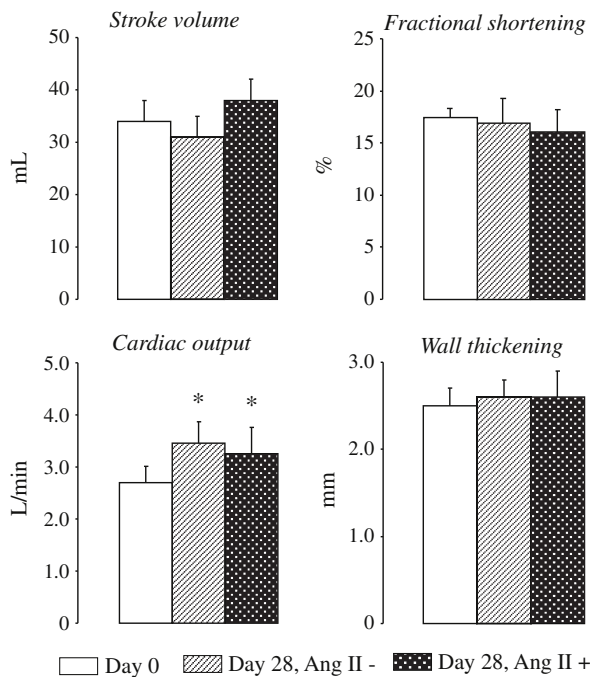
at Day 28 in the absence of angiotensin II as compared to Day 0, i.e., it was significantly increased by 30 % when related to cycle time. Thus, the time devoted to isovolumic



**Fig. 3** Isovolumic relaxation in saline- and angiotensin-II treated animals. **a** Relationship between heart rate and isovolumic relaxation time measured at Day 0 before starting angiotensin II infusion ( $n = 8$ ); \* $p < 0.05$  by ANOVA; **b** relationship between isovolumic relaxation time and the triple product (heart rate  $\times$  LV  $dP/dt_{max}$   $\times$  LV pressure) in response to dobutamine (10  $\mu$ g/kg/min,  $n = 6$ ) evaluated at Day 0 (open circles and open squares for angiotensin II- and saline-treated animals, respectively) and Day 28 (filled circles and filled squares for angiotensin II- and saline-treated animals, respectively). Measurements were performed in the absence of infusion. Asterisks indicate that change in isovolumic relaxation time was significantly reduced for angiotensin II-treated animals at Day 28 versus Day 0 ( $p < 0.05$ ), while absolute variations in triple product were similar

contraction during each minute was significantly increased by 38 % ( $5.9 \pm 0.3$  vs.  $4.3 \pm 0.2$  s/min at Day 28 and Day 0, respectively). These changes were not observed in control pigs (Table 4).

At Day 0 (before starting angiotensin II infusion), these parameters were also analyzed at different levels of heart rate. Isovolumic contraction time decreased when heart rate was rising (Fig. 5a). This parameter (expressed as % of cycle) remained unchanged ( $8 \pm 1$ ,  $8 \pm 1$  and  $8 \pm 1$  % of cycle for heart rates at  $80 \pm 2$ ,  $93 \pm 1$  and  $102 \pm 1$  beats/min, respectively). This contrasts with the changes of these parameters observed after 4 weeks of angiotensin II infusion.



**Fig. 4** Ejection in angiotensin II-treated animals. Parameters were evaluated at Days 0 (open bars) and 28 (gray bars). **a** Stroke volume (mL); **b** left ventricular fractional shortening (%), **c** cardiac output (L/min), **d** wall thickening (mm). Values were measured in the presence and the absence of angiotensin II (Ang II). \* $p < 0.05$  versus Day 0 ( $n = 8$ )

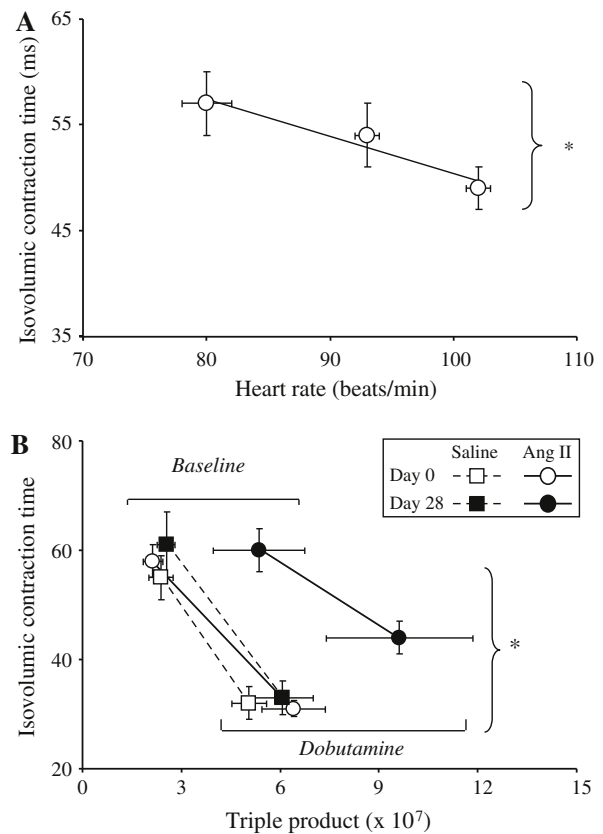
Finally, we investigated isovolumic contraction using dobutamine infusion. At Day 0 (Fig. 5b), isovolumic contraction time decreased by 45 %, while the triple product of heart rate, LV  $dP/dt_{max}$  and maximal LV pressure increased. After 4 weeks of angiotensin II infusion (in the absence of angiotensin II), this response was significantly blunted (−27 %). This shows a maladaptive response to inotropic stimulation with a lack of reduction in isovolumic contraction time. Saline-treated animals exhibited similar response between Day 0 and Day 28 (−42 % and −44 %, respectively).

**Diastolic filling alterations**

In parallel to the maladaptive response of isovolumic contraction and relaxation, the absolute diastolic filling time was significantly reduced (Table 3). Saline-treated pigs showed similar values between Day 0 and Day 28 (Table 4).

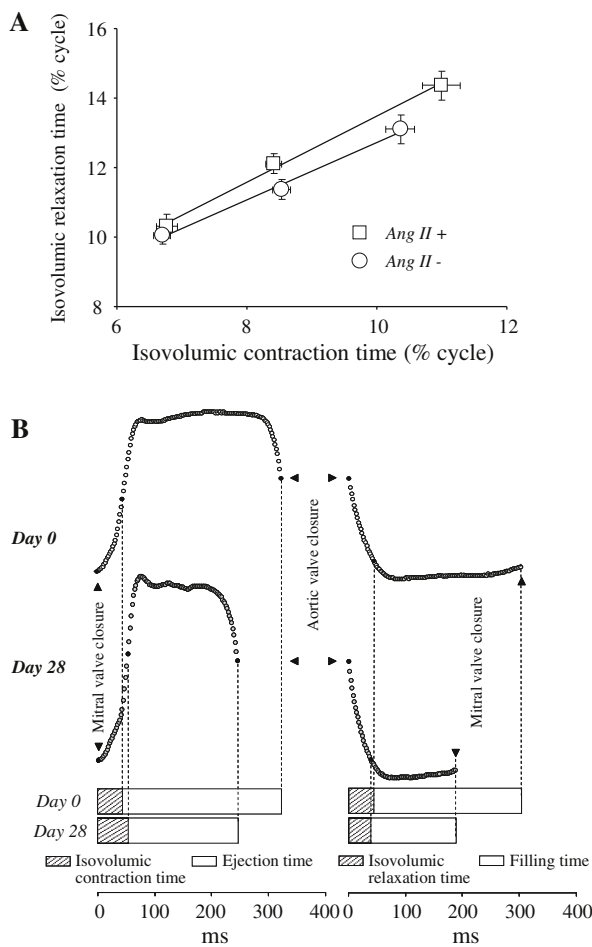
**Relationship between isovolumic contraction and relaxation**

As illustrated in Fig. 6a, there was a linear relationship between the isovolumic relaxation time values (% of



**Fig. 5** Isovolumic contraction in saline- and angiotensin II-treated animals. **a** Relationship between heart rate and isovolumic contraction time measured at Day 0 before starting angiotensin II infusion ( $n = 8$ ); \* $p < 0.05$  by ANOVA; **b** relationship between isovolumic contraction time and the triple product (heart rate  $\times$  LV  $dP/dt_{max}$   $\times$  LV pressure) in response to dobutamine (10  $\mu$ g/kg/min,  $n = 6$ ) evaluated at Day 0 (open circles and open squares for angiotensin II- and saline-treated animals, respectively) and Day 28 (filled circles and filled squares for angiotensin II- and saline-treated animals, respectively). Measurements were performed in the absence of infusion. Asterisks indicate that change in isovolumic contraction time was significantly reduced for angiotensin II-treated animals at Day 28 versus Day 0 ( $p < 0.05$ ), while absolute variations in triple product were similar

cycle time) and corresponding times of isovolumic contraction (% of cycle time) either in the presence or the absence of angiotensin II. Values were measured at Days 0, 3, 7, 14, 21 and 28. This indicates that the development of alterations in isovolumic relaxation mirrored those of isovolumic contraction (Fig. 6b). The timing of alterations did not differ between contraction and relaxation. For example, both isovolumic contraction time and isovolumic relaxation time (expressed as % of cycle) increased up to  $8.9 \pm 0.6$  and  $12.7 \pm 0.4$  % at Day 14 from  $7.2 \pm 0.3$  and  $9.8 \pm 0.1$  % at Day 0, respectively.



**Fig. 6** Relationship between isovolumic contraction and isovolumic relaxation times in angiotensin II-treated animals. **a** Linear relationship between isovolumic contraction time (% of cycle time) and isovolumic relaxation time (% of cycle time) measured in the presence (*open squares*,  $y = 0.77x + 4.9$ ) and the absence (*open circles*,  $y = 0.72x + 5.4$ ) of angiotensin II infusion. Values were measured at Days 0, 3, 7, 14, 21 and 28. **b** Representative waveforms of left ventricular pressure measured at Day 0 and after 4 weeks of angiotensin II infusion (Day 28). *Dash lines* distinguish isovolumic contraction from ejection phase (*left panel*) and isovolumic relaxation from filling (*right panel*). *Bars on the bottom* quantify the relative time intervals. Similar absolute durations for isovolumic contraction and isovolumic relaxation were observed between Day 0 and Day 28. Despite decreases in cycle time, isovolumic contraction and relaxation durations failed to reduce. Both phases were tightly coupled and changes in isovolumic contraction mirrored those of isovolumic relaxation

## Discussion

The present study demonstrates impaired left ventricular function in the presence of a preserved ejection in chronic hypertensive pigs as demonstrated by maladaptive changes in isovolumic contraction and relaxation, regardless of changes in loading conditions. These two periods were

tightly coupled and simultaneously altered. Indeed, we observed (1) a paradoxical increase in relative durations of isovolumic contraction and relaxation concomitant with the increase in heart rate over 4 weeks of angiotensin II infusion, (2) both abnormal isovolumic contraction and relaxation responses to dobutamine and (3) a linear correlation between isovolumic contraction and relaxation durations. The link between contraction and relaxation has been previously described in intact animal and human studies investigating the effects of acute load changes, ischemic heart disease, pulmonary hypertension or systemic chronic hypertension [5, 6, 8, 18–21, 37]. However, they did not distinguish between load influences and intrinsic LV changes nor analyze the consequences of stress conditions such as dobutamine.

In this study, we investigated our animals during chronic hypertension and did not observe any of the usual signs of heart failure. As previously described [9, 11, 17], LV hypertrophy correlates with the impaired LV isovolumic relaxation and delayed mitral valve opening. In this pig model, isovolumic relaxation time remained unchanged despite the increase in heart rate observed over 4 weeks of angiotensin II infusion. This was accompanied by a reduced diastolic filling time. We also evaluated LV pressure decay during isovolumic relaxation by a mathematical model based on a logistic equation, yielding a constant  $\tau$  which shows a stable estimate of relaxation [25, 31]. At Day 28, despite the increase in heart rate,  $\tau$  was abnormally unchanged as compared to Day 0. This contrasts with the normal heart which accelerates LV relaxation at higher rates as shown by our results obtained at Day 0 at various levels of heart rate and by previous reports [4]. We further investigated isovolumic relaxation during dobutamine infusion and demonstrated again the inability of the heart to adequately adapt to stress.

We next focused on stroke volume, fractional shortening and LV wall-systolic thickening. All these parameters were unchanged and cardiac output was not reduced, indicating preserved ejection. However, none of these parameters specifically investigate the isovolumic phase. We therefore turned our attention towards the isovolumic contraction phase searching for alterations independent of ejection. In contrast to the normal heart, isovolumic contraction time remained unchanged. The ratio of isovolumic contraction to total systolic time was paradoxically and significantly increased after 4 weeks of angiotensin II infusion, i.e., the systolic isovolumic contraction failed to accelerate with the increase in heart rate. One could argue that increasing heart rate would differently influence the various phases of the cardiac cycle and, therefore, explain our results [16]. This is unlikely as the analysis of these time intervals with different levels of heart rate in basal conditions (at Day 0 before starting angiotensin II infusion) clearly shows

opposite pattern. Moreover, in the presence of dobutamine, the isovolumic contraction time failed to adequately decrease. Again, this contrasts with the normal heart in which there is a linear relationship between this pre-ejection period and R–R interval [34].

In the present study, changes in the two LV isovolumic phases were simultaneous and tightly coupled. There was a linear correlation between isovolumic contraction and relaxation under normal and stress conditions with dobutamine. In accordance with the concept that the heart is a muscular pump rather than a hydraulic pump [3], there was symmetry between isovolumic contraction and relaxation as illustrated in Fig. 6b. One could speculate that increased fibrosis and remodeling [1, 24] could partly explain these alterations but further investigations are needed.

Several limitations of the present study should be stressed. First, we did not specifically investigate the cellular mechanisms explaining the alteration in isovolumic contraction. Abnormalities in calcium handling and cell shortening may occur [10, 12, 28, 32]. Second, we did not perform echocardiographic studies to measure myocardial deformation and evaluate left ventricular asynchrony. One could speculate that inappropriate prolonged isovolumic contraction is linked to increased systolic asynchrony with nonuniform activation. This would induce exacerbated ventricular nonuniformity and diastolic asynchrony with altered isovolumic relaxation. Furthermore, isovolumic contraction and cross-bridge detachment during relaxation are energy-consuming processes. With this regard, increased isovolumic time and slow LV relaxation may further jeopardize LV function during the development of the disease and the reduction of myocardial energy reserve. This pig model of hypertension does not induce heart failure per se but we believe that it constitutes the basis for future studies and the development of new pharmacological strategies. Finally, it remains unknown whether our results are limited to our experimental setting or rather could be generalized. The evaluation of isovolumic contraction should be re-visited in other animal models and/or humans. The use of pressure volume catheters may have missed subtle alterations in isovolumic contraction as the parameters usually investigated with PV loop do not specifically explore this phase and studies in patients with conductance catheter report the use of low frequency of acquisition (250 Hz) which may reduce the sensitivity of the detection [35].

In conclusion, we provide evidence of impaired LV function with isovolumic contraction and relaxation abnormalities during chronic hypertension while ejection remains preserved and no sign of heart failure is present. The evaluation under unloaded conditions shows intrinsic LV abnormalities.

**Acknowledgments** This work was supported by grants from INSERM (Mario Rienzo, poste d'accueil 2008), the Société Française d'Hypertension Artérielle (2010), the Fondation de l'Avenir (ET9-529) and the Région Ile de France (CODDIM). We thank the Laboratoire Roche for providing diazepam (Valium®) and Sanofi-Aventis for providing heparin.

## References

- Booyens HL, Norton GR, Opie LH, Woodiwiss AJ (2012) Reverse chamber remodelling following adrenergic-induced advanced cardiac dilatation and pump dysfunction. *Basic Res Cardiol* 107:238. doi:10.1007/s00395-011-0238-0
- Bruch C, Schmermund A, Marin D, Katz M, Bartel T, Schaar J, Erbel R (2000) Tei-index in patients with mild-to-moderate congestive heart failure. *Eur Heart J* 21:1888–1895. doi:10.1053/ehj.2000.2246
- Brutsaert DL (2006) Cardiac dysfunction in heart failure: the cardiologist's love affair with time. *Prog Cardiovasc Dis* 49:157–181. doi:10.1016/j.pcad.2006.08.010
- Colin P, Ghaleh B, Hittinger L, Monnet X, Slama M, Giudicelli JF, Berdeaux A (2002) Differential effects of heart rate reduction and  $\beta$ -blockade on left ventricular relaxation during exercise. *Am J Physiol* 282:H672–H679. doi:10.1152/ajpheart.00547.2001
- Correia-Pinto J, Henriques-Coelho T, Roncon-Albuquerque R, Lourenço AP, Melo-Rocha G, Vasques-Nóvoa F, Gillebert TC, Leite-Moreira AF (2009) Time course and mechanisms of left ventricular systolic and diastolic dysfunction in monocrotaline-induced pulmonary hypertension. *Basic Res Cardiol* 104:535–546. doi:10.1007/s00395-009-0017-3
- D'Angelo R, Shah N, Rubler S (1975) Diastolic time intervals in ischemic and hypertensive heart disease: a comparison of isovolumic relaxation time and rapid filling time with systolic time intervals. *Chest* 68:56–61
- De Keulenaer GW, Brutsaert DL (2007) Diastolic heart failure: a separate disease or selection bias? *Prog Cardiovasc Dis* 49:275–283. doi:10.1016/j.pcad.2006.08.002
- Dodek A, Burg JR, Kloster FE (1975) Systolic time intervals in chronic hypertension: alterations and response to treatment. *Chest* 68:51–55. doi:10.1378/chest.68.1.51
- Douglas PS, Berko B, Lesh M, Reichek N (1989) Alterations in diastolic function in response to progressive left ventricular hypertrophy. *J Am Coll Cardiol* 13:461–467. doi:10.1016/0735-1097(89)90527-5
- Elliott EB, Hasumi H, Otani N, Matsuda T, Matsuda R, Kaneko N, Smith GL, Loughrey CM (2011) K201 (JTV-519) alters the spatiotemporal properties of diastolic  $Ca^{2+}$  release and the associated diastolic contraction during  $\beta$ -adrenergic stimulation in rat ventricular cardiomyocytes. *Basic Res Cardiol* 106:1009–1022. doi:10.1007/s00395-011-0218-4
- Falcão-Pires I, Palladini G, Gonçalves N, van der Velden J, Moreira-Gonçalves D, Miranda-Silva D, Salinaro F, Paulus WJ, Niessen HW, Perlini S, Leite-Moreira AF (2011) Distinct mechanisms for diastolic dysfunction in diabetes mellitus and chronic pressure-overload. *Basic Res Cardiol* 106:801–814. doi:10.1007/s00395-011-0184-x
- Florea S, Anjak A, Cai WF, Qian J, Vafiadaki E, Figueria S, Haghghi K, Rubinstein J, Lorenz J, Kranias EG (2012) Constitutive phosphorylation of inhibitor-1 at Ser67 and Thr75 depresses calcium cycling in cardiomyocytes and leads to remodeling upon aging. *Basic Res Cardiol* 107:279. doi:10.1007/s00395-012-0279-z
- Gelpi RJ, Pasipoularides A, Lader AS, Patrick TA, Chase N, Hittinger L, Shannon RP, Bishop SP, Vatner SF (1991) Changes

- in diastolic cardiac function in developing and stable perinephritic hypertension in conscious dogs. *Circ Res* 68:555–567. doi:10.1161/01.RES.68.2.555
14. Gillebert TC, Leite-Moreira AF, De Hert SG (1997) Relaxation–systolic pressure relation: a load-independent assessment of left ventricular contractility. *Circulation* 95:745–752. doi:10.1161/01.CIR.95.3.745
  15. Heusch G (2009) Diastolic heart failure: a misNOMer. *Basic Res Cardiol* 104:465–467. doi:10.1007/s00395-009-0025-3
  16. Heusch G (2011) Heart rate and heart failure—not a simple relationship. *Circ J* 75:229–236. doi:10.1253/circj.CJ-10-0925
  17. Inouye I, Massie B, Loge D, Topic N, Silverstein D, Simpson P, Tubau J (1984) Abnormal left ventricular filling: an early finding in mild to moderate systemic hypertension. *Am J Cardiol* 53:120–126. doi:10.106/0002-9149(84)90695-7
  18. Ito T, Hamada M, Shigematsu Y, Kazatani Y, Nishitani K, Matsuzaki K, Daimon F, Ochi T, Kokubu T (1985) The analysis of systolic and diastolic time intervals: a more sensitive non-invasive method in the assessment of left ventricular dysfunction in the patients with essential hypertension. *Clin Exp Hypertens A* 7:951–963
  19. Lavine SJ, Lavine JA (2006) The effect of acute hypertension on left ventricular diastolic pressures in a canine model of left ventricular dysfunction with a preserved ejection fraction and elevated left ventricular filling pressures. *J Am Soc Echocardiogr* 19:1350–1358. doi:10.1016/j.echo.2006.05.008
  20. Leite-Moreira AF, Correia-Pinto J, Gillebert TC (1999) Afterload induced changes in myocardial relaxation: a mechanism for diastolic dysfunction. *Cardiovasc Res* 43:344–353. doi:10.1016/S0008-6363(99)00099-1
  21. Leite-Moreira AF, Gillebert TC (1994) Nonuniform course of left ventricular pressure fall and its regulation by load and contractile state. *Circulation* 90:2481–2491. doi:10.1161/01.CIR.90.5.2481
  22. Leite-Moreira AF, Lourenço AP, Roncon-Albuquerque R, Henriques-Coelho T, Amorim MJ, Almeida J, Pinho P, Gillebert TC (2012) Diastolic tolerance to systolic pressures closely reflects systolic performance in patients with coronary heart disease. *Basic Res Cardiol* 107:251. doi:10.1007/s00395-012-0251-y
  23. Little WC (2005) Diastolic dysfunction beyond distensibility: adverse effects of ventricular dilatation. *Circulation* 112:2888–2890. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.105.578161
  24. MacIver DH (2010) Is remodeling the dominant compensatory mechanism in both chronic heart failure with preserved and reduced left ventricular ejection fraction? *Basic Res Cardiol* 105:227–234. doi:10.1007/s00395-009-0063-x
  25. Matsubara H, Araki J, Takaki M, Nakagawa ST, Suga H (1995) Logistic characterization of left ventricular isovolumic pressure–time curve. *Jpn J Physiol* 45:535–552. doi:10.2170/jjphysiol.45.535
  26. Mogelvang R, Goetze JP, Pedersen SA, Olsen NT, Marott JL, Schnohr P, Sogaard P, Jensen JS (2009) Preclinical systolic and diastolic dysfunction assessed by tissue Doppler imaging is associated with elevated plasma pro-B-type natriuretic peptide concentrations. *J Card Fail* 15:489–495. doi:10.1016/j.cardfail.2009.09.005
  27. Munagala VK, Hart CY, Burnett JC Jr, Meyer DM, Redfield MM (2005) Ventricular structure and function in aged dogs with renal hypertension: a model of experimental diastolic heart failure. *Circulation* 111:1128–1135. doi:10.1161/01.CIR.0000157183.21404.63
  28. Neumann T, Ravens U, Heusch G (1998) Characterization of excitation–contraction coupling in conscious dogs with pacing-induced heart failure. *Cardiovasc Res* 37:456–466. doi:10.1016/S0008-6363(97)00246-0
  29. Paolucci N, Tavazzi B, Biondi R, Gluzband YA, Amorini AM, Tocchetti CG, Hejazi M, Caturegli PM, Kajstura J, Lazzarino G, Kass DA (2006) Metalloproteinase inhibitor counters high-energy phosphate depletion and AMP deaminase activity enhancing ventricular diastolic compliance in subacute heart failure. *J Pharmacol Exp Ther* 317:506–513. doi:10.1124/jpet.105.099168
  30. Senzaki H, Gluzban YA, Pak PH, Crow MT, Janicki JS, Kass DA (1998) Synergistic exacerbation of diastolic stiffness from short-term tachycardia-induced cardiodepression and angiotensin II. *Circ Res* 82:503–512. doi:10.1161/01.RES.82.4.503
  31. Senzaki H, Kass DA (2010) Analysis of isovolumic relaxation in failing hearts by monoexponential time constants overestimates lusitropic change and load dependence: mechanisms and advantages of alternative logistic fit. *Circ Heart Fail* 3:268–276. doi:10.1161/CIRCHEARTFAILURE.109.865592
  32. Song LS, Pi YQ, Kim SJ, Yatani A, Guatimosim S, Kudej RK, Zhang Q, Cheng H, Hittinger L, Ghaleh B, Vatner DE, Lederer WJ, Vatner SF (2005) Paradoxical cellular Ca<sup>2+</sup> signaling in severe but compensated canine left ventricular hypertrophy. *Circ Res* 97:457–464. doi:10.1161/01.RES.0000179722.79295.d4
  33. Tan YT, Wenzelburger F, Lee E, Heatlie G, Leyva F, Patel K, Frenneaux M, Sanderson JE (2009) The pathophysiology of heart failure with normal ejection fraction: exercise echocardiography reveals complex abnormalities of both systolic and diastolic ventricular function involving torsion, untwist, and longitudinal motion. *J Am Coll Cardiol* 54:36–46. doi:10.1016/j.jacc.2009.03.037
  34. Van Der Hoeven GM, Clerens PJ, Donders JJ, Beneken JE, Vonk JT (1977) A study of systolic time intervals during uninterrupted exercise. *Br Heart J* 39:242–254. doi:10.1136/hrt.39.3.242
  35. Westermann D, Kasner M, Steendijk P, Spillmann F, Riad A, Weitmann K, Hoffmann W, Poller W, Pauschinger M, Schultheiss HP, Tschöpe C (2008) Role of left ventricular stiffness in heart failure with normal ejection fraction. *Circulation* 117:2051–2060. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.107.716886
  36. Wiggers CJ (1942) Basic hemodynamic principles essential to interpretation of cardiovascular disorders. *Bull N Y Acad Med* 18:3–17
  37. Yip GW, Zhang Y, Tan PY, Wang M, Ho PY, Brodin LA, Sanderson JE (2002) Left ventricular long-axis changes in early diastole and systole: impact of systolic function on diastole. *Clin Sci (Lond)* 102:515–522. doi:10.1042/CS20010196
  38. Zile MR, Brutsaert DL (2002) New concepts in diastolic dysfunction and diastolic heart failure: Part I: diagnosis, prognosis, and measurements of diastolic function. *Circulation* 105:1387–1393. doi:10.1161/hc1102.105289



## I. CONTEXTE ET OBJECTIFS

La fonction systolique est souvent évaluée par la seule mesure de la fraction d'éjection. Quand celle-ci est préservée, on assimile cette situation à l'absence d'altération de la fonction systolique du ventricule gauche. Habituellement, sa description distingue les altérations de la systole de celles de la diastole sur la base d'un modèle hémodynamique classique du cœur. Néanmoins, il faut souligner que les phases de systole et de diastole sont étroitement liées et il est bien connu que leurs altérations concomitantes se vérifient notamment au cours de la pathologie ischémique. Ainsi, plusieurs études menées chez l'Homme ont rapporté des anomalies des paramètres décrivant la fonction systolique, en particulier la vitesse (évaluée par imagerie tissulaire en Doppler) de l'anneau mitral et des fibres myocardiques longitudinales en présence d'une fraction d'éjection préservée (Bruch, Schmermund et al. 2000; Yip, Wang et al. 2002; Tan, Wenzelburger et al. 2009).

La majorité de ces études ont analysé la fonction ventriculaire gauche en considérant le cœur comme un système hydraulique et non pas comme une pompe musculaire. Dans ce contexte, nous avons choisi le modèle de pompe musculaire pour explorer la fonction ventriculaire gauche au cours de l'hypertension artérielle chronique. Par ailleurs, il existe peu de données sur les phases initiales du développement de la dysfonction ventriculaire gauche au cours de la maladie. Nous avons donc analysé l'évolution de la fonction ventriculaire gauche pendant les quatre semaines de perfusion d'angiotensine II en focalisant notre attention sur la contraction et la relaxation isovolumentique, indépendamment des modifications des conditions de charge.

## II. PROTOCOLE EXPERIMENTAL

Nous avons utilisé le modèle d'hypertension chronique induite par l'administration chronique d'angiotensine II pendant 28 jours (n=8). Un deuxième groupe de porcs a reçu du sérum physiologique dans les mêmes conditions (n=6). A l'état de base (J0) et ceci chez tous les animaux, l'hémodynamique générale et la fonction ventriculaire gauche ont été évaluées avant et au cours d'une perfusion de dobutamine (10 µg/kg/min pendant 5 min). La même évaluation a été effectuée après les 28 jours de perfusion. Des enregistrements intermédiaires à J3, J7, J14 et J21 ont également été réalisés. Il est important de rappeler que ces évaluations ont été effectuées lors de l'arrêt de toute perfusion d'angiotensine II pour minimiser l'impact de tout changement de condition de charge sur la fonction ventriculaire gauche.

### III. PRINCIPAUX RESULTATS

#### A. Altération de la relaxation isovolumique au repos

Nous avons observé une évolution anormale de la relaxation isovolumique tout au long des 4 semaines de la perfusion d'angiotensine II. Parallèlement à l'augmentation de la fréquence cardiaque à J28, la durée totale du cycle cardiaque était réduite de 22%. Cependant, le temps dévolu à la relaxation isovolumique restait paradoxalement inchangé entre J0 et J28. En d'autres termes, le rapport entre les temps de la relaxation isovolumique et la systole était augmenté de 21%. Ceci signifiait que le temps dévolu à la relaxation isovolumique par minute était augmenté de 36% (respectivement  $8,0 \pm 0,3$  sec/min vs  $5,9 \pm 0,1$  sec/min à J28 vs J0). Des altérations similaires ont été observées en présence d'angiotensine II à J28 vs J0. Ainsi, le temps relatif de la relaxation isovolumique a été anormalement prolongé à J28. Ces modifications n'ont pas été observées chez les animaux contrôles (Tab. 5).

**Table 5. Intervalles de temps chez les porcs traités par angiotensine-II**

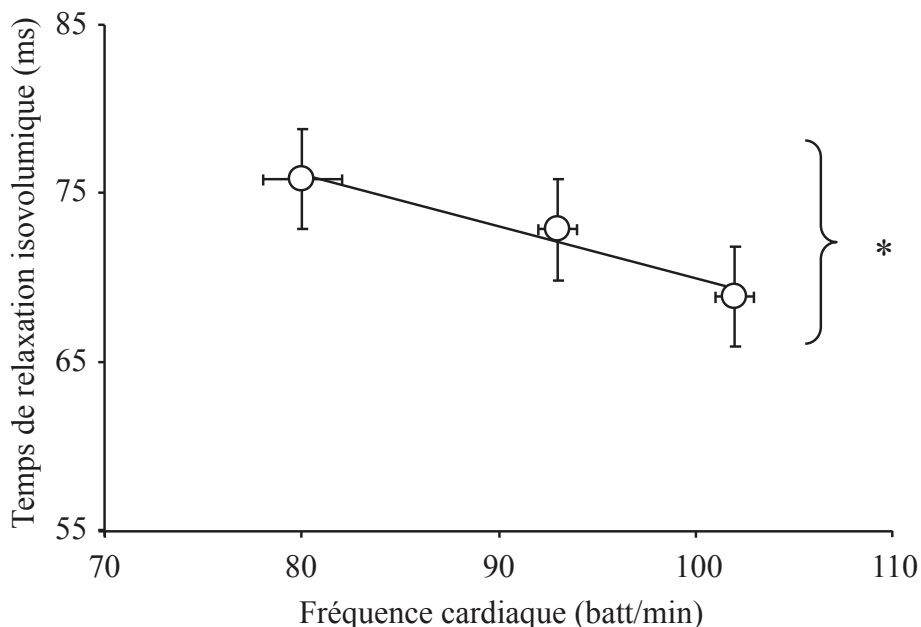
	Day 0	Day 28	
		Ang -	Ang +
<i>Durée totale du cycle (ms)</i>	754 ± 19	587 ± 42*	654 ± 29*
<i>Temps de contraction isovolumique (ms)</i>	54 ± 2	56 ± 3	61 ± 3
<i>Temps d'éjection (ms)</i>	251 ± 6	196 ± 7*	210 ± 5*
<i>Temps de relaxation isovolumique (ms)</i>	74 ± 2	78 ± 5	78 ± 4
<i>Temps systolique (ms)</i>	378 ± 8	330 ± 12*	349 ± 8
<i>Temps de remplissage (ms)</i>	376 ± 16	258 ± 32*	305 ± 23*
<i>Ratio temps systolique / temps du cycle (%)</i>	50 ± 1	57 ± 2*	54,0 ± 2
<i>Ratio temps de remplissage / temps du cycle (%)</i>	50 ± 1	43 ± 2*	46,0 ± 2
<i>Ratio temps de contraction isovolumique / temps systolique (%)</i>	14 ± 1	17 ± 1*	17 ± 1*
<i>Ratio temps d'éjection / temps systolique (%)</i>	66 ± 1	59 ± 1*	60 ± 1*
<i>Ratio temps de relaxation isovolumique / temps systolique (%)</i>	19 ± 1	23 ± 1*	22 ± 1*

Values are mean ± s.e.m., n = 8

\* p<0.05 vs Day 0

Nous avons également analysé cette phase du cycle en calculant la constante de relaxation  $\tau$ . Paradoxalement,  $\tau$  restait inchangé à J28 vs J0, indépendamment de la présence d'angiotensine II ( $17 \pm 1$  msec avec angiotensine II,  $18 \pm 1$  sans angiotensine II vs  $17 \pm 1$  à J0). Ainsi le processus de relaxation isovolumique ne s'accélère pas alors que la fréquence augmente. Afin de valider cette observation, nous avons vérifié à l'état de base (J0, donc à l'état physiologique) que la relaxation isovolumique s'accélère effectivement lorsque la fréquence cardiaque augmente dans nos

conditions expérimentales. Comme l'illustre la figure 21, la tachycardie s'accompagne bien d'une réduction du temps de relaxation isovolumique.



**Figure 21.** Relation entre temps de relaxation isovolumique et fréquence cardiaque. Paramètres mesurés à J0 avant démarrage de la perfusion d'angiotensine-II (n = 8). \* $p < 0,05$  (ANOVA)

## B. Altération de la relaxation isovolumique lors de l'administration de dobutamine

Au cours de la perfusion de dobutamine, le temps de relaxation isovolumique décroît de 18% à l'état de base et accompagne l'augmentation du triple produit (fréquence cardiaque x  $dp/dt_{max}$  x pression ventriculaire maximale). Étonnamment, cette adaptation était significativement diminuée après 4 semaines de perfusion d'angiotensine II (-11%). Ceci est renforcé par le fait que les animaux contrôles avaient montré des réponses similaires à J0 et J28 (respectivement -16% vs -17%).

## C. Analyse de la phase d'éjection

Comme l'illustre la figure 22, tout au long des 4 semaines de perfusion d'angiotensine II, le volume d'éjection, la fraction de raccourcissement et l'épaississement pariétal sont restés inchangés en présence et en l'absence d'angiotensine II entre J0 et J28. Le débit cardiaque était significativement augmenté à J28 consécutivement à la tachycardie (respectivement  $3,5 \pm 0,4$  vs  $3,3 \pm 0,5$  L/min, avec et sans angiotensine II vs  $2,7 \pm 0,3$  L/min à J0).

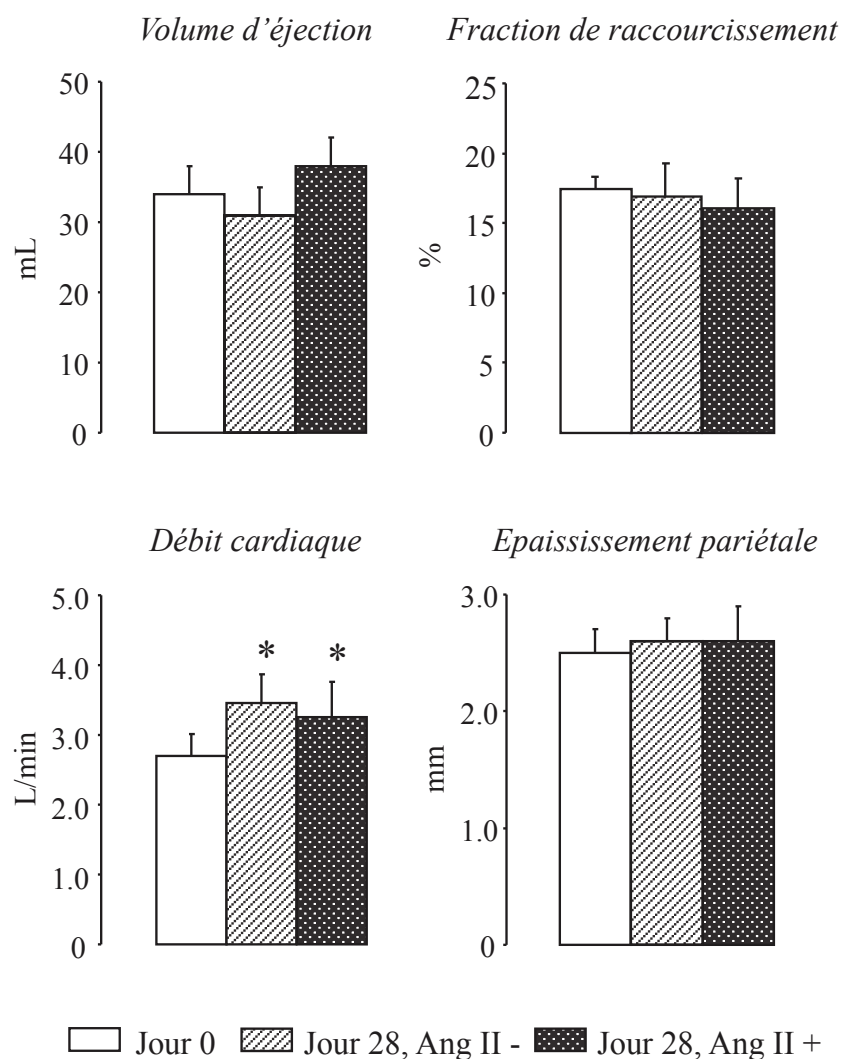
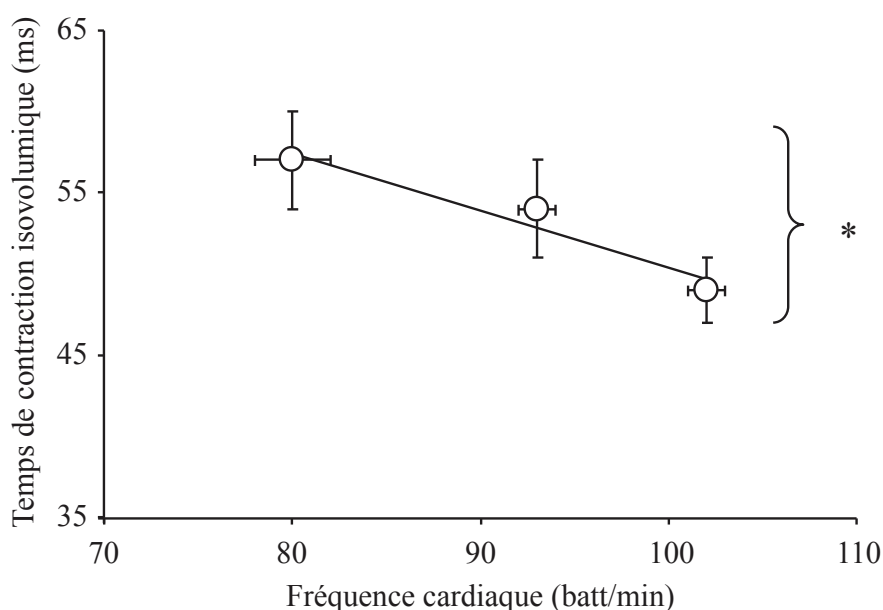


Figure 22. L'éjection chez les animaux traités par angiotensine-II. \* $p < 0,05$  vs J0 (n = 8).

#### D. Altération de la contraction isovolumique

Nous avons ensuite analysé la contraction isovolumique afin de déterminer si cette phase était également altérée au même titre que la relaxation isovolumique. En premier lieu et malgré la réduction significative de la durée du cycle cardiaque, les durées de cette phase restaient paradoxalement inchangées entre J0 et J 28 alors que la fréquence cardiaque était augmentée (Tab. 5). Ainsi nous avons observé une augmentation de 30% du ratio des temps de contraction isovolumique sur le cycle cardiaque. Le temps dévolu à la contraction isovolumique par minute était significativement augmenté de 38% (respectivement  $5,9 \pm 0,3$  vs  $4,3 \pm 0,2$  sec/min à J28 et J0). Ces modifications n'ont pas été observées chez les animaux contrôles.

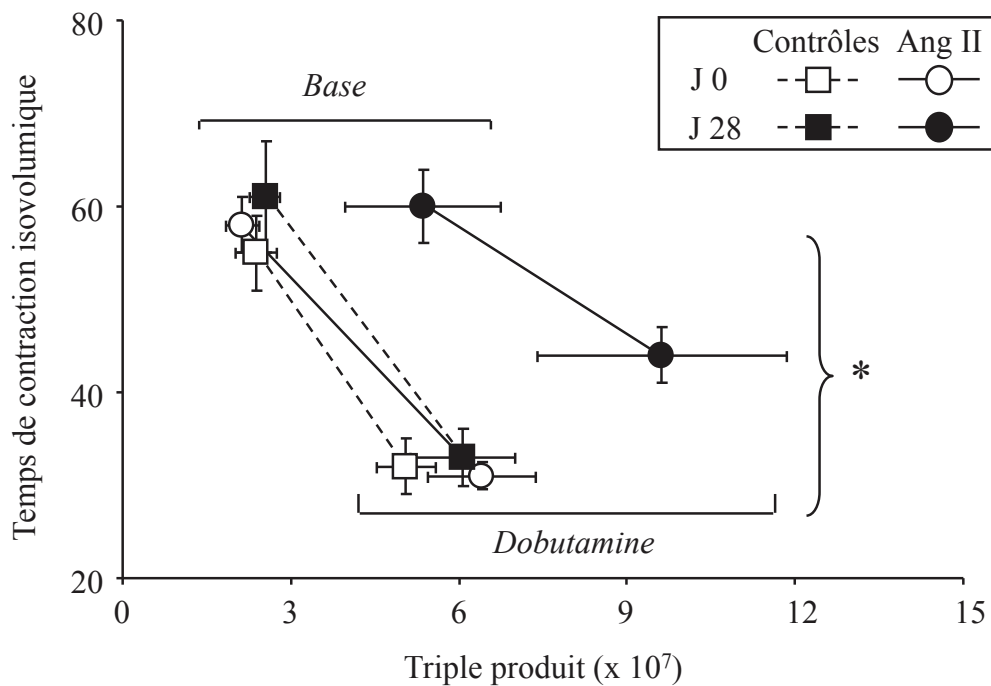
Ces mêmes paramètres ont été analysés à différents niveaux de fréquence cardiaque à l'état de base. A l'image de la relaxation isovolumique, nous avons vérifié que physiologiquement, la durée de la contraction isovolumique se réduit avec l'augmentation de la fréquence cardiaque (fig. 23). Lorsqu'il était exprimé en fonction de la durée du cycle, ce ratio reste inchangé ( $8 \pm 1$ ,  $8 \pm 1$  et  $8 \pm 1$  pour des fréquences cardiaques respectives de  $80 \pm 2$ ,  $93 \pm 1$  et  $102 \pm 1$  batt/ min), montrant la capacité d'adaptation de cette phase du cycle cardiaque. Ceci contraste avec les changements observés après 4 semaines de perfusion d'angiotensine II.



**Figure 23. Relation entre temps de contraction isovolumique et fréquence cardiaque.** Paramètres mesurés à J0 avant démarrage de la perfusion d'angiotensine-II (n = 8). \*p<0,05 (ANOVA)

## E. Altération de la contraction isovolumique lors de l'administration de dobutamine

Nous avons exploré l'évolution du temps de contraction isovolumique lors d'une perfusion de dobutamine (Fig. 24). A J0, le temps de contraction isovolumique se réduit de 45% avec l'augmentation du triple produit. Après 4 semaines de perfusion d'angiotensine II, la perfusion d'angiotensine II étant arrêtée lors de l'enregistrement, cette réponse était atténuée (- 27%). Ceci démontre une inadaptation du ventricule gauche à une stimulation chronotrope et inotrope positives. Les animaux contrôles montraient des réponses inchangées à J0 et J28 (respectivement, -42% et -44%).



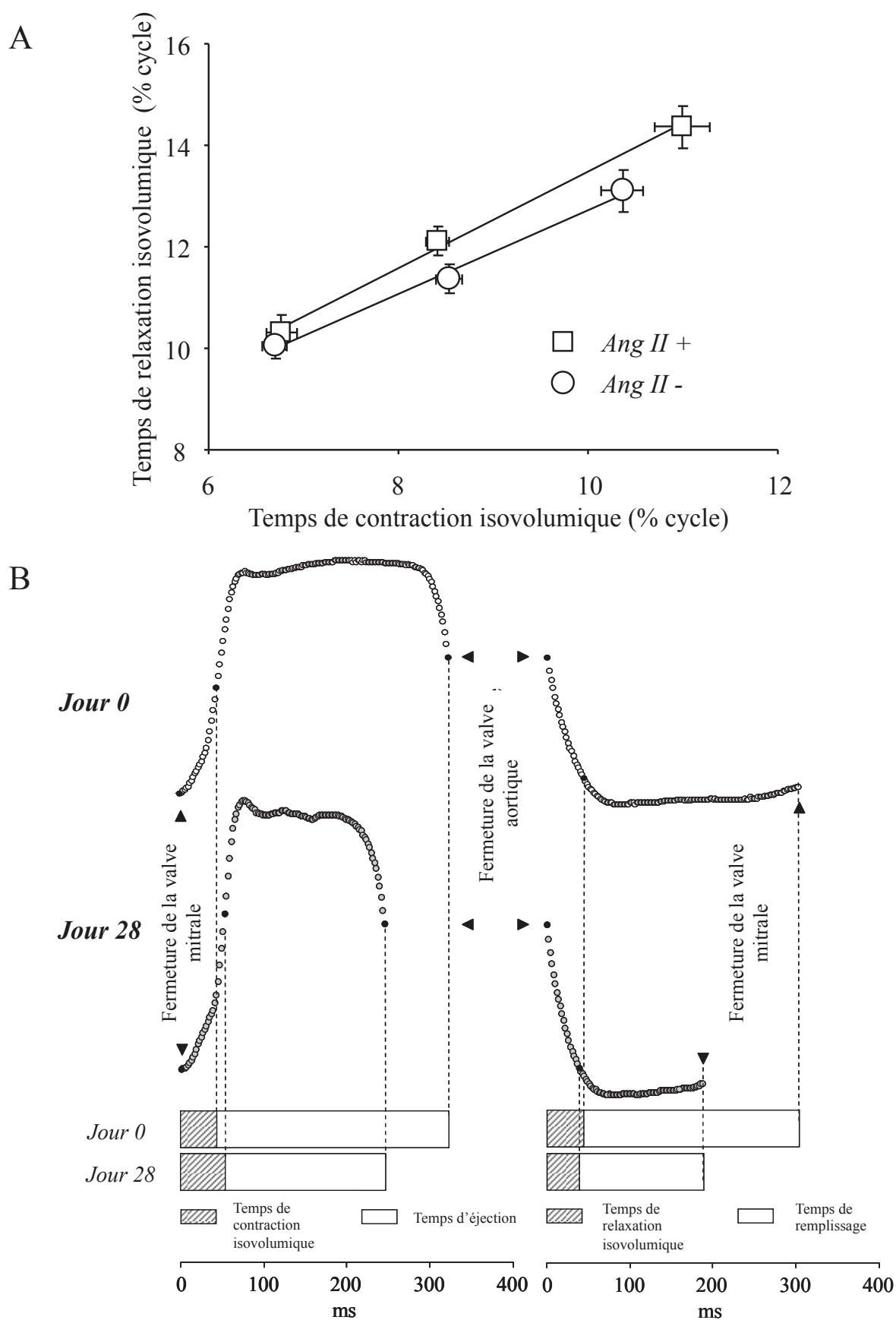
**Figure 24.** Relation entre le temps de contraction isovolumique et le triple produit  $[(Pression\ VG) * FC * dP/dt_{max}]$  en réponse à la perfusion de dobutamine. Paramètres mesurés à J0 (cercles et carrés ouverts) et à J28 (cercles et carrés pleins), la perfusion d'angiotensine-II étant suspendue (n = 6). \*p<0,05 (ANOVA)

## F. Anomalies du remplissage

Parallèlement aux altérations des contraction et relaxation isovolumiques, nous avons observé une réduction significative de la durée de remplissage (Tab. 5). Ceci n'était pas observé chez les animaux contrôles.

## G. Couplage contraction-relaxation

En se basant sur le concept du cœur comme pompe musculaire, nous avons évalué la relation contraction-relaxation dans nos conditions expérimentales. Nous avons observé une relation linéaire entre les durées de contraction et de relaxation isovolumiques (exprimées comme ratio sur la durée du cycle cardiaque) en présence et en l'absence d'angiotensine II (Fig. 24). Nous avons utilisé l'ensemble des mesures obtenues à J0, J3, J7, J14 J 21 et J28. Ceci suggère que le développement des altérations de la relaxation isovolumique s'installe concomitamment à celles de la contraction isovolumique (Fig. 25).



**Figure 25. A) Relation entre temps de contraction et relaxation isovolumiques. B) Courbes de pression ventriculaire représentatives du même phénomène.**

## IV. COMMENTAIRES

A l'aide de notre modèle d'hypertension artérielle chronique induite par la perfusion continue d'angiotensine II (sauf au moment des mesures), nous nous sommes focalisé sur la contraction et la relaxation isovolumiques. En résumé, ce travail montre une altération de la fonction ventriculaire dans ses deux composantes isovolumique, la contraction et la relaxation. Aussi bien au repos (J0 et J28) ou lors d'une administration de dobutamine, nous avons observé des réponses inappropriées des phases isovolumiques du cycle cardiaque à la suite d'augmentations de la fréquence et de l'inotropisme cardiaque. Dans nos conditions expérimentales, les pressions ventriculaires télédiastoliques n'étaient pas modifiées et aucun signe congestif n'était présent, traduisant une situation de dysfonction diastolique. Ainsi, nous avons observé :

1- une augmentation paradoxale des durées relatives de contraction et de relaxation isovolumiques lors d'une tachycardie ; dans les conditions physiologiques, il existe une adaptation se traduisant par une accélération et la réduction de la durée de ces deux périodes ;

2- des réponses anormales de la contraction et de la relaxation isovolumiques lors de l'administration de dobutamine ; de même, en condition physiologique, les phases s'accélèrent pour garder un équilibre entre les différentes périodes du cycle et pour préserver l'éjection et le remplissage ventriculaire ;

3- une étroite dépendance entre ces deux phases isovolumiques : ceci montre bien que les anomalies de ces deux phases se développent simultanément et une altération de la relaxation isovolumique s'accompagne obligatoirement de celle de la contraction dans nos conditions expérimentales.

En conclusion, si l'éjection ventriculaire n'est globalement pas altérée, la contraction isovolumique n'est pas préservée au cours de cette hypertension chronique et du processus hypertrophique. La perte de la capacité d'accélération des phases isovolumiques s'effectue au détriment du remplissage, l'éjection étant maintenue. Nos résultats montrent également que ces modifications sont intrinsèques au ventricule gauche.



# **CHAPITRE VIII : MODULATION PHARMACOLOGIQUE DU COUPLAGE CONTRACTION-RELAXATION**

Cette étude a fait l'objet d'un manuscrit soumis à publication :

*Pivotal role of increased heart rate in the deterioration left ventricular function during chronic hypertension in conscious pig.*

par Rienzo M, Melka J, Bizé A, Jozwiak M, Sambin L, Su JB, Hittinger L, Berdeaux A, Ghaleh B.

# **Pivotal role of heart rate reduction to improve left ventricular function during chronic hypertension in conscious pigs.**

Mario Rienzo, MD <sup>1,2,3,5,\*</sup> ; Jonathan Melka, MsC <sup>1,2,3,\*</sup> ; Alain Bizé, BsC <sup>1,2,3</sup> ;  
Mathieu Jozwiak, MD, <sup>1,2,3</sup> ; Lucien Sambin, BsC <sup>1,2,3</sup> ; Jin Bo Su, PhD <sup>1,2,3</sup> ,  
Luc Hittinger, MD, PhD <sup>1,2,3,4</sup> ; Alain Berdeaux, MD, PhD <sup>1,2,3,4</sup> ; Bijan Ghaleh, PhD <sup>1,2,3</sup> .

1- Inserm, U955, Equipe 03, F-94000, Créteil, France;

2- Université Paris-Est, UMR\_S955, UPEC, F-94000, Créteil, France;

3- Université Paris-Est, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, F-94700, Maisons-Alfort, France;

4- AP-HP, Groupe Hospitalier Henri Mondor, Fédération de Cardiologie, F-94000, Créteil, France

5- AP-HP, Hôpital Européen Georges Pompidou, Service d'Anesthésie-Réanimation Chirurgicale, F-75015, Paris, France

\* : both author equally contributed

*Author for correspondence*

Pr Bijan GHALEH

INSERM U 955 Equipe 03

Faculté de Médecine

8 rue du Général Sarrail

94000 Créteil

Tel : +33-1-49.81.37.84

Fax : +33-1-49.81.37.97

### Abstract

**Objectives:** we investigated the effects of acute selective HR reduction with ivabradine on Left ventricular (LV) dysfunction during chronic hypertension.

**Background:** during chronic hypertension, increases in heart rate or adrenergic stimulation induce maladaptive LV responses with paradoxical lack of reduction in isovolumic contraction and relaxation durations, impeding LV filling.

**Methods:** 8 chronically instrumented pigs received continuous angiotensin II infusion during 4 weeks to induce chronic hypertension. A single intravenous dose of ivabradine was administered at Day 0 and Day 28. The effects of dobutamine were also investigated.

**Results:** Heart rate was significantly increased at Day 28 *vs* Day 0 ( $104\pm 6$  *vs.*  $75\pm 2$  beats/min, respectively). Paradoxically, both isovolumic contraction and relaxation times failed to reduce and remained unchanged ( $60\pm 3$  *vs.*  $54\pm 3$  ms at Day 0 and  $72\pm 3$  *vs.*  $77\pm 2$  at Day 0, respectively). At Day 28, ivabradine reduced heart rate to respective baseline value of Day 0 ( $77\pm 3$  *vs.*  $75\pm 2$  beats/min, respectively). Concomitantly, both isovolumic contraction and relaxation times were significantly reduced (-17% and -11%, respectively) while LV filling time was improved. Similarly at Day 28, maladaptive responses of isovolumic contraction and relaxation to dobutamine were overcome by heart rate reduction with ivabradine.

**Conclusion:** acute HR reduction with ivabradine corrects the maladaptive responses of cardiac cycle phases during chronic hypertension by restoring a normal profile for isovolumic contraction and relaxation both at rest and under stress stimuli, ultimately favouring LV filling. This demonstrates the pivotal role of controlling HR to avoid the deterioration of LV function.

**Key words:** isovolumic contraction, diastolic dysfunction, hypertension

### **Condensed abstract**

During chronic hypertension, increases in heart rate (HR) or adrenergic stimulation induce maladaptive left ventricular responses with paradoxical lack of reduction in isovolumic contraction and relaxation durations, impeding LV filling. We investigated acute selective HR reduction with ivabradine on LV during chronic hypertension induced by continuous infusion of angiotensin II in chronically instrumented pigs. Ivabradine corrects the maladaptive responses of cardiac cycle phases during chronic hypertension by restoring a normal profile for isovolumic contraction and relaxation both at rest and under dobutamine, favouring LV filling. This demonstrates the pivotal role of controlling HR to avoid the deterioration of LV function.

## Introduction

There is a growing interest in investigation of the link between left ventricular (LV) diastolic dysfunction and heart failure with preserved ejection fraction (HF-pEF) (Borlaug and Redfield 2011; De Keulenaer and Brutsaert 2011; Paulus and Tschope 2013). In this setting, we previously developed a swine model of diastolic dysfunction with preserved ejection but devoid of any sign of heart failure (Rienzo, Bize et al. 2012). In the normal heart, the reduction of isovolumic contraction and relaxation durations is a physiological response to increase in heart rate (HR). This allows the heart to maintain a constant and controlled balance among the different phases of cardiac cycle for favouring both LV ejection and filling (Lance and Spodick 1975; Kobayashi, Kotilainen et al. 1979; Miyamoto, Higuchi et al. 1983). In conscious instrumented pigs, we evaluated LV function during chronic hypertension and hypertrophy induced by continuous infusion of angiotensin II. Although no clinical signs of heart failure were present and ejection was preserved, we observed early and simultaneous maladaptive LV responses to chronotropic and inotropic stimuli that altered diastolic filling time. The maladaptive LV responses displayed as (1) the lack of reduction in isovolumic contraction and relaxation durations as HR increases and (2) abnormally blunted isovolumic contraction and relaxation responses to dobutamine infusion. These observations led us to consider a pivotal role of increased HR in the deterioration of LV function during chronic hypertension.

Accordingly, our objective was to investigate the effects of acute selective HR reduction with the  $I_f$ -channel blocker ivabradine (Thollon, Cambarrat et al. 1994) on LV dysfunction in our chronic hypertensive pig model because this drug has the advantage that it does not modify atrioventricular or intraventricular conduction, inotropy and lusitropy in animals and humans (Simon, Ghaleh et al. 1995; Bois, Bescond et al. 1996; Colin, Ghaleh et al. 2004;

Vilaine 2006). Moreover, whether HR should be increased or decreased during diastolic dysfunction and heart failure with preserved ejection fraction remains matter of debate. On the one hand, reducing HR could severely impair cardiac output by reducing the number of filling cycles per minute and rate-adaptive cardiac pacing is proposed (Borlaug and Kass 2006). On the other hand, reduction in HR could facilitate diastolic filling by prolonging diastolic period (Colin, Ghaleh et al. 2002; Monnet, Colin et al. 2004), improving arterioventricular coupling (Reil and Bohm 2007) or reducing myocardial ischemia (Monnet, Ghaleh et al. 2006; Heusch, Skyschally et al. 2008). Here we hypothesized that selective HR reduction with ivabradine could restore a normal balance between the different phases of the cardiac cycle by normalizing the acceleration of isovolumic contraction and relaxation times in response to stress. Through this mechanism, ivabradine could improve LV function at rest and avoid its deterioration during combined inotropic and chronotropic stimulation.

## Methods

The experiments were conducted in accordance with the French regulations concerning the use of animals in research and were agreed by the local animal ethical committee [ComEth AFSSA-ENVA-UPEC agreement #11-0059]

### *Surgical instrumentation*

Under anesthesia, eight female pigs (20–30 kg) underwent left thoracotomy. Fluid-filled Tygon catheters were implanted in the descending thoracic aorta, in the left atrium and in the pulmonary artery for measurement of arterial blood pressure and angiotensin II infusion. A solid-state pressure transducer (Konigsberg Instruments, Pasadena, CA) was introduced into LV. A flow probe (Transonic Systems Inc, Ithaca, NY) was implanted around the aortic root. Piezoelectric crystals were implanted 1) on opposed LV anterior and posterior endocardial surfaces to measure LV internal diameter, and 2) on opposed LV endocardial and epicardial surfaces to measure wall thickness. All catheters and wires were exteriorized between the scapulae. Animals were sedated with diazepam (0.2-0.4 mg/kg iv) for postoperative care. Enrofloxacin (2 mg/kg/day, im) and long acting amoxicillin (15 mg/kg every two days, im) were administered during ten days after surgery. Buprenorphine (0.3 mg sc) was administered during five days after surgery. The position of all catheters and crystals was confirmed at autopsy.

### *Hemodynamic measurements*

All hemodynamic data were digitized, recorded, and analysed using HEM v4.2 software (Notocord Systems, Croissy sur Seine, France). Aortic and left atrial pressures were measured with P23XL pressure transducers (Becton-Dickinson, Franklin Lakes, NJ, USA). Cardiac output was measured using a T206 blood flow-meter (Transonic Systems Inc., Ithaca, NY,

USA). LV pressure was cross-calibrated with the left atrial and aortic pressures. Change in LV pressure over time (dP/dt) was computed from the LV pressure signal. Wall thickening was defined as end-systolic minus end-diastolic wall thickness. The signals of LV wall thickness, LV internal diameter and aortic flow were suitable in 4, 5 and 6 of the 8 instrumented pigs, respectively.

LV end-diastole was defined as the initiation of the upstroke of LV pressure tracing after atrial contraction and indicated by the initial increase in LV dP/dt. Aortic valve opening and closure were identified by crossing LV and aortic pressure waveforms. The isovolumic contraction time was defined as the time interval between end-diastole and aortic valve opening. The ejection time was defined as the time interval between aortic valve opening and closure. Mitral valve opening was identified by crossing LV and atrial pressure waveforms identified mitral valve opening. The isovolumic relaxation period was defined as the period elapsed from aortic valve closure and mitral valve opening. The filling period was computed from the end of isovolumic relaxation to end-diastole.

### *Protocol*

The experiments were conducted 2-3 weeks after surgery when pigs were healthy and afebrile. All animals were studied in conscious state staying in a sling. Protocol is shown in Figure 1. At Day 0, a first set of recordings was performed at baseline and during infusion of dobutamine (10  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ , 5 min). Then, these responses were again evaluated after intravenous injection of ivabradine (1 mg/kg iv bolus).

Thereafter, and as previously described (Rienzo, Bize et al. 2012), the animals received a continuous angiotensin II infusion (30 ng/kg/min) during 4 weeks using external peristaltic portable pumps to induce hypertension. In these conditions, the animals developed LV hypertrophy (LV to body weight at  $3.9 \pm 0.2$ ). At Day 28, responses to dobutamine were



again evaluated before and after administration of ivabradine. These recordings were performed 1h after stopping the angiotensin II infusion in order to minimize the impact of changes in loading conditions, *i.e.*, to evaluate the intrinsic LV contractile properties. Each animal served as its own control.

#### *Data and statistical analyses*

All results are means  $\pm$  SEM. Statistical analysis was performed using two-way analyses of variance (ANOVA) for repeated measures with drug effect, time effect and time\*drug interaction. Individual comparisons were performed by Student's *t*-test. Differences were considered significant for  $P < 0.05$  and the tests were two-sided. The statistical analysis was performed with StatView version 5.0 (Abacus Concept, Berkeley, CA).

## Results

### Changes in hemodynamic and cycle time intervals in resting conditions at Day 0 and Day 28

Hemodynamic parameters measured in basal conditions and in response to dobutamine at Day 0 and after four weeks of continuous angiotensin-II infusion (Day 28) are shown in Table 1. All these parameters were obtained in the absence of angiotensin II. According to our previous findings (Rienzo, Bize et al. 2012), HR was increased by 39% at Day 28 vs Day 0, while mean arterial pressure and systolic LV pressure were similar. As a result of increase in HR, cardiac output tended to increase. Under dobutamine infusion, basal HR was significantly increased by 25% at Day 0 and by 14% at Day 28. At Day 0 but not at Day 28, dobutamine lowered mean arterial pressure while systolic LV pressure was unchanged. LV  $dP/dt_{max}$  was significantly increased at Day 28 vs Day 0 in basal conditions and dobutamine exerted similar inotropic effects at both time points.

Regarding cardiac cycle time intervals, as a result of increased heart rate (Figure 2), total cycle, ejection and filling times were significantly reduced. Paradoxically, as shown in Table 3 and in agreement with our previous findings (Rienzo, Bize et al. 2012), both isovolumic contraction and relaxation times failed to reduce and remained unchanged. Therefore the time devoted to isovolumic contraction and relaxation phases during each minute increased by 44% and 28% respectively ( $6.2 \pm 0.3$  vs.  $4.3 \pm 0.3$  s/min and  $7.4 \pm 0.4$  vs.  $5.8 \pm 0.2$  s/min, at Day 28 vs. Day 0, respectively). Ejection time was unchanged ( $20.0 \pm 0.8$  vs.  $20.7 \pm 0.8$  s/min) whereas filling time was reduced ( $26.3 \pm 1.6$  vs.  $31.3 \pm 1.4$  s/min).

At Day 0, under dobutamine infusion, isovolumic contraction and relaxation times decreased by 45% and 22%, respectively, with the normal increase in triple product of HR, LV  $dP/dt_{max}$  and LV peak pressure (Figure 3). Similar results were obtained by examining the

relationships between these time intervals and HR alone. At Day 28, isovolumic contraction and relaxation phases failed to properly adapt to dobutamine administration as their responses were blunted (33% and 7% respectively) (Figure 3).

All these results observed both at rest and after dobutamine at Day 28 *vs.* Day 0 show a maladaptive response to chronotropic and inotropic stimulation of these chronic hypertensive hearts which are unable to reduce isovolumic contraction and relaxation times. As a consequence, LV filling was impeded as the time devoted to this phase was reduced.

#### *Selective heart rate reduction in resting conditions*

We next examined whether selective HR reduction might correct the above mentioned abnormalities. As shown in Table 2 and as expected, at Day 0, ivabradine significantly reduced HR by 24%. Values of LV peak pressure and LV  $dp/dt_{max}$  were not significantly different at baseline *vs.* after ivabradine. As a result of HR reduction, LV end-diastolic wall thickness was reduced and LV end-diastolic internal diameter was increased. Concomitantly, we observed increases in LV wall thickening and fractional shortening.

At Day 28, administration of ivabradine produced similar HR reduction (-26%) *vs.* Day 0 (-24%). The effects on general hemodynamic and dimensions were not significantly different from those observed at Day 0. Significant interaction with ANOVA detected more pronounced reduction in LV end-diastolic wall thickness at Day 28.

Regarding time intervals (Table 3), administration of ivabradine at Day 0 significantly increased total cycle time while leaving ejection time unchanged. Concomitantly, both isovolumic and relaxation time were significantly reduced (-17% and -11%, respectively). As a consequence, filling time rose by 70%. At Day 28, ivabradine induced similar effects on isovolumic contraction and relaxation (-23%, -7%, respectively) while ejection time remained

unchanged. Significant interaction was detected with ANOVA for filling time yielding a greater effect of ivabradine at Day 28 vs. Day 0 (+75% vs. +68%, respectively).

These results show that HR reduction favourably modifies the distribution of time periods of cardiac cycle by preserving the ejection period, reducing both isovolumic contraction and relaxation phases and finally increasing the time devoted to filling. Interestingly, HR values at Day 28 after ivabradine were similar to Day 0 at baseline ( $77\pm 3$  and  $75\pm 3$  beats/min, respectively). Therefore we examined the effects of this acute selective HR reduction on the different time phases of cardiac cycle. While total cycle time remained unchanged between these two conditions ( $793\pm 35$  vs.  $839\pm 35$  ms for ivabradine at Day 28 vs. baseline at Day 0), we observed that isovolumic contraction and relaxation times were significantly lower at Day 28 after ivabradine than the corresponding ones at Day 0 (baseline). Concomitantly, ejection time was lower and filling time was greater ( $465\pm 29$  vs.  $425\pm 26$  ms, respectively). As illustrated in Figure 4, selective heart rate reduction abolished the abnormal LV behaviour observed at baseline of Day 28.

#### *Selective heart rate reduction during dobutamine infusion*

As selective HR reduction showed favourable influence on cycle phases at baseline, we next investigated the combination of ivabradine and dobutamine. Interestingly, we observed that HR values under the combination of ivabradine plus dobutamine at Day 28 were similar to those observed under dobutamine alone at Day 0 (Table 4). As shown in Table 4 and Figure 5, we observed that isovolumic contraction and relaxation times were similar while filling period was prolonged. This indicates that HR reduction corrected the maladaptive response of isovolumic phases. Taken together, these results show that under chronotropic and inotropic stimulation with dobutamine, HR reduction by ivabradine favourably modifies

the distribution of time periods of cardiac cycle by normalizing both isovolumic phases and finally increasing the time devoted to filling.

## Discussion

In the present study, selective HR reduction with acute administration of the  $I_f$ -channel selective blocker ivabradine reversed the LV maladaptive responses induced by chronic hypertension. In this pig hypertensive model, (Rienzo, Bize et al. 2012), paradoxical prolonged isovolumic contraction and relaxation times were abolished by selective HR reduction. Indeed, their durations were normalized both at baseline and during chronotropic and inotropic stimulation with dobutamine, which contributes to the increase in LV filling time and preservation of LV ejection during chronic hypertension. These results indicate a pivotal role of increased HR in the deterioration in LV function and HR reduction as a mean to preserve LV performance.

We previously showed that the swine model of chronic hypertension induced by chronic angiotensin II infusion is characterized by preserved ejection but simultaneous contraction and relaxation abnormalities which are tightly coupled (Rienzo, Bize et al. 2012). We believe that this symmetry between contraction and relaxation is in accordance with the concept of the heart as a muscular pump rather than a hydraulic pump (Brutsaert 2006), which explains the presence of subtle contraction alterations although the ejection fraction is preserved. In the present study, we confirmed our previous results and observed paradoxical increases in isovolumic contraction and relaxation times when HR and myocardial contractility were increased by dobutamine. In addition, while ejection time was preserved, the filling was hampered with the consecutive reduction of its duration.

Several classical physiological reports have clearly shown that a tuned balance exists between HR and cardiac cycle phases in order to optimize ventricular ejection (Lance and Spodick 1975; Abdullah, Siddiqui et al. 1977; Frey and Kenney 1979; Kobayashi, Kotilainen et al. 1979; Miyamoto, Higuchi et al. 1983). When HR increases, ejection time exhibits a

different pattern than isovolumic contraction, and relaxation or filling times. As previously observed, isovolumic contraction and relaxation as well as filling times proportionally decreased while ejection time is preserved when HR increases above 70 bpm (Van Der Hoeven, Clerens et al. 1977; Colin, Ghaleh et al. 2004). In pathological situations, this balance is lost (De Scalzi, De Leonardis et al. 1986) and this can be unmasked under stress conditions. In our experimental conditions, the loss of this balance among cardiac phases was supported by abnormal behaviour of isovolumic contraction and relaxation when heart rate was increased. Because heart rate has a pivotal role in adapting cardiac output to metabolic demands by tuning all these cardiac phases, it could stand as an elective target in cardiovascular therapeutics (Levine and Stray-Gundersen 1997; Reil and Bohm 2007; Heusch 2011). In this respect, selective HR by  $I_f$ -channel inhibition with ivabradine has been proposed in several pathological conditions such as myocardial ischemia or heart failure (Swedberg, Komajda et al. 2010). However, it is also thought that HR reduction is not to useful because it would severely impair cardiac output by reducing the number of filling cycles per minute and in this regard, the rate-adaptive cardiac pacing is rather proposed (Borlaug and Kass 2006).

Taking into account all these considerations, we examined in the present study the effects of acute HR reduction with ivabradine to test the hypothesis that selective HR reduction could normalize the balance between the different phases of the cardiac cycle. Ivabradine has several advantages upon other bradycardic agents as it modifies neither LV contractility (Ferro, Spinelli et al. 1991; Simon, Ghaleh et al. 1995), nor mean ventricular stress during ejection (Colin, Ghaleh et al. 2002) and preserves ventricular relaxation unlike beta-blockers (Gaasch, Blaustein et al. 1980; Cheng, Freeman et al. 1990; Colin, Ghaleh et al. 2002). HR reduction exhibits also powerful anti-ischemic action (Guth, Heusch et al. 1987;

Indolfi, Guth et al. 1989; Monnet, Ghaleh et al. 2001; Fang, Debunne et al. 2012) and increases diastolic coronary perfusion time (Colin, Ghaleh et al. 2004).

In this study, HR reduction with ivabradine decreased isovolumic contraction and relaxation times in resting conditions. Moreover we compared their respective values observed at baseline at Day 0 *vs.* after ivabradine at Day 28, *i.e.*, when heart rate values were matched, we found that these two isovolumic times were restored and their ratios were normalized while ejection time was not altered but filling time was improved. These beneficial effects were also observed under dobutamine. When comparing matched HR conditions under dobutamine (dobutamine at Day 0 *vs.* dobutamine plus ivabradine at Day 28), a single dose of ivabradine restored the response of these two isovolumic times and normalized their ratio. We chose acute administration in order to avoid the known long-terms effects of ivabradine such as the modulation of the inflammatory response and collagen turnover (Custodis, Baumhakel et al. 2008; Becher, Lindner et al. 2012), atherosclerosis (Rogowski, Shapira et al. 2007; Dominguez-Rodriguez, Blanco-Palacios et al. 2011; Schirmer, Degen et al. 2012), modulation of cardiac apoptosis and LV hypertrophy (Reil, Hohl et al. 2012; Yue-Chun, Teng et al. 2012) or changes in protein expression (Couvreur, Tissier et al. 2010). Therefore our results are rather the mechanical consequence of pure heart rate reduction although we cannot rule out other pleiotropic effects (Heusch 2008). Such acute mechanical effect of ivabradine is in agreement with previous findings showing that acute HR reduction has a favourable effect on the depressed wall thickening and increased post-systolic wall thickening during post-ischemic myocardial stunning (Monnet, Ghaleh et al. 2001; Lucats, Ghaleh et al. 2007). Thus it appears that HR reduction *per se* is sufficient to modify the balance between the different time phases among the cardiac cycle.



Previous experimental studies explored ivabradine in small animals with LV dysfunction induced by angiotensin-II infusion with osmotic pumps (Becher, Lindner et al. 2012), aortic banding (Ciobotaru, Heimburger et al. 2008), diabetes with *db/db* mice (Reil, Hohl et al. 2012) or hypercholesterolemia (Busseuil, Shi et al. 2010) and reported favourable effects of chronic HR reduction. Among these studies, the two hypertensive models and that associated with diabetes evolved in global heart failure whereas the dyslipidaemic one developed “pure” diastolic dysfunction. Our experimental setting is the first one to test the mechanical consequences of acute administration of ivabradine in large animals displaying LV dysfunction without ischemic heart disease and without heart failure. Our results are in line with a recent clinical study showing a beneficial effect of short-course ivabradine administration on exercise tolerance and LV function, especially LV filling, in patients with HFpEF (Kosmala, Holland et al. 2013). Although speculative, the results of this study could contribute to explain these improvements considering that the overall administration period lasted only one week in this clinical study. In addition, our results showed that maladaptive responses of isovolumic phases to adrenergic stimulation are normalized by ivabradine. This may be the basis for further investigations concerning the combination of HR reduction with ivabradine and inotropic stimulation to overcome the adverse effects of adrenergic stimulation on isovolumic phases of cardiac cycle. It is tempting to speculate that combining dobutamine and ivabradine, *i.e.*, coupling positive inotropic and time cycle redistributing properties, respectively, may improve LV function in HFpEF patients with signs of cardiac failure (Roubille, Lattuca et al. 2013). Finally, the tight coupling of isovolumic contraction and relaxation observed here further supports the concept of muscular pump (Brutsaert 2006) as a basis for investigating the heart.

In conclusion, acute HR reduction with ivabradine restores normal LV function in a large animal model of chronic hypertension with preserved ejection and without any sign of

cardiac failure. Selective HR reduction allowed to correct the maladaptive responses of cardiac cycle phases that occur during chronic hypertension and which may contribute to jeopardize LV function. This correction is made possible by restoring a normal profile for isovolumic contraction and relaxation both at rest and under stress stimuli. This redistribution among the cardiac phases ultimately favours LV filling. Thus, our results demonstrates the beneficial effects of selective HR reduction during LV dysfunction of hypertensive hearts and shows the pivotal role of controlling HR to avoid the deterioration of LV function.

### **Source of funding**

This work was supported by grants from INSERM (Mario Rienzo, poste d'accueil 2008), the Société Française d'Hypertension Artérielle (2010), the Fondation de l'Avenir (ET9-529, ET2-648), the Région Ile de France (CODDIM) and UPEC (Université Paris Est Créteil).

### **Acknowledgements**

We thank the Laboratoire Roche for providing diazepam (Valium®) and Servier for the gift of ivabradine.

### **Conflict of interest**

Alain Berdeaux has received honoraria for lectures and has served as consultant to Servier. The other authors have no conflict of interest to declare. No pharmaceutical grant was associated with this work.

### References

- Abdullah, A. K., M. A. Siddiqui, et al. (1977). "Systolic time intervals in chronic anemia." *Am Heart J* **94**(3): 287-291.
- Becher, P. M., D. Lindner, et al. (2012). "Role of heart rate reduction in the prevention of experimental heart failure: comparison between If-channel blockade and beta-receptor blockade." *Hypertension* **59**(5): 949-957.
- Bois, P., J. Bescond, et al. (1996). "Mode of action of bradycardic agent, S 16257, on ionic currents of rabbit sinoatrial node cells." *Br J Pharmacol* **118**(4): 1051-1057.
- Borlaug, B. A. and D. A. Kass (2006). "Mechanisms of diastolic dysfunction in heart failure." *Trends Cardiovasc Med* **16**(8): 273-279.
- Borlaug, B. A. and M. M. Redfield (2011). "Diastolic and systolic heart failure are distinct phenotypes within the heart failure spectrum." *Circulation* **123**(18): 2006-2013; discussion 2014.
- Brutsaert, D. L. (2006). "Cardiac dysfunction in heart failure: the cardiologist's love affair with time." *Prog Cardiovasc Dis* **49**(3): 157-181.
- Busseuil, D., Y. Shi, et al. (2010). "Heart rate reduction by ivabradine reduces diastolic dysfunction and cardiac fibrosis." *Cardiology* **117**(3): 234-242.
- Cheng, C. P., G. L. Freeman, et al. (1990). "Effect of loading conditions, contractile state, and heart rate on early diastolic left ventricular filling in conscious dogs." *Circ Res* **66**(3): 814-823.
- Ciobotaru, V., M. Heimburger, et al. (2008). "Effect of long-term heart rate reduction by If current inhibition on pressure overload-induced heart failure in rats." *J Pharmacol Exp Ther* **324**(1): 43-49.
- Colin, P., B. Ghaleh, et al. (2002). "Differential effects of heart rate reduction and beta-blockade on left ventricular relaxation during exercise." *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **282**(2): H672-679.
- Colin, P., B. Ghaleh, et al. (2004). "Effect of graded heart rate reduction with ivabradine on myocardial oxygen consumption and diastolic time in exercising dogs." *J Pharmacol Exp Ther* **308**(1): 236-240.
- Couvreur, N., R. Tissier, et al. (2010). "Chronic heart rate reduction with ivabradine improves systolic function of the reperfused heart through a dual mechanism involving a direct mechanical effect and a long-term increase in FKBP12/12.6 expression." *Eur Heart J* **31**(12): 1529-1537.
- Custodis, F., M. Baumhakel, et al. (2008). "Heart rate reduction by ivabradine reduces oxidative stress, improves endothelial function, and prevents atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice." *Circulation* **117**(18): 2377-2387.
- De Keulenaer, G. W. and D. L. Brutsaert (2011). "Systolic and diastolic heart failure are overlapping phenotypes within the heart failure spectrum." *Circulation* **123**(18): 1996-2004; discussion 2005.

- De Scalzi, M., V. De Leonardis, et al. (1986). "Relationship between systolic time intervals and arterial blood pressure." Clin Cardiol **9**(11): 545-549.
- Dominguez-Rodriguez, A., G. Blanco-Palacios, et al. (2011). "Increased heart rate and atherosclerosis: potential implications of ivabradine therapy." World J Cardiol **3**(4): 101-104.
- Fang, Y., M. DeBunne, et al. (2012). "Heart rate reduction induced by the if current inhibitor ivabradine improves diastolic function and attenuates cardiac tissue hypoxia." J Cardiovasc Pharmacol **59**(3): 260-267.
- Ferro, G., L. Spinelli, et al. (1991). "Diastolic perfusion time at ischemic threshold in patients with stress-induced ischemia." Circulation **84**(1): 49-56.
- Frey, M. A. and R. A. Kenney (1979). "Systolic time intervals during combined hand cooling and head-up tilt." Aviat Space Environ Med **50**(3): 218-222.
- Gaasch, W. H., A. S. Blaustein, et al. (1980). "Myocardial relaxation. II. Hemodynamic determinants of rate of left ventricular isovolumic pressure decline." Am J Physiol **239**(1): H1-6.
- Guth, B. D., G. Heusch, et al. (1987). "Elimination of exercise-induced regional myocardial dysfunction by a bradycardiac agent in dogs with chronic coronary stenosis." Circulation **75**(3): 661-669.
- Heusch, G. (2008). "Pleiotropic action(s) of the bradycardic agent ivabradine: cardiovascular protection beyond heart rate reduction." Br J Pharmacol **155**(7): 970-971.
- Heusch, G. (2011). "Heart rate and heart failure. Not a simple relationship." Circ J **75**(2): 229-236.
- Heusch, G., A. Skyschally, et al. (2008). "Improvement of regional myocardial blood flow and function and reduction of infarct size with ivabradine: protection beyond heart rate reduction." Eur Heart J **29**(18): 2265-2275.
- Indolfi, C., B. D. Guth, et al. (1989). "Mechanisms of improved ischemic regional dysfunction by bradycardia. Studies on UL-FS 49 in swine." Circulation **80**(4): 983-993.
- Kobayashi, K., P. W. Kotilainen, et al. (1979). "Cardiac responses to impulse exercise and recovery: systolic time intervals." Eur J Cardiol **10**(6): 453-473.
- Kosmala, W., D. J. Holland, et al. (2013). "Effect of If-channel Inhibition on Hemodynamics and Exercise Tolerance in Heart Failure with Preserved Ejection Fraction: A Randomized Trial." J Am Coll Cardiol.
- Lance, V. Q. and D. H. Spodick (1975). "Constant-load versus heart rate-targeted exercise: responses of systolic intervals." J Appl Physiol **38**(5): 794-800.
- Levine, B. D. and J. Stray-Gundersen (1997). "'Living high-training low': effect of moderate-altitude acclimatization with low-altitude training on performance." J Appl Physiol **83**(1): 102-112.

- Lucats, L., B. Ghaleh, et al. (2007). "Conversion of post-systolic wall thickening into ejectional thickening by selective heart rate reduction during myocardial stunning." Eur Heart J **28**(7): 872-879.
- Miyamoto, Y., J. Higuchi, et al. (1983). "Dynamics of cardiac output and systolic time intervals in supine and upright exercise." J Appl Physiol **55**(6): 1674-1681.
- Monnet, X., P. Colin, et al. (2004). "Heart rate reduction during exercise-induced myocardial ischaemia and stunning." Eur Heart J **25**(7): 579-586.
- Monnet, X., B. Ghaleh, et al. (2001). "Effects of heart rate reduction with ivabradine on exercise-induced myocardial ischemia and stunning." J Pharmacol Exp Ther **299**(3): 1133-1139.
- Monnet, X., B. Ghaleh, et al. (2006). "Phenotypic adaptation of the late preconditioned heart: myocardial oxygen consumption is reduced." Cardiovasc Res **70**(2): 391-398.
- Paulus, W. J. and C. Tschope (2013). "A novel paradigm for heart failure with preserved ejection fraction: comorbidities drive myocardial dysfunction and remodeling through coronary microvascular endothelial inflammation." J Am Coll Cardiol **62**(4): 263-271.
- Reil, J. C. and M. Bohm (2007). "The role of heart rate in the development of cardiovascular disease." Clin Res Cardiol **96**(9): 585-592.
- Reil, J. C., M. Hohl, et al. (2012). "Heart rate reduction by If-inhibition improves vascular stiffness and left ventricular systolic and diastolic function in a mouse model of heart failure with preserved ejection fraction." Eur Heart J.
- Rienzo, M., A. Bize, et al. (2012). "Impaired left ventricular function in the presence of preserved ejection in chronic hypertensive conscious pigs." Basic Res Cardiol **107**(6): 298.
- Rogowski, O., I. Shapira, et al. (2007). "Heart rate and microinflammation in men: a relevant atherothrombotic link." Heart **93**(8): 940-944.
- Roubille, F., B. Lattuca, et al. (2013). "Is ivabradine suitable to control undesirable tachycardia induced by dobutamine in cardiogenic shock treatment?" Med Hypotheses **81**(2): 202-206.
- Schirmer, S. H., A. Degen, et al. (2012). "Heart-rate reduction by If-channel inhibition with ivabradine restores collateral artery growth in hypercholesterolemic atherosclerosis." Eur Heart J **33**(10): 1223-1231.
- Simon, L., B. Ghaleh, et al. (1995). "Coronary and hemodynamic effects of S 16257, a new bradycardic agent, in resting and exercising conscious dogs." J Pharmacol Exp Ther **275**(2): 659-666.
- Swedberg, K., M. Komajda, et al. (2010). "Ivabradine and outcomes in chronic heart failure (SHIFT): a randomised placebo-controlled study." Lancet **376**(9744): 875-885.
- Thollon, C., C. Cambarrat, et al. (1994). "Electrophysiological effects of S 16257, a novel sino-atrial node modulator, on rabbit and guinea-pig

- cardiac preparations: comparison with UL-FS 49." Br J Pharmacol **112**(1): 37-42.
- Van Der Hoeven, G. M., P. J. Clerens, et al. (1977). "A study of systolic time intervals during uninterrupted exercise." Br Heart J **39**(3): 242-254.
- Vilaine, J. P. (2006). "The discovery of the selective I(f) current inhibitor ivabradine. A new therapeutic approach to ischemic heart disease." Pharmacol Res **53**(5): 424-434.
- Yue-Chun, L., Z. Teng, et al. (2012). "Comparison of effects of ivabradine versus carvedilol in murine model with the Cocksackievirus B3-induced viral myocarditis." PLoS One **7**(6): e39394.

## Figure legends

### Figure 1

Experimental protocol

### Figure 2

Total cycle, ejection, filling, isovolumic contraction and isovolumic relaxation times were evaluated at Day 0 (open bars) and Day 28 (grey bars). \*,  $P < 0.05$  vs Day 0 (n=8).

### Figure 3

Relationship between triple product (heart rate x LV  $dp/dt_{max}$  x LV pressure) (left) or heart rate (right) vs isovolumic contraction time (upper panel) or isovolumic relaxation time (lower panel) measured at baseline (circles) and in response to dobutamine (10  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ ) (squares). Responses were evaluated at Day 0 (open symbols) and at Day 28 (closed). Changes in isovolumic contraction and relaxation times were significantly reduced at Day 28 (significant interaction detected by ANOVA when analysing these time periods) (n=8).

### Figure 4

Isovolumic contraction, isovolumic relaxation, ejection and filling times were evaluated at baseline at Day 0 (open circles) and at Day 28 before (open square) and after administration of ivabradine (1 mg/kg) (closed square). \*,  $P < 0.05$  vs. corresponding Day 0 (n=8); †,  $P < 0.05$  vs. corresponding baseline at Day 28 (n=8).



Figure 5

Cycle times were analyzed under matched heart rate conditions. Isovolumic contraction, isovolumic relaxation, ejection and filling times heart rate were evaluated under dobutamine (10  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ ) at Day 0 (open circles) and at Day 28, with dobutamine infused after administration of ivabradine (1 mg/kg) (closed circle). \*,  $P < 0.05$  vs. corresponding baseline at Day 0 (n=8).

**Table 1. Hemodynamic parameters measured in baseline conditions and under dobutamine at Days 0 and 28**

	n	Day 0			Day 28			ANOVA p value
		Baseline	Dobutamine	Baseline	Dobutamine	Time effect	Dobutamine effect	
<i>Heart rate (beats/min)</i>	8	75 ± 2	94 ± 3	104 ± 6	119 ± 8	0.01	<0.05	0.38
<i>Mean arterial pressure (mmHg)</i>	8	106 ± 2	93 ± 3	105 ± 4	104 ± 6	0.29	<0.05	0.04
<i>LV pressure (mmHg)</i>	8	125 ± 2	119 ± 2	124 ± 6	129 ± 6	0.49	0.70	0.15
<i>LV end-diastolic wall thickness (mm)</i>	5	9.1 ± 0.3	9.5 ± 0.5	12.2 ± 0.8	11.7 ± 0.6	<0.05	0.81	0.24
<i>LV wall thickening (mm)</i>	5	2.9 ± 0.4	4.1 ± 0.4	3.5 ± 0.5	4.7 ± 0.8	0.25	<0.05	0.98
<i>LV end-diastolic internal diameter (mm)</i>	5	40.2 ± 0.4	39.0 ± 0.4	40.8 ± 1.2	40.2 ± 1.4	0.42	<0.05	0.21
<i>LV Fractional Shortening (%)</i>	5	17.4 ± 1.4	20.8 ± 0.7	13.4 ± 0.4	16.2 ± 0.6	<0.05	<0.05	0.53
<i>LV dP/dt max (mmHg/s)</i>	8	2143 ± 141	4207 ± 227	2826 ± 334	4667 ± 383	<0.05	<0.05	0.15
<i>Cardiac Output (l/min)</i>	6	2.5 ± 0.6	3.9 ± 0.7	3.1 ± 0.6	3.7 ± 0.7	0.59	<0.05	0.12

Values are mean ± s.e.m.

**Table 2. Hemodynamic parameters measured in baseline conditions and after ivabradine at Days 0 and 28**

	n	Day 0			Day 28			ANOVA p value	
		Baseline	Ivabradine	Baseline	Ivabradine	Time effect	Ivabradine effect	Interaction	
<i>Heart rate (beats/min)</i>	8	75 ± 2	57 ± 3	104 ± 6	77 ± 3	<0.05	<0.05	0.1	
<i>Mean arterial pressure (mmHg)</i>	8	106 ± 2	101 ± 2	105 ± 4	101 ± 4	0.85	<0.05	0.65	
<i>LV pressure (mmHg)</i>	8	125 ± 2	127 ± 3	124 ± 6	124 ± 5	0.75	0.72	0.93	
<i>LV end-diastolic wall thickness (mm)</i>	5	9.1 ± 0.3	8.6 ± 0.3	12.2 ± 0.8	10.8 ± 0.6	<0.05	<0.05	<0.05	
<i>LV wall thickening (mm)</i>	5	2.9 ± 0.4	3.5 ± 0.3	3.5 ± 0.5	4.2 ± 0.6	0.11	<0.05	0.74	
<i>LV end-diastolic internal diameter (mm)</i>	5	40.2 ± 0.4	41.4 ± 0.9	40.8 ± 1.2	42.6 ± 1.8	0.47	<0.05	0.43	
<i>LV Fractional Shortening (%)</i>	5	17.4 ± 1.4	18.4 ± 1.2	13.4 ± 0.4	15.8 ± 1.0	<0.05	<0.05	0.34	
<i>LV dP/dt max (mmHg/s)</i>	8	2143 ± 141	2304 ± 238	2826 ± 334	2851 ± 238	<0.05	0.31	0.51	
<i>Cardiac Output (l/min)</i>	6	2.5 ± 0.6	2.3 ± 0.5	3.1 ± 0.6	3.3 ± 0.7	0.07	0.81	0.26	

Values are mean ± s.e.m.

Table 3. Time intervals measured in baseline conditions and after ivabradine at Days 0 and 28

	Day 0			Day 28			ANOVA p value		
	Baseline	Ivabradine	Baseline	Ivabradine	Time effect	Ivabradine effect	Interaction		
Total cycle time (ms)	839 ± 35	1104 ± 36	593 ± 38	793 ± 35	<0.05	<0.05	0.24		
Isovolumic contraction time (ms)	54 ± 3	48 ± 3	60 ± 3	46 ± 3	0.16	<0.05	0.17		
Ejection time (ms)	279 ± 13	275 ± 6	196 ± 7	215 ± 7	<0.05	0.34	0.19		
Isovolumic relaxation time (ms)	77 ± 2	69 ± 3	72 ± 3	67 ± 3	0.32	<0.05	0.46		
Total diastolic filling time (ms)	425 ± 26	713 ± 34	265 ± 28	465 ± 29	<0.05	<0.05	<0.05		

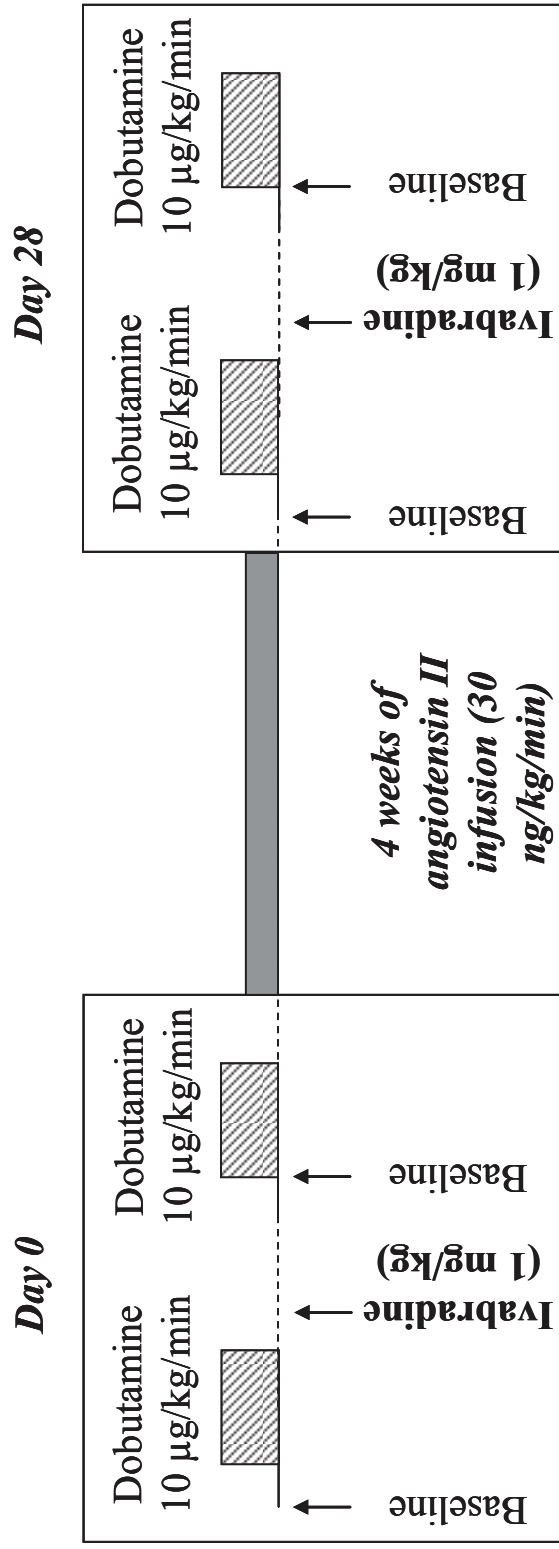
Values are mean ± s.e.m.

**Table 4. Time intervals measured under dobutamine alone at Day 0 and dobutamine plus ivabradine at Day 28**

	Day 28		<i>p</i> value
	Day 0 <i>Dobutamine</i>	<i>Dobutamine + Ivabradine</i>	
<i>Heart rate (beats/min)</i>	94 ± 3	89 ± 4	0.26
<i>Total cycle time (ms)</i>	635 ± 25	711 ± 17	0.1
<i>Isovolumic contraction time (ms)</i>	31 ± 1	32 ± 2	0.61
<i>Ejection time (ms)</i>	204 ± 4	191 ± 9	0.2
<i>Isovolumic relaxation time (ms)</i>	60 ± 1	58 ± 2	0.32
<i>Total diastolic filling time (ms)</i>	358 ± 25	431 ± 14	<0.05

Values are mean ± s.e.m.

**Figure 1**



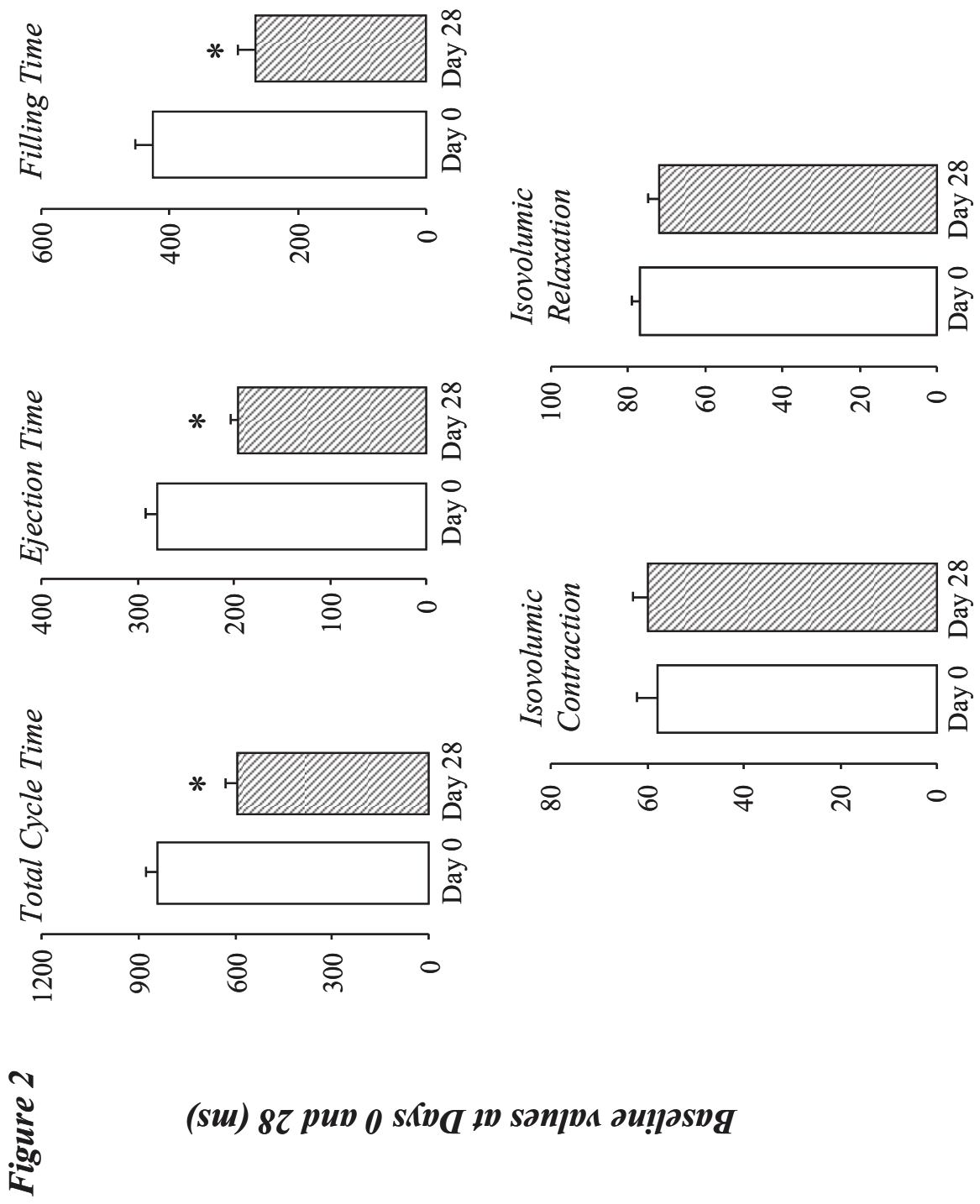
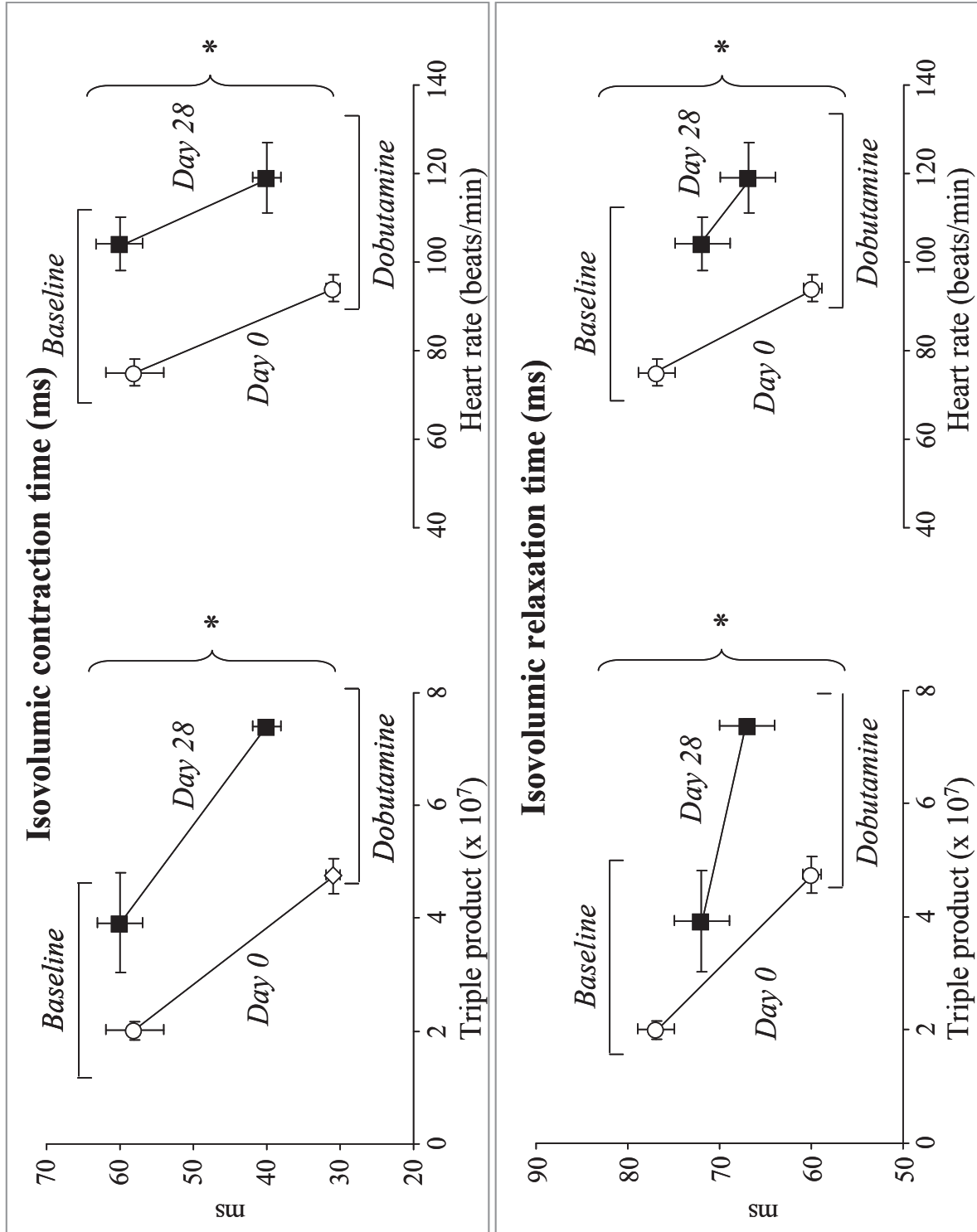
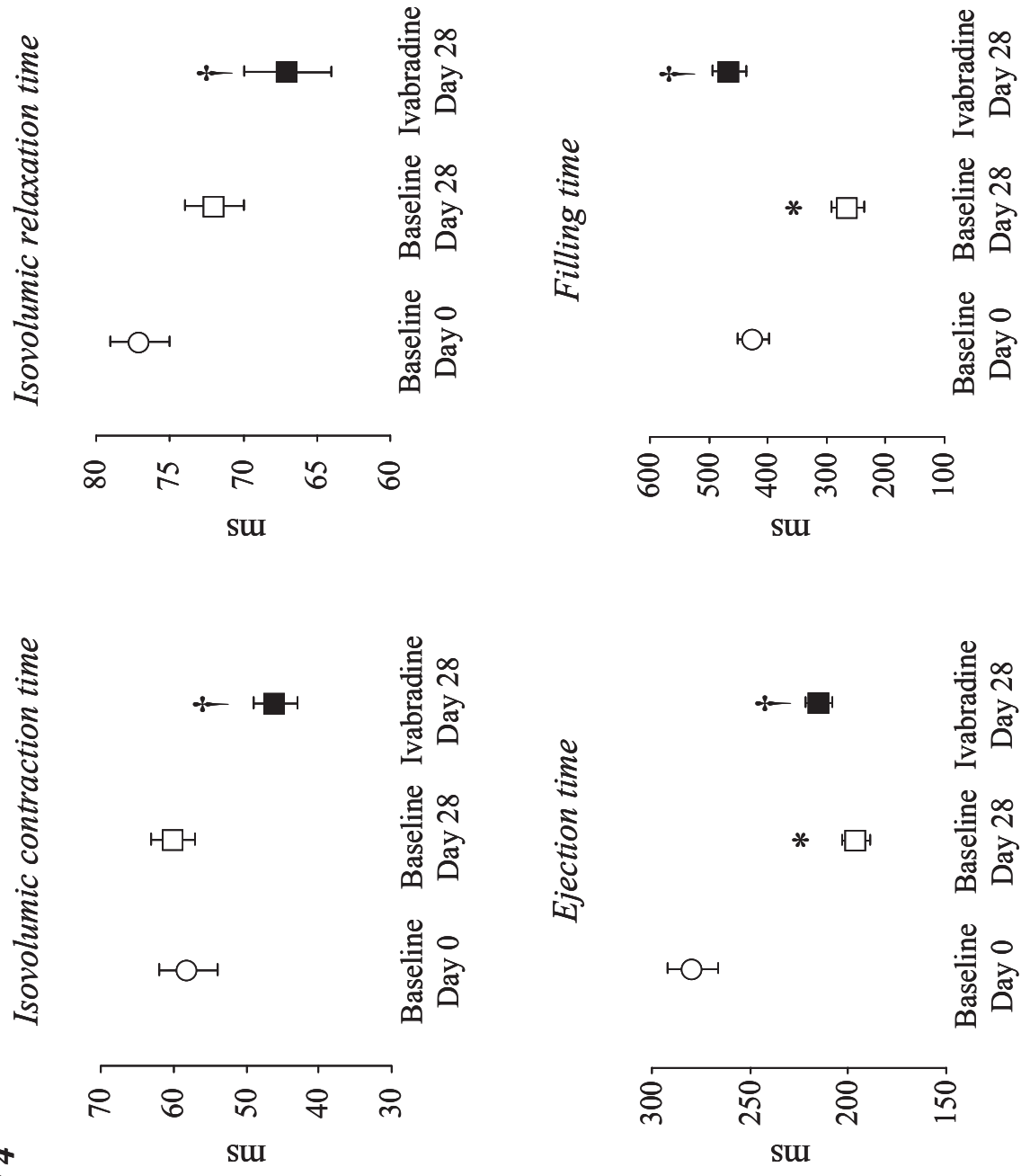


Figure 3

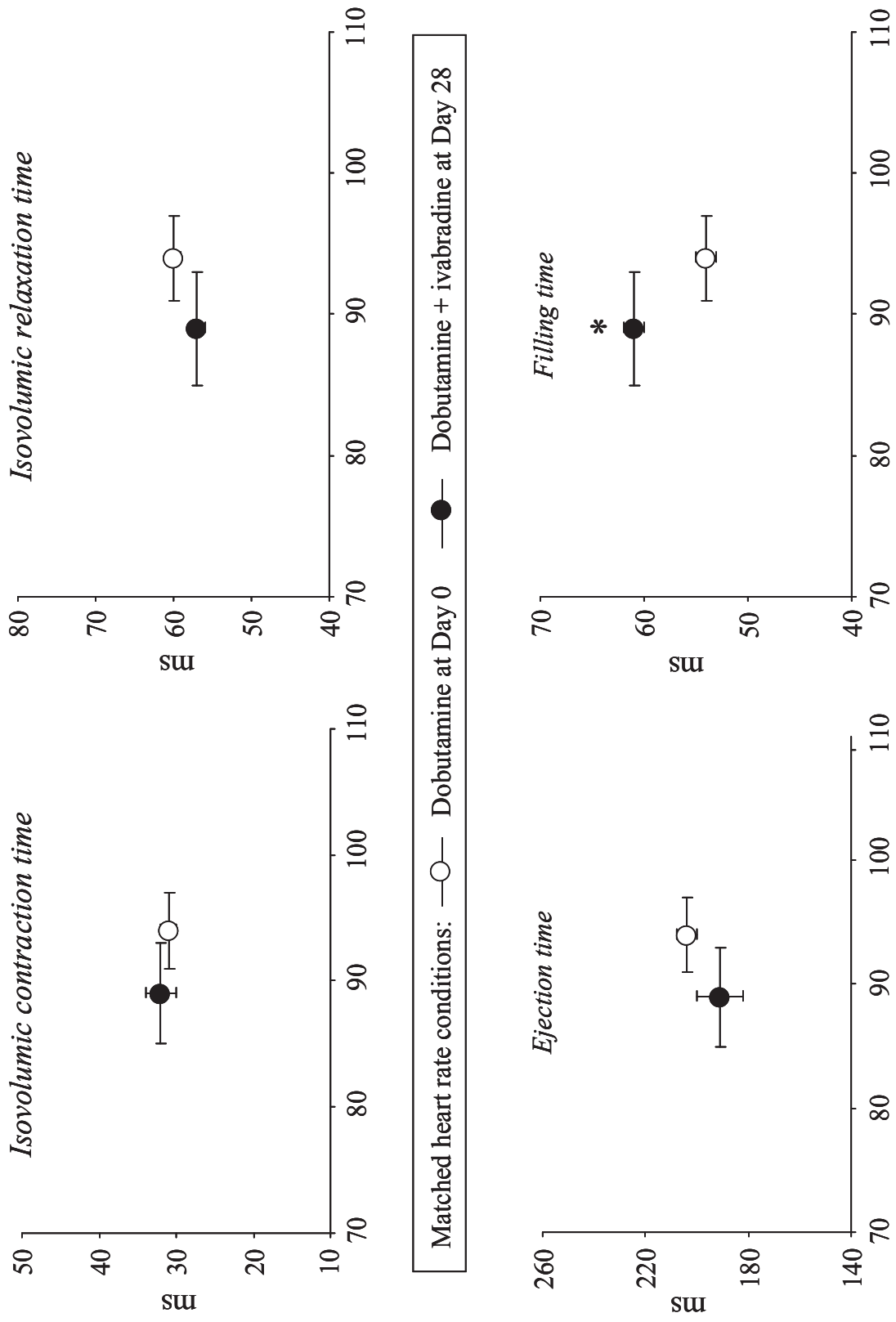




**Figure 4**



**Figure 5**



## I. CONTEXTE ET OBJECTIFS

Après la phase de mise au point et au cours du premier travail, nous nous sommes aperçus que la principale altération fonctionnelle résidait dans une altération des capacités d'adaptation des phases isovolumiques (contraction et relaxation) du cycle cardiaque, notamment lors d'augmentations de la fréquence cardiaque au cours de l'hypertension chronique. Alors même que l'éjection était conservée, l'altération de la contraction isovolumique était concomitante de celle de la relaxation isovolumique. Dans le cœur normal, la réduction des durées de la contraction et de la relaxation iso-volumiques est une réponse physiologique à l'augmentation de la fréquence cardiaque dans le but de maintenir l'équilibre entre les différentes phases du cycle cardiaque et de préserver l'éjection et le remplissage (Lance and Spodick 1975; Kobayashi, Kotilainen et al. 1979; Miyamoto, Higuchi et al. 1983). Il nous est alors apparu intéressant d'évaluer si une réduction de la fréquence cardiaque était en mesure de restaurer un équilibre physiologique entre ces différentes phases du cycle cardiaque dans nos conditions expérimentales.

Il est maintenant très bien établi qu'il est possible de réduire sélectivement la fréquence cardiaque de manière pharmacologique. Ainsi, l'ivabradine, un inhibiteur sélectif des canaux If, permet de réduire la pente de dépolarisation diastolique au niveau des cellules pacemaker du nœud sinusal et ainsi d'induire un chronotropisme négatif sélectif. La réduction sélective de la fréquence cardiaque via ce mécanisme original préserve, à la différence des  $\beta$ -bloquants, la circulation coronaire, la relaxation isovolumique (lusitropisme) et l'inotropisme (Simon, Ghaleh et al. 1995; Colin, Ghaleh et al. 2002); elle ne modifie pas la conduction atrio-ventriculaire ou intra-ventriculaire (Vilaine 2006). Par ailleurs, cette substance est connue pour développer une action anti-ischémique qui pourrait se révéler intéressante dans une situation hypertrophique connue pour favoriser des épisodes ischémiques sous-endocardiques (Hittinger, Ghaleh et al. 1999). Il faut souligner l'existence d'une controverse en ce qui concerne la modulation de la fréquence cardiaque au cours de la dysfonction diastolique et de l'IC-FEp. D'une part, la réduction de la fréquence cardiaque pourrait altérer le débit cardiaque en réduisant le nombre de cycle cardiaques par minute, situation qui a poussé certains auteurs à proposer un entraînement électrosystolique (Borlaug and Kass 2006); d'autre part, la réduction de la fréquence cardiaque pourrait améliorer le remplissage diastolique en prolongeant la durée de la diastole (Colin, Ghaleh et al. 2002; Monnet, Colin et al. 2004), le couplage ventriculo-artériel (Reil and Bohm 2007) et en produisant des effets anti-ischémiques (Monnet, Ghaleh et al. 2006; Heusch, Skyschally et al. 2008).

Utilisant le même dispositif expérimental (28 jours de perfusion continue d'angiotensine II), nous avons donc évalué l'effet de la réduction de fréquence cardiaque et émis l'hypothèse que celle-ci pourrait améliorer la fonction ventriculaire gauche dans nos conditions expérimentales.

## II. PROTOCOLE EXPERIMENTAL

Comme pour la précédente étude, avant le démarrage (J0) et à la fin du protocole (J28), l'hémodynamique générale et la fonction ventriculaire gauche de tous les animaux ont été évaluées avant et au cours d'une perfusion de dobutamine (10  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$  pendant 5 min). Puis dans un second temps, toujours à J0 et J28, tous les animaux ( $n=8$ ) ont reçu une administration intraveineuse d'ivabradine (1 mg/kg en 5 minutes). Après 20 min d'attente et de stabilisation, l'hémodynamique générale et la fonction ventriculaire gauche ont été évaluées à nouveau, avant d'explorer les effets d'une perfusion de dobutamine (10  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$  pendant 5 min). Toutes ces évaluations ont été effectuées lors de l'arrêt de la perfusion d'angiotensine II pour minimiser l'impact de tout changement de condition de charge sur la fonction ventriculaire gauche.

## III. PRINCIPAUX RESULTATS

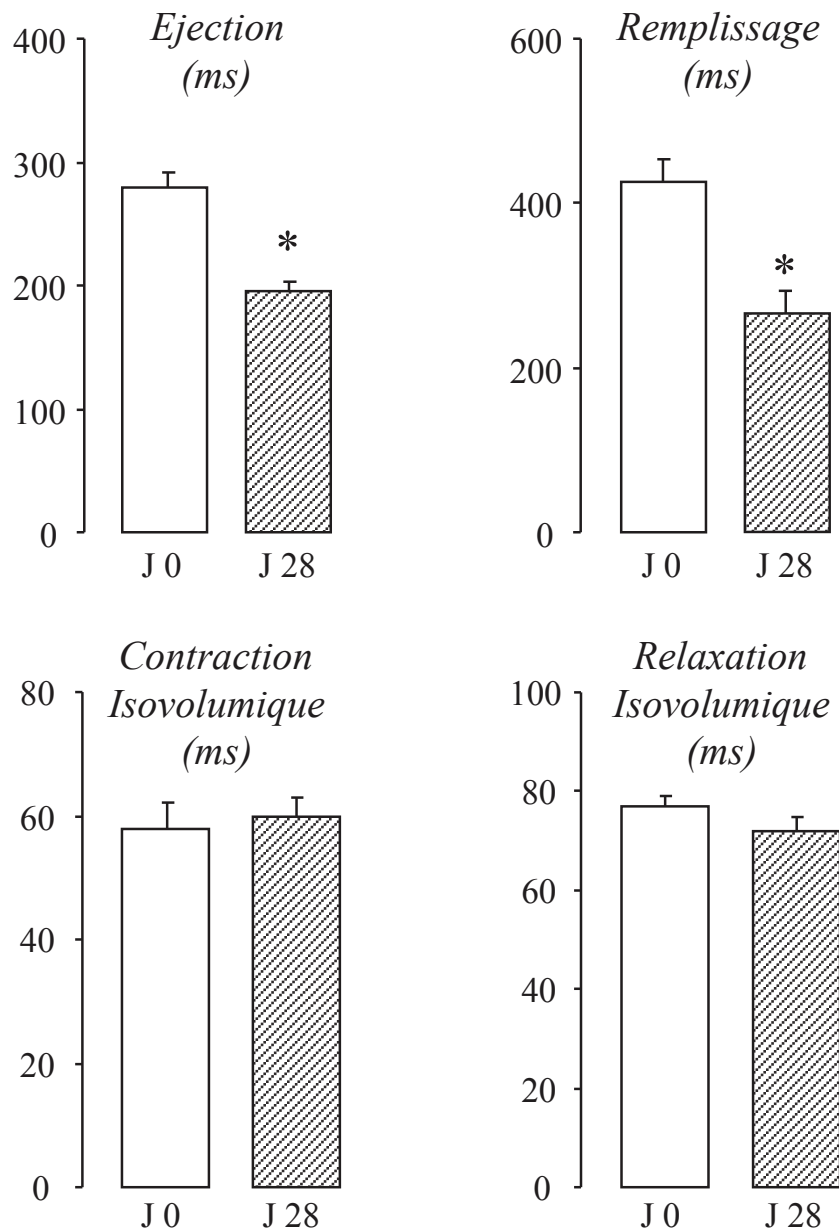
### A. Fréquence cardiaque

La fréquence cardiaque était significativement augmentée à J28 *vs.* J0 (respectivement,  $104\pm 6$  *vs*  $75\pm 2$  batt/min). De même, la dobutamine a, entre autres, induit un chronotropisme positif (à J0 : de  $75\pm 2$  à  $94\pm 3$  batt/min et à J28 : de  $104\pm 6$  à  $119\pm 8$  batt/min). L'administration d'ivabradine a permis de réduire la fréquence cardiaque de  $24\pm 2\%$  à J0 ( $57\pm 3$  batt/min) et de  $26\pm 3\%$  à J28 ( $77\pm 3$  batt/min) en l'absence de angiotensine II. Il est intéressant de constater que les valeurs absolues de fréquence cardiaque observées à J28 après l'administration d'ivabradine étaient proches de celles enregistrées à J0 à l'état de Base. Nous utiliserons ultérieurement cette similitude afin de déterminer les mécanismes des modifications induites par l'ivabradine.

### B. Altération des phases isovolumiques à l'état de base et réduction de la fréquence cardiaque

Comme l'illustre la figure 26 et comme dans la première étude, nous avons observé une évolution anormale de la contraction et de la relaxation isovolumiques. Parallèlement à l'augmentation de la fréquence cardiaque à J28, le temps dévolu à la contraction et à relaxation isovolumique restait paradoxalement inchangé entre J0 et J28 alors qu'une adaptation

physiologique impose leur réduction. En d'autres termes, le temps dévolu à ces deux phases était trop important, au détriment de l'éjection et du remplissage.



**Figure 26** Evaluation des temps d'éjection, de remplissage, de contraction isovolumique et de relaxation isovolumique à J0 et à J28. \*,  $p < 0,05$  vs J0

L'administration d'ivabradine a réduit de la durée des deux phases isovolumiques à J0 (respectivement -17% et -11%) ce qui a permis de favoriser le remplissage ventriculaire en augmentant sa durée de 70%. A J28, l'ivabradine a produit des effets similaires (respectivement -23% et -7%). Comme l'illustre la figure 27, il est intéressant de constater qu'alors que l'éjection était préservée dans cette situation, la réduction de la fréquence cardiaque permettait d'obtenir une

amélioration de durée du remplissage plus importante qu'à J0. Ces effets étaient clairement la conséquence de la réduction de la fréquence cardiaque puisque lorsque l'on compare la durée de remplissage entre J0 à l'état de base et J28 sous ivabradine, donc pour des valeurs de fréquences cardiaques similaires, on retrouve l'augmentation du temps dévolu au remplissage. Dans ces conditions, les temps de deux phases isovolumiques étaient normalisés.

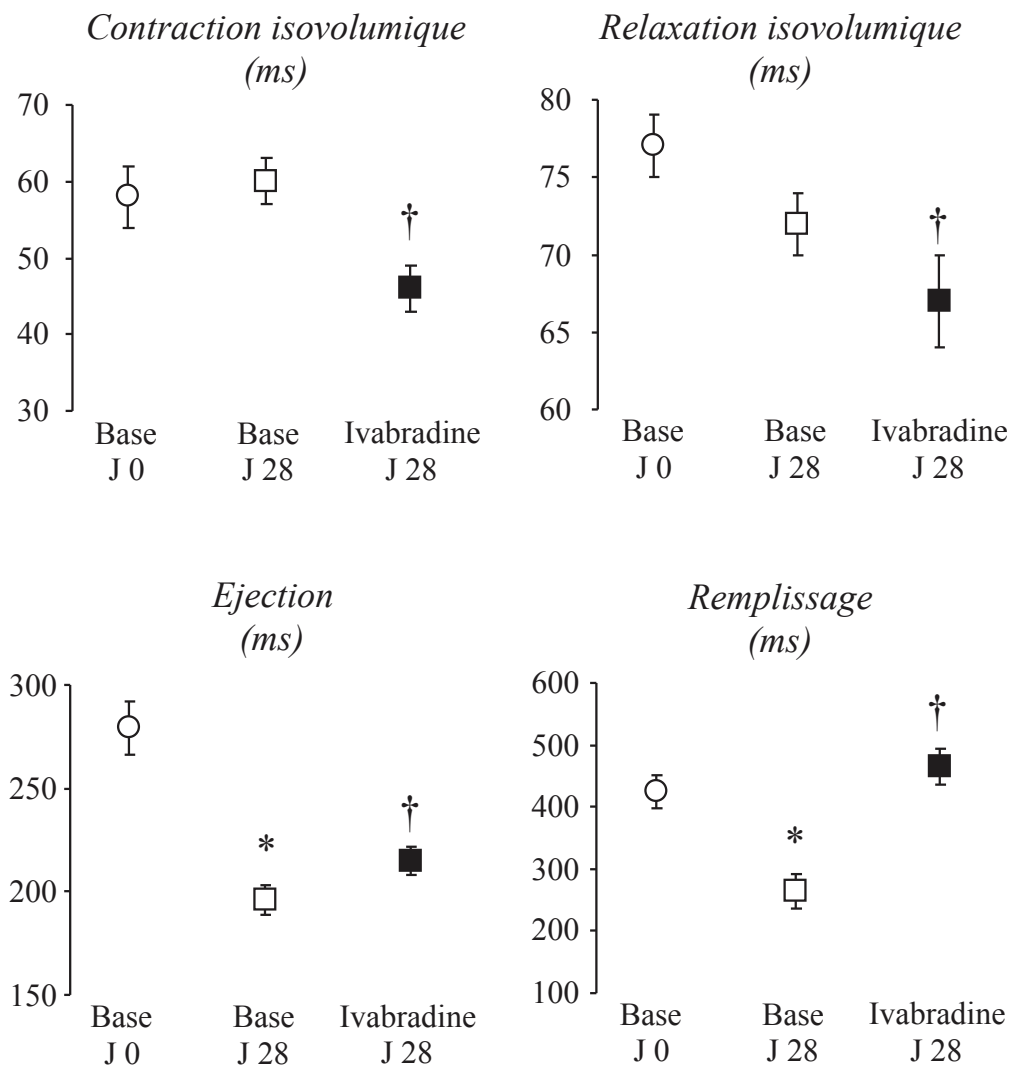


Figure 27 : Les phases isovolumiques, l'éjection et le remplissage ont été évalués à l'état de base à J0 ainsi qu'à J28 (état de base et pendant l'administration de dobutamine). \*,  $p < 0,05$  vs. la valeur correspondant à J0 ; †,  $p < 0,05$  vs. l'état de base à J28

### C. ALTERATION DES PHASES ISOVOLUMIQUES, DOBUTAMINE ET REDUCTION DE LA FREQUENCE CARDIAQUE

A l'instar de ce qui était observé à l'état de base et dans notre précédente étude, les phases de contraction et de relaxation isovolumiques ne se sont pas adaptées lors de l'administration de dobutamine à J28 et le ventricule gauche a été incapable d'accélérer ces deux phases et d'en réduire leur durée.

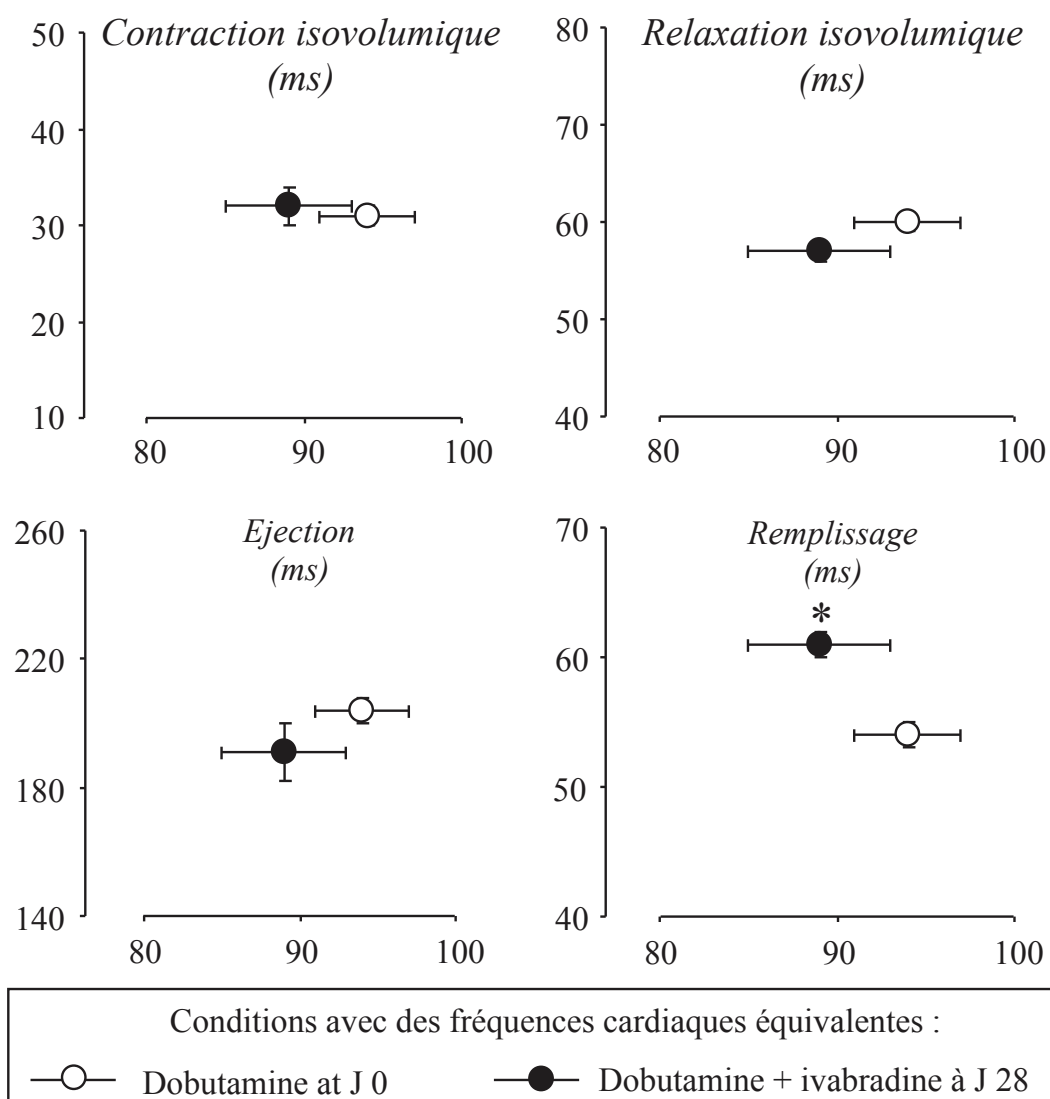


Figure 27 : les durées de la contraction isovolumique, de la relaxation isovolumique, de l'éjection et du remplissage ont été évaluées au cours du protocole d'administration de dobutamine, et plus particulièrement pendant l'administration de dobutamine sans ivabradine à J0 et avec ivabradine à J28. \* $<0,05$  vs. J0.

L'administration d'ivabradine à J28 a induit une réduction de ces paramètres (Figure 28). De façon intéressante, les valeurs absolues de fréquence cardiaque observées à J28 pendant l'administration de dobutamine étaient similaires à celles enregistrées à J0 sous dobutamine mais sans ivabradine (respectivement  $89\pm 4$  vs.  $94\pm 3$  batt/min). Cette comparaison permet de démontrer une normalisation des contractions et relaxations isovolumiques. Ainsi la réduction de la fréquence cardiaque permet de corriger les altérations d'adaptation des phases isovolumiques. Par ailleurs, nous avons pu constater que le remplissage était favorisé à nouveau lors de l'administration de dobutamine.



## IV. COMMENTAIRES

Ce travail a évalué l'effet de la réduction sélective de la fréquence cardiaque sur l'incapacité d'adaptation des phases isovolumiques (contraction et relaxation) à des stimuli chronotropes et inotropes positifs dans notre modèle expérimental d'hypertension artérielle chronique. Comme nous l'avons observé dans le travail précédent, l'élévation de la fréquence cardiaque observée à J28 *vs.* J0 ne s'accompagne pas d'une réduction parallèle de la durée de ces deux phases, comme on aurait pu l'observer physiologiquement. Il semblait alors logique d'évaluer les effets d'une stratégie permettant de réduire sélectivement la fréquence cardiaque.

A l'état de base, l'administration d'ivabradine a effectivement permis de réduire significativement la durée de ces deux phases et à J28 d'en normaliser leurs durées. Un effet bénéfique similaire était observé lors de l'administration de dobutamine. Un point important de ces effets réside dans le fait que l'éjection est préservée et que par ailleurs la normalisation de ces deux phases isovolumiques s'accompagne d'un effet bénéfique sur le remplissage ventriculaire objectivé par une augmentation de sa durée qui va au-delà de celle observée à J0 pour des fréquences cardiaques similaires. Ces conclusions découlent de deux séries de données :

- 1) la comparaison des états hémodynamiques de base à J0 *vs.* après ivabradine à J28;
- 2) la comparaison des états hémodynamiques sous dobutamine sans ivabradine à J0 *vs.* dobutamine après ivabradine à J28.

Dans chacune de ces deux situations, la fréquence cardiaque était similaire : respectivement  $77 \pm 3$  *vs.*  $75 \pm 2$  batt/min sans stimulation chronotrope et inotrope positive, et  $89 \pm 4$  *vs.*  $94 \pm 3$  batt/min en cours d'administration de dobutamine (J28 *vs.* J0, respectivement).

Nous avons opté pour une administration aiguë d'ivabradine. Ce protocole expérimental permet en effet de plus facilement isoler l'effet sélectif de la réduction de fréquence cardiaque. En effet, l'administration chronique aurait pu induire des effets confondants liés à la réduction chronique de la fréquence cardiaque. Celle-ci est connue pour moduler la réponse inflammatoire et du remaniement du collagène, l'athérosclérose, l'apoptose au cours de l'hypertrophie ventriculaire gauche et également l'expression de protéines impliquées dans le contrôle de l'homéostasie calcique cardiomyocytaire. Ainsi notre mode d'administration et les comparaisons réalisées à des fréquences cardiaques similaires entre un état sans ivabradine et un état avec ivabradine, permettent de montrer que les effets observés sont purement la conséquence de la simple réduction de la

fréquence cardiaque. En effet, des effets pléiotropes ont été décrits lors de l'administration chronique d'ivabradine (théoriquement, il n'y a pas d'effets de ce type lors de son administration aiguë).

# **CHAPITRE IX : DISCUSSION GENERALE ET CONCLUSIONS**

Historiquement, l'attention des physiologistes s'est principalement portée sur la fonction contractile et donc sur la « systole » de la pompe cardiaque, ce qui est compréhensible dans la mesure où c'est l'éjection ventriculaire qui permet d'assurer la perfusion des différents territoires vasculaires de l'organisme. Progressivement, le développement de nouvelles techniques d'exploration dont le cathétérisme cardiaque, a permis d'appréhender la physiologie du cœur de manière plus complète : les données combinées de pression intraventriculaire gauche et du volume cavitaire par ciné-angiographie ont rendu possible la construction de courbes pression-volume explorant bien évidemment la phase « systolique », mais également « diastolique », c'est-à-dire la période précédant la contraction ventriculaire. C'est la naissance d'une "*diastologie*" avec l'élaboration des concepts de rigidité et de distensibilité qui dérivent d'équations plus ou moins complexes visant à modéliser cette période du cycle cardiaque. Par ailleurs, la vision physiologique du cycle cardiaque qui prévalait (celle de Wiggers) considérait qu'à partir de la fermeture de la valve aortique, la pompe cardiaque n'est plus active : ainsi la relaxation isovolumique rejoignait la diastase et la contraction atriale était classée dans la « boîte » diastolique.

Depuis une trentaine d'années, une discussion animée autour de la diastole s'est initiée en raison de la constatation de plus en plus fréquente de la présence de tableaux cliniques d'insuffisance cardiaque qui étaient cependant associés à une fraction d'éjection paradoxalement préservée. Ceci a amené à distinguer l'IC-FEr et l'IC-FEp comme deux entités différentes. En effet, ce raccourci intellectuel résulte de la nécessité en clinique humaine, de définitions claires, facilement applicables aux patients et utiles pour le choix de la prise en charge thérapeutique. Ce concept s'appuie sur les arguments suivants : 1) au cours de l'IC-FEp la fonction systolique du ventricule gauche évaluée par la mesure de la fraction d'éjection est normale ; 2) les stratégies pharmacologiques qui ont montré leur efficacité en termes de morbi-mortalité chez les patients avec IC-FEr ont échoué chez les patients avec IC-FEp ; 3) l'IC-FEr et IC-FEp sont caractérisées par des remodelages musculaires et électriques différents (Fukuta and Little 2007) ; 4) les patients avec IC-FEr et IC-FEp présentent des caractéristiques cliniques différentes en termes de prévalence de comorbidités.

Il y a pourtant autant de raison d'affirmer que ces « deux formes » d'insuffisance cardiaque ne sont pas vraiment si lointaines l'une de l'autre : 1) la fonction systolique, évaluée par des paramètres autres que la fraction d'éjection, est altérée ; 2) il n'y a pas d'évidence que les caractéristiques moléculaires à l'origine de la physiopathologie de ces deux formes d'insuffisance cardiaque soient radicalement différentes malgré l'inefficacité des traitements utilisés dans l'IC-FEr ; 3) le remodelage ventriculaire est le résultat de la combinaison de plusieurs voies de

signalisation dont la distribution est inhomogène au sein de la population des patients insuffisants cardiaques, promouvant ainsi le concept de continuum du spectre des phénotypes. Enfin, les deux entités gardent des caractéristiques communes, notamment la dysfonction ventriculaire et vasculaire (Zile, Baicu et al. 2004; Fukuta and Little 2007), l'activation neuro-hormonale (Kitzman, Little et al. 2002) et la dysfonction rénale (Bursi, Weston et al. 2006; Yancy, Lopatin et al. 2006).

Telle était la vision de l'IC-FEp quand le présent travail a débuté : on se posait la question de la continuité de ces deux entités pathologiques. Représentent-elles l'une le stade initial de l'autre ou s'agit-il de deux entités totalement indépendantes ? Dans le but d'explorer les phénomènes physiopathologiques de l'IC-FEp, nous avons entrepris de mettre au point un modèle chez le gros animal ayant des « caractéristiques » les plus proches possibles de celles retrouvées en pathologie humaine ; avec notamment la présence d'hypertension artérielle, une absence d'insuffisance coronaire, et ce avec toute la difficulté de la translation d'un phénomène observé en clinique humaine vers le laboratoire. Nous nous sommes donc orientés vers un modèle porcin rendu hypertendu grâce à une perfusion chronique d'angiotensine II. Comme nous l'avons indiqué précédemment, le choix du gros animal a été notamment dicté par la proximité des valeurs de fréquence cardiaque avec celles de l'Homme. Dans ces conditions, la régulation de l'homéostasie calcique et l'expression des isoformes protéiques du sarcomère sont proches des caractéristiques humaines. Par ailleurs, il s'agit d'un dispositif "éveillé chroniquement instrumenté" qui n'est pas influencé par la présence d'une sédation ou d'une anesthésie générale. L'hypertension artérielle a été induite à l'aide d'une perfusion continue d'angiotensine II, en sachant que l'activation du système rénine angiotensine est un élément central dans l'élévation des valeurs de la pression artérielle et dans le remodelage ventriculaire. D'autres auteurs avaient déjà proposé d'administrer de manière chronique de l'angiotensine II via des pompes osmotiques implantées (Senzaki, Paolucci et al. 2000) ou d'utiliser le modèle de constriction rénale (Munagala, Hart et al. 2005), mais ces approches ont des conséquences physiopathologiques irréversibles. La particularité de notre modèle réside dans l'utilisation de perfuseurs miniatures externes permettant l'arrêt de la perfusion et le retour à des valeurs de pression artérielle (et de conditions de charge) à des niveaux similaires aux conditions de base, et donc d'apprécier les caractéristiques fonctionnelles intrinsèques du ventricule gauche. De plus, notre dispositif nous a permis d'explorer les réponses hémodynamiques en conditions de stress (dobutamine) puisqu'une incompetence chronotrope et une intolérance à l'exercice sont connues chez les patients avec IC -FEp (Borlaug and Kass 2006; Phan, Shivu et al. 2010).

Une première série de données ayant été obtenue, nous nous sommes heurtés à la difficulté de caractériser la dysfonction diastolique. En effet, la littérature décrit cette dernière en termes d'allongement de la constante de relaxation  $\tau$  pour identifier une anomalie de la diastole. Cependant, nos premières observations nous indiquaient des valeurs de  $\tau$  inchangées, ceci suggérant qu'après 4 semaines de perfusion d'angiotensine II, nous étions encore dans les stades initiaux de la maladie. La résolution de ce nœud conceptuel a été rendue possible en analysant de plus près les durées des différentes phases du cycle cardiaque eu égard à l'augmentation de la fréquence cardiaque (et donc de la réduction du temps du cycle et de la diastole notamment). Le fait que la constante de relaxation et le temps absolu dédié à la relaxation ne changeaient pas, nous a suggéré une incompétence de cette phase au cours du remodelage hypertrophique induit par l'angiotensine II. En effet, l'accélération de la relaxation isovolumique est une étape importante de l'adaptation au chronotropisme positif. Il fallait, dans un deuxième temps, essayer d'expliquer les raisons de cet allongement. Notre laboratoire ayant travaillé dans le passé sur l'évaluation de la contraction post-systolique au cours de l'ischémie myocardique, il nous a paru naturel de chercher à savoir si ce phénomène n'était pas aussi accentué chez nos animaux traités par angiotensine II puisqu'une augmentation de la contraction post-systolique est connue pour entraver la relaxation isovolumique. Les méthodes de sonomicrométrie mises en place selon un schéma classique dans le laboratoire (évaluation radiale), n'ont pas permis d'aboutir à des données concluantes. Néanmoins, les premières analyses échographiques que nous avons pu réaliser sur nos porcs instrumentés ont orienté notre réflexion sur une altération et un déphasage longitudinal de la contraction plutôt que vers une asynchronie radiale. Nous avons ainsi commencé à apprécier la complexité de la non-uniformité en montrant qu'il y avait bien un ralentissement de la contraction longitudinale responsable d'un phénomène « post-systolique » baso-apical.

Ceci a justifié l'attention que nous avons porté par la suite à la phase de contraction et plus particulièrement à celle de la contraction isovolumique, l'éjection étant conservée. En analysant les tracés des pressions ventriculaires pendant la phase isovolumique, nous nous sommes aperçus de certaines modifications de ce profil survenant après le traitement par l'angiotensine II. Malgré de très nombreuses tentatives et approches, il nous a été impossible de caractériser l'évolution des pressions ventriculaires pendant ces phases par l'utilisation d'équations mathématiques à l'instar de la décroissance de la pression ventriculaire gauche au cours de la relaxation isovolumique (c'est la constante de relaxation  $\tau$ ). L'allongement relatif de cette phase qui était strictement parallèle à celui du temps de relaxation isovolumique, était indéniable. Il existe donc, dans nos conditions expérimentales, des altérations parallèles de la contraction et de la relaxation isovolumiques au cours de l'hypertension artérielle chronique. Ces anomalies peuvent conduire au développement

d'une incompetence mécanique progressive de la contraction et de la relaxation. La vision du cœur comme une pompe musculaire nous a intrigué par son pouvoir euristique : considérer la contraction et la relaxation comme deux facettes de la même médaille (la systole) devient ainsi essentiel pour comprendre nos données expérimentales. Alors que les paramètres décrivant la fonction de pompe hémodynamique sont conservés chez nos animaux, nous avons donc pu déceler des altérations fines de la fonction contractile, à savoir la contraction isovolumique, et leur influence néfaste sur la relaxation isovolumique et la diastole.

Un certain nombre de critiques nous ont été formulées par rapport aux effets de l'hypertension artérielle chronique sur le baroréflexe et donc de la tachycardie présente au moment de l'arrêt de la perfusion d'angiotensine II. Cet élément ne pouvait pas expliquer à lui seul nos observations puisque nous avons pu démontrer qu'il y a bien une altération de l'adaptation de la systole lors d'un stress induit par l'administration de dobutamine : les temps de contraction et de relaxation isovolumiques ne sont plus capables de se raccourcir avec l'accélération de la fréquence cardiaque et l'inotropisme positif. De plus, les données relatives aux premiers jours de traitement par angiotensine II, quand le baroréflexe est encore opérationnel, montrent que les allongements de contraction et de relaxation isovolumiques sont déjà présents. Par ailleurs, une analyse préliminaire et non publiée que nous avons réalisée sur la variabilité respiratoire de la fréquence cardiaque, montre qu'elle se perd au cours des semaines avec la perfusion chronique d'angiotensine II et que cette perte dépend en grande partie d'une altération majeure du baroréflexe. Il y a donc bien une altération de l'équilibre sympathique-parasympathique dans ce modèle, tout à fait compatible avec le tableau d'hypertension chronique et qui corrobore, au contraire, l'idée d'altérations de la systole.

Le modèle que nous avons mis au point diffère de ceux rapportés dans la littérature. Comme nous l'avons déjà évoqué, beaucoup d'études mettent en œuvre des modèles animaux de petite taille, les rongeurs, qui présentent des valeurs de fréquence cardiaque élevées et qui donc ne permettent pas de subdiviser les différentes phases du cycle cardiaque avec une grande précision. Il faut également signaler que la définition de la dysfonction diastolique généralement utilisée repose sur l'analyse de la relaxation isovolumique plutôt que sur celle de la diastole proprement dite (diastase et contraction atriale). Par ailleurs, il est vrai que beaucoup de ces travaux insistent sur une augmentation de la rigidité ventriculaire. Nous n'avons pas été en mesure de montrer des résultats allant dans ce sens malgré la réduction de la durée de la diastase. Ceci est probablement la conséquence d'une fibrose interstitielle peu développée à ce stade du modèle. Il faut aussi garder à l'esprit qu'une grande partie des données relatives à l'évaluation de la compliance ventriculaire est obtenue en utilisant des cathéters de conductance et par l'établissement de courbes pression-volume.

Du fait du caractère invasif de cette mesure, il est difficile d'envisager ces évaluations dans notre modèle de par la problématique de la calibration des sondes et de la nécessité d'une anesthésie entachant les résultats obtenus. Chez le gros animal, le dispositif expérimental rencontré dans la littérature fait appel à la constriction rénale pour induire l'hypertension artérielle, notamment chez le chien. Nous pensons que ce modèle, même s'il est instructif, est limité par le fait qu'il est difficile de distinguer des altérations propres au ventricule gauche des modifications charge dépendantes, même si les auteurs affirment qu'ils évaluent la fonction ventriculaire à l'aide d'outils dits insensibles aux modifications des conditions de charge. Au contraire, notre modèle permet une évaluation de la fonction ventriculaire gauche en l'absence et en la présence de ces modifications.

D'un point de vue pharmacologique, les effets bénéfiques de la réduction de la fréquence cardiaque aussi bien au cours de l'ischémie myocardique que d'IC-FEr ont été montrés. Comme nous l'avons précédemment présenté, l'observation d'une altération des capacités d'adaptation des phases isovolumiques (contraction et relaxation) du ventricule gauche à une tachycardie justifient pleinement l'évaluation d'une stratégie pharmacologique permettant la réduction de la fréquence cardiaque. Deux options ont été envisagées, l'une ayant recours aux  $\beta$ -bloquants et l'autre à l'ivabradine qui réduit sélectivement la fréquence cardiaque. Nous avons opté pour la deuxième solution sachant que l'inotropie et la lusitropie négatives de la première seraient probablement délétères, même si nous devons reconnaître que nous n'avons pas testé cette hypothèse. L'administration d'ivabradine a effectivement permis de réduire significativement la durée de ces deux phases et a ainsi favorisé le remplissage. Cette normalisation n'est cependant qu'apparente puisque l'ivabradine a permis de ramener le ventricule dans une gamme de fréquence cardiaque où ses capacités d'adaptation sont meilleures et où toute accélération importante risque de voir émerger des altérations. Par ailleurs, une action anti-ischémique sous-endocardique de cette substance n'est pas à exclure. Il faut néanmoins rappeler que nous n'avons ici administré l'ivabradine que de façon aiguë et qu'il reste à évaluer si la réduction chronique de la fréquence cardiaque permet de ralentir et d'éviter le développement des anomalies de la fonction ventriculaire gauche.

Une perspective importante de ce travail réside dans l'exploration des mécanismes cellulaires qui sous-tendent ces anomalies contractiles. Vu le parallélisme temporel entre la libération calcique du réticulum sarcoplasmique et les anomalies de la contraction isovolumique, il devient logique d'émettre l'hypothèse d'une implication d'anomalies du relargage calcique via les récepteurs de la ryanodine. Une augmentation du tonus sympathique pourrait être à l'origine d'une phosphorylation PKA-dépendante de ces récepteurs, provoquant ainsi une dissociation secondaire



de la calstabilité 2. Ceci serait à l'origine de fuites calciques (*calcium sparks*) et d'une libération de calcium non coordonnée. Cette hypothèse, si elle s'avère vérifiée, ouvrirait sur de nouvelles perspectives pharmacologiques avec l'utilisation de substances dites "RyCal" qui permettent de stabiliser la liaison ryanodine-calstabilité 2. Dans cette optique, notre laboratoire a mis en place une technique de dissociation de cardiomyocytes à partir de cœurs de porc dans le but d'étudier *in vitro* ces anomalies calciques. Des expériences visant à explorer ces mécanismes sont en cours.

Enfin et pour conclure, un dernier aspect doit être discuté. Nous avons décrit jusqu'à présent un modèle de dysfonction diastolique et nullement d'IC-FEp. Effectivement l'éjection est préservée et nous observons des anomalies systoliques. Quoique fondamentale, ceci n'est qu'une première étape. Nous avons mené chez un certain nombre d'animaux des expériences visant à induire une décompensation et observer *in fine* des symptômes congestifs. Pour ce faire, la surcharge volumique a été potentialisée en administrant en plus de l'angiotensine II, de la DOCA et du sel à partir de J28. Chez quelques animaux, nous avons clairement pu observer des signes congestifs (ascite, dyspnée, oedèmes des membres). Si ces premiers résultats se vérifient, cela pourrait appuyer le concept de continuum du spectre physiopathologique de l'insuffisance cardiaque.

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

- Abbott, B. C. and W. F. Mommaerts (1959). "A study of inotropic mechanisms in the papillary muscle preparation." J Gen Physiol 42(3): 533-551.
- Abhayaratna, W. P., T. H. Marwick, et al. (2006). "Characteristics of left ventricular diastolic dysfunction in the community: an echocardiographic survey." Heart 92(9): 1259-1264.
- Abhayaratna, W. P., J. B. Seward, et al. (2006). "Left atrial size: physiologic determinants and clinical applications." J Am Coll Cardiol 47(12): 2357-2363.
- Ahmed, A., M. W. Rich, et al. (2006). "Effects of digoxin on morbidity and mortality in diastolic heart failure: the ancillary digitalis investigation group trial." Circulation 114(5): 397-403.
- Ahmed, S. H., L. L. Clark, et al. (2006). "Matrix metalloproteinases/tissue inhibitors of metalloproteinases: relationship between changes in proteolytic determinants of matrix composition and structural, functional, and clinical manifestations of hypertensive heart disease." Circulation 113(17): 2089-2096.
- Amundsen, B. H., T. Helle-Valle, et al. (2006). "Noninvasive myocardial strain measurement by speckle tracking echocardiography: validation against sonomicrometry and tagged magnetic resonance imaging." J Am Coll Cardiol 47(4): 789-793.
- Anand, I. S., R. Latini, et al. (2005). "C-reactive protein in heart failure: prognostic value and the effect of valsartan." Circulation 112(10): 1428-1434.
- Andersen, M. J., M. Erbsoll, et al. (2013). "Sildenafil and diastolic dysfunction after acute myocardial infarction in patients with preserved ejection fraction: the Sildenafil and Diastolic Dysfunction After Acute Myocardial Infarction (SIDAMI) trial." Circulation 127(11): 1200-1208.
- Annu, M., I. Soveri, et al. (2005). "Endothelial function, CRP and oxidative stress in chronic kidney disease." J Nephrol 18(6): 721-726.
- Appleton, C. P. (1997). "Hemodynamic determinants of Doppler pulmonary venous flow velocity components: new insights from studies in lightly sedated normal dogs." J Am Coll Cardiol 30(6): 1562-1574.
- Appleton, C. P., L. K. Hatle, et al. (1988). "Relation of transmitral flow velocity patterns to left ventricular diastolic function: new insights from a combined hemodynamic and Doppler echocardiographic study." J Am Coll Cardiol 12(2): 426-440.
- Aronow, W. S., C. Ahn, et al. (1997). "Effect of propranolol versus no propranolol on total mortality plus nonfatal myocardial infarction in older patients with prior myocardial

- infarction, congestive heart failure, and left ventricular ejection fraction  $\geq$  40% treated with diuretics plus angiotensin-converting enzyme inhibitors." Am J Cardiol 80(2): 207-209.
- Aronow, W. S. and I. Kronzon (1993). "Effect of enalapril on congestive heart failure treated with diuretics in elderly patients with prior myocardial infarction and normal left ventricular ejection fraction." Am J Cardiol 71(7): 602-604.
- Ashikaga, H., J. C. Criscione, et al. (2004). "Transmural left ventricular mechanics underlying torsional recoil during relaxation." Am J Physiol Heart Circ Physiol 286(2): H640-647.
- Ather, S., W. Chan, et al. (2012). "Impact of noncardiac comorbidities on morbidity and mortality in a predominantly male population with heart failure and preserved versus reduced ejection fraction." J Am Coll Cardiol 59(11): 998-1005.
- Aurigemma, G. P., J. S. Gottdiener, et al. (2001). "Predictive value of systolic and diastolic function for incident congestive heart failure in the elderly: the cardiovascular health study." J Am Coll Cardiol 37(4): 1042-1048.
- Avendano, G. F., R. K. Agarwal, et al. (1999). "Effects of glucose intolerance on myocardial function and collagen-linked glycation." Diabetes 48(7): 1443-1447.
- Azevedo, C. F., L. C. Amado, et al. (2004). "Persistent diastolic dysfunction despite complete systolic functional recovery after reperfused acute myocardial infarction demonstrated by tagged magnetic resonance imaging." Eur Heart J 25(14): 1419-1427.
- Bahrami, H., D. A. Bluemke, et al. (2008). "Novel metabolic risk factors for incident heart failure and their relationship with obesity: the MESA (Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis) study." J Am Coll Cardiol 51(18): 1775-1783.
- Baicu, C. F., M. R. Zile, et al. (2005). "Left ventricular systolic performance, function, and contractility in patients with diastolic heart failure." Circulation 111(18): 2306-2312.
- Baris, N., T. Okan, et al. (2006). "Evaluation of left ventricular diastolic dysfunction with conventional and current Doppler techniques in Behcet's disease." Clin Rheumatol 25(6): 873-876.
- Bella, J. N., V. Palmieri, et al. (2002). "Mitral ratio of peak early to late diastolic filling velocity as a predictor of mortality in middle-aged and elderly adults: the Strong Heart Study." Circulation 105(16): 1928-1933.
- Belz, G. G. (1995). "Elastic properties and Windkessel function of the human aorta." Cardiovasc Drugs Ther 9(1): 73-83.
- Berg, T. J., O. Snorgaard, et al. (1999). "Serum levels of advanced glycation end products are associated with left ventricular diastolic function in patients with type 1 diabetes." Diabetes Care 22(7): 1186-1190.

- Bergstrom, A., B. Andersson, et al. (2004). "Effect of carvedilol on diastolic function in patients with diastolic heart failure and preserved systolic function. Results of the Swedish Doppler-echocardiographic study (SWEDIC)." Eur J Heart Fail 6(4): 453-461.
- Bhatia, R. S., J. V. Tu, et al. (2006). "Outcome of heart failure with preserved ejection fraction in a population-based study." N Engl J Med 355(3): 260-269.
- Bishu, K., N. Hamdani, et al. (2011). "Sildenafil and B-type natriuretic peptide acutely phosphorylate titin and improve diastolic distensibility in vivo." Circulation 124(25): 2882-2891.
- Bonow, R. O. and J. E. Udelson (1992). "Left ventricular diastolic dysfunction as a cause of congestive heart failure. Mechanisms and management." Ann Intern Med 117(6): 502-510.
- Borbely, A., J. van der Velden, et al. (2005). "Cardiomyocyte stiffness in diastolic heart failure." Circulation 111(6): 774-781.
- Borlaug, B. A. and D. A. Kass (2006). "Mechanisms of diastolic dysfunction in heart failure." Trends Cardiovasc Med 16(8): 273-279.
- Borlaug, B. A. and D. A. Kass (2008). "Ventricular-vascular interaction in heart failure." Heart Fail Clin 4(1): 23-36.
- Borlaug, B. A., C. S. Lam, et al. (2009). "Contractility and ventricular systolic stiffening in hypertensive heart disease insights into the pathogenesis of heart failure with preserved ejection fraction." J Am Coll Cardiol 54(5): 410-418.
- Borlaug, B. A., V. Melenovsky, et al. (2005). "Sildenafil inhibits beta-adrenergic-stimulated cardiac contractility in humans." Circulation 112(17): 2642-2649.
- Borlaug, B. A., V. Melenovsky, et al. (2007). "Impact of arterial load and loading sequence on left ventricular tissue velocities in humans." J Am Coll Cardiol 50(16): 1570-1577.
- Borlaug, B. A., V. Melenovsky, et al. (2006). "Impaired chronotropic and vasodilator reserves limit exercise capacity in patients with heart failure and a preserved ejection fraction." Circulation 114(20): 2138-2147.
- Borlaug, B. A., R. A. Nishimura, et al. (2010). "Exercise hemodynamics enhance diagnosis of early heart failure with preserved ejection fraction." Circ Heart Fail 3(5): 588-595.
- Borlaug, B. A., T. P. Olson, et al. (2010). "Global cardiovascular reserve dysfunction in heart failure with preserved ejection fraction." J Am Coll Cardiol 56(11): 845-854.
- Borlaug, B. A. and M. M. Redfield (2011). "Diastolic and systolic heart failure are distinct phenotypes within the heart failure spectrum." Circulation 123(18): 2006-2013; discussion 2014.

- Bouchard, J. L., G. P. Aurigemma, et al. (2008). "Usefulness of the pulmonary arterial systolic pressure to predict pulmonary arterial wedge pressure in patients with normal left ventricular systolic function." Am J Cardiol 101(11): 1673-1676.
- Boyer, J. K., S. Thanigaraj, et al. (2004). "Prevalence of ventricular diastolic dysfunction in asymptomatic, normotensive patients with diabetes mellitus." Am J Cardiol 93(7): 870-875.
- Brassard, P., S. Legault, et al. (2007). "Normalization of diastolic dysfunction in type 2 diabetics after exercise training." Med Sci Sports Exerc 39(11): 1896-1901.
- Brouwers, F. P., R. A. de Boer, et al. (2013). "Incidence and epidemiology of new onset heart failure with preserved vs. reduced ejection fraction in a community-based cohort: 11-year follow-up of PREVEND." Eur Heart J 34(19): 1424-1431.
- Brownlee, M. (2001). "Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications." Nature 414(6865): 813-820.
- Brubaker, P. H., K. C. Joo, et al. (2006). "Chronotropic incompetence and its contribution to exercise intolerance in older heart failure patients." J Cardiopulm Rehabil 26(2): 86-89.
- Bruch, C., A. Schmermund, et al. (2000). "Tei-index in patients with mild-to-moderate congestive heart failure." Eur Heart J 21: 1888-1895.
- Brucks, S., W. C. Little, et al. (2005). "Contribution of left ventricular diastolic dysfunction to heart failure regardless of ejection fraction." Am J Cardiol 95(5): 603-606.
- Brun, P., C. Tribouilloy, et al. (1992). "Left ventricular flow propagation during early filling is related to wall relaxation: a color M-mode Doppler analysis." J Am Coll Cardiol 20(2): 420-432.
- Brutsaert, D. L. (1987). "Nonuniformity: a physiologic modulator of contraction and relaxation of the normal heart." J Am Coll Cardiol 9(2): 341-348.
- Brutsaert, D. L., N. M. de Clerck, et al. (1978). "Relaxation of ventricular cardiac muscle." J Physiol 283: 469-480.
- Brutsaert, D. L. and G. W. De Keulenaer (2006). "Diastolic heart failure: a myth." Curr Opin Cardiol 21(3): 240-248.
- Brutsaert, D. L., P. Fransen, et al. (1998). "Cardiac endothelium and myocardial function." Cardiovasc Res 38(2): 281-290.
- Brutsaert, D. L., P. R. Housmans, et al. (1980). "Dual control of relaxation. Its role in the ventricular function in the mammalian heart." Circ Res 47(5): 637-652.
- Brutsaert, D. L., F. E. Rademakers, et al. (1984). "Triple control of relaxation: implications in cardiac disease." Circulation 69(1): 190-196.

- Brutsaert, D. L. and S. U. Sys (1989). "Relaxation and diastole of the heart." Physiological Reviews 69(4): 1228-1315.
- Brutsaert, D. L. and S. U. Sys (1997). "Diastolic dysfunction in heart failure." J Card Fail 3(3): 225-242.
- Buchalter, M. B., F. E. Rademakers, et al. (1994). "Rotational deformation of the canine left ventricle measured by magnetic resonance tagging: effects of catecholamines, ischaemia, and pacing." Cardiovasc Res. 28(5): 629-635.
- Bujak, M. and N. G. Frangogiannis (2009). "The role of IL-1 in the pathogenesis of heart disease." Arch Immunol Ther Exp (Warsz) 57(3): 165-176.
- Burgess, M. I., C. Jenkins, et al. (2006). "Diastolic stress echocardiography: hemodynamic validation and clinical significance of estimation of ventricular filling pressure with exercise." J Am Coll Cardiol 47(9): 1891-1900.
- Bursi, F., S. A. Weston, et al. (2006). "Systolic and diastolic heart failure in the community." JAMA 296(18): 2209-2216.
- Carroll, J. D., E. P. Carroll, et al. (1992). "Sex-associated differences in left ventricular function in aortic stenosis of the elderly." Circulation 86(4): 1099-1107.
- Caruana, L., M. C. Petrie, et al. (2000). "Do patients with suspected heart failure and preserved left ventricular systolic function suffer from "diastolic heart failure" or from misdiagnosis? A prospective descriptive study." BMJ 321(7255): 215-218.
- Cerisano, G., L. Bolognese, et al. (2001). "Prognostic implications of restrictive left ventricular filling in reperfused anterior acute myocardial infarction." J Am Coll Cardiol 37(3): 793-799.
- Cesari, M., B. W. Penninx, et al. (2003). "Inflammatory markers and onset of cardiovascular events: results from the Health ABC study." Circulation 108(19): 2317-2322.
- Chantler, P. D., E. G. Lakatta, et al. (2008). "Arterial-ventricular coupling: mechanistic insights into cardiovascular performance at rest and during exercise." J Appl Physiol 105(4): 1342-1351.
- Chattopadhyay, S., M. F. Alamgir, et al. (2010). "Lack of diastolic reserve in patients with heart failure and normal ejection fraction." Circ Heart Fail 3(1): 35-43.
- Chuck, L. H., M. A. Goethals, et al. (1981). "Load-insensitive relaxation caused by hypoxia in mammalian cardiac muscle." Circ Res 48(6 Pt 1): 797-803.
- Chung, C. S., K. R. Hutchinson, et al. (2013). "Shortening of the elastic tandem immunoglobulin segment of titin leads to diastolic dysfunction." Circulation 128(1): 19-28.
- Clark, A. L., P. A. Poole-Wilson, et al. (1996). "Exercise limitation in chronic heart failure: central role of the periphery." J Am Coll Cardiol 28(5): 1092-1102.

- Cleland, J. G., M. Tendera, et al. (2006). "The perindopril in elderly people with chronic heart failure (PEP-CHF) study." Eur Heart J 27(19): 2338-2345.
- Colin, P., B. Ghaleh, et al. (2002). "Differential effects of heart rate reduction and beta-blockade on left ventricular relaxation during exercise." Am J Physiol Heart Circ Physiol 282(2): H672-679.
- Colucci, W. S., J. P. Ribeiro, et al. (1989). "Impaired chronotropic response to exercise in patients with congestive heart failure. Role of postsynaptic beta-adrenergic desensitization." Circulation 80(2): 314-323.
- Conraads, V. M., M. Metra, et al. (2012). "Effects of the long-term administration of nebivolol on the clinical symptoms, exercise capacity, and left ventricular function of patients with diastolic dysfunction: results of the ELANDD study." Eur J Heart Fail 14(2): 219-225.
- CONSENSUS, T. S. G. (1987). "Effects of enalapril on mortality in severe congestive heart failure. Results of the Cooperative North Scandinavian Enalapril Survival Study (CONSENSUS). ." N Engl J Med 316(23): 1429-1435.
- Coudray, N., J. P. Beregi, et al. (1993). "Effects of isoproterenol on myocardial relaxation rate: influence of the level of load." Am J Physiol 265(5 Pt 2): H1645-1653.
- Creemers, E. E., J. P. Cleutjens, et al. (2001). "Matrix metalloproteinase inhibition after myocardial infarction: a new approach to prevent heart failure?" Circ Res 89(3): 201-210.
- Dagdelen, S., N. Eren, et al. (2001). "Estimation of left ventricular end-diastolic pressure by color M-mode Doppler echocardiography and tissue Doppler imaging." J Am Soc Echocardiogr 14(10): 951-958.
- Dahlof, B. and L. Hansson (1992). "Regression of left ventricular hypertrophy in previously untreated essential hypertension: different effects of enalapril and hydrochlorothiazide." J Hypertens 10(12): 1513-1524.
- Dahlof, B., A. Zanchetti, et al. (2002). "Effects of losartan and atenolol on left ventricular mass and neurohormonal profile in patients with essential hypertension and left ventricular hypertrophy." J Hypertens 20(9): 1855-1864.
- Daniel, K. R., G. Wells, et al. (2009). "Effect of aldosterone antagonism on exercise tolerance, Doppler diastolic function, and quality of life in older women with diastolic heart failure." Congest Heart Fail 15(2): 68-74.
- Davies, M., F. Hobbs, et al. (2001). "Prevalence of left-ventricular systolic dysfunction and heart failure in the Echocardiographic Heart of England Screening study: a population based study." Lancet 358(9280): 439-444.



- Davis, B. R., J. B. Kostis, et al. (2008). "Heart failure with preserved and reduced left ventricular ejection fraction in the antihypertensive and lipid-lowering treatment to prevent heart attack trial." Circulation 118(22): 2259-2267.
- De Keulenaer, G. W. and D. L. Brutsaert (2011). "Systolic and diastolic heart failure are overlapping phenotypes within the heart failure spectrum." Circulation 123(18): 1996-2004; discussion 2005.
- del Monte, F. and R. J. Hajjar (2003). "Targeting calcium cycling proteins in heart failure through gene transfer." J Physiol 546(Pt 1): 49-61.
- Derumeaux, G., M. Ovize, et al. (1998). "Doppler tissue imaging quantitates regional wall motion during myocardial ischemia and reperfusion." Circulation 97(19): 1970-1977.
- Devereux, R. B., B. Dahlöf, et al. (2004). "Regression of hypertensive left ventricular hypertrophy by losartan compared with atenolol: the Losartan Intervention for Endpoint Reduction in Hypertension (LIFE) trial." Circulation 110(11): 1456-1462.
- Devereux, R. B., M. J. Roman, et al. (2000). "Impact of diabetes on cardiac structure and function: the strong heart study." Circulation 101(19): 2271-2276.
- Dickstein, K., P. E. Vardas, et al. (2010). "2010 Focused Update of ESC Guidelines on device therapy in heart failure: an update of the 2008 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure and the 2007 ESC Guidelines for cardiac and resynchronization therapy. Developed with the special contribution of the Heart Failure Association and the European Heart Rhythm Association." Europace 12(11): 1526-1536.
- Dong, S. J., P. S. Hees, et al. (2001). "MRI assessment of LV relaxation by untwisting rate: a new isovolumic phase measure of tau." Am J Physiol Heart Circ Physiol 281(5): H2002-2009.
- Douglas, P. S., S. E. Katz, et al. (1998). "Hypertrophic remodeling: gender differences in the early response to left ventricular pressure overload." J Am Coll Cardiol 32(4): 1118-1125.
- Dounis, V., T. Siegmund, et al. (2006). "Global myocardial perfusion and diastolic function are impaired to a similar extent in patients with type 2 diabetes mellitus and in patients with coronary artery disease--evaluation by contrast echocardiography and pulsed tissue Doppler." Diabetologia 49(11): 2729-2740.
- Edelmann, F., A. G. Schmidt, et al. (2010). "Rationale and design of the 'aldosterone receptor blockade in diastolic heart failure' trial: a double-blind, randomized, placebo-controlled, parallel group study to determine the effects of spironolactone on exercise capacity and diastolic function in patients with symptomatic diastolic heart failure (Aldo-DHF)." Eur J Heart Fail 12(8): 874-882.

- Edelmann, F., R. Stahrenberg, et al. (2011). "Contribution of comorbidities to functional impairment is higher in heart failure with preserved than with reduced ejection fraction." Clin Res Cardiol 100(9): 755-764.
- Edelmann, F., R. Wachter, et al. (2013). "Effect of spironolactone on diastolic function and exercise capacity in patients with heart failure with preserved ejection fraction: the Aldo-DHF randomized controlled trial." JAMA 309(8): 781-791.
- Ekelund, U. E., R. W. Harrison, et al. (1999). "Intravenous allopurinol decreases myocardial oxygen consumption and increases mechanical efficiency in dogs with pacing-induced heart failure." Circ Res 85(5): 437-445.
- El-Menyar, A. A. (2008). "Cytokines and myocardial dysfunction: state of the art." J Card Fail 14(1): 61-74.
- Emery, W. T., I. Jadavji, et al. (2008). "Investigating the European Society of Cardiology Diastology Guidelines in a practical scenario." Eur J Echocardiogr 9(5): 685-691.
- Ennezat, P. V., Y. Lefetz, et al. (2008). "Left ventricular abnormal response during dynamic exercise in patients with heart failure and preserved left ventricular ejection fraction at rest." J Card Fail 14(6): 475-480.
- Ennis, D. B., F. H. Epstein, et al. (2003). "Assessment of regional systolic and diastolic dysfunction in familial hypertrophic cardiomyopathy using MR tagging." Magn Reson Med 50: 638-642.
- Failure", E. S. G. o. D. H. (1998). "How to diagnose diastolic heart failure." Eur Heart J 19: 990-1003.
- Fallo, F., S. Budano, et al. (1994). "Left ventricular structural characteristics in Cushing's syndrome." J Hum Hypertens 8(7): 509-513.
- Fein, F. S., A. Malhotra, et al. (1984). "Diabetic cardiomyopathy in rats: mechanical and biochemical response to different insulin doses." Am J Physiol 247(5 Pt 2): H817-823.
- Feiring, A. J., J. A. Rumberger, et al. (1988). "Sectional and segmental variability of left ventricular function: experimental and clinical studies using ultrafast computed tomography." J Am Coll Cardiol 12(2): 415-425.
- Firstenberg, M. S., N. L. Greenberg, et al. (2001). "Determinants of diastolic myocardial tissue Doppler velocities: influences of relaxation and preload." J Appl Physiol 90(1): 299-307.
- Fischer, M., A. Baessler, et al. (2003). "Prevalence of left ventricular diastolic dysfunction in the community. Results from a Doppler echocardiographic-based survey of a population sample." Eur Heart J 24: 320-328.

- Fitzsimons, D. P., J. R. Patel, et al. (1998). "Role of myosin heavy chain composition in kinetics of force development and relaxation in rat myocardium." J Physiol 513 ( Pt 1): 171-183.
- Flather, M. D., M. C. Shibata, et al. (2005). "Randomized trial to determine the effect of nebivolol on mortality and cardiovascular hospital admission in elderly patients with heart failure (SENIORS)." Eur Heart J 26(3): 215-225.
- Fonarow, G. C., W. G. Stough, et al. (2007). "Characteristics, treatments, and outcomes of patients with preserved systolic function hospitalized for heart failure: a report from the OPTIMIZE-HF Registry." J Am Coll Cardiol 50(8): 768-777.
- Fornander, Y., B. Nilsson, et al. (2004). "Left ventricular longitudinal relaxation velocity: a sensitive index of diastolic function." Scand Cardiovasc J 38(1): 33-38.
- Frank, K. F., B. Bolck, et al. (2002). "Modulation of SERCA: implications for the failing human heart." Basic Res Cardiol 97 Suppl 1: I72-78.
- Frank, O. (1895). "Zur dynamik des herzmuskels." Z Biol 32: 370-437.
- Fuchs, E., M. F. Müller, et al. (2004). "Cardiac rotation and relaxation in patients with chronic heart failure." Eur J Heart Fail 6(6): 715-722.
- Fukuta, H. and W. C. Little (2007). "Contribution of systolic and diastolic abnormalities to heart failure with a normal and a reduced ejection fraction." Prog Cardiovasc Dis 49(4): 229-240.
- Gaasch, W. H., W. E. Battle, et al. (1972). "Left ventricular stress and compliance in man. With special reference to normalized ventricular function curves." Circulation 45(4): 746-762.
- Gaasch, W. H., H. J. Levine, et al. (1976). "Left ventricular compliance: mechanisms and clinical implications." Am J Cardiol 38(5): 645-653.
- Gandhi, S. K., J. C. Powers, et al. (2001). "The pathogenesis of acute pulmonary edema associated with hypertension." N Engl J Med 344(1): 17-22.
- Garcia, M. J., M. A. Ares, et al. (1997). "An index of early left ventricular filling that combined with pulsed Doppler peak E velocity may estimate capillary wedge pressure." J Am Coll Cardiol 29(2): 448-454.
- Garcia, M. J., N. G. Smedira, et al. (2000). "Color M-mode Doppler flow propagation velocity is a preload insensitive index of left ventricular relaxation: animal and human validation." J Am Coll Cardiol 35(1): 201-208.
- Geisterfer-Lowrance, A. A., M. Christe, et al. (1996). "A mouse model of familial hypertrophic cardiomyopathy." Science 272(5262): 731-734.
- Gelpi, R. J., A. Pasipoularides, et al. (1991). "Changes in diastolic cardiac function in developing and stable perinephritic hypertension in conscious dogs." Circ Res 68(2): 555-567.

- Giannetta, E., A. M. Isidori, et al. (2012). "Chronic Inhibition of cGMP phosphodiesterase 5A improves diabetic cardiomyopathy: a randomized, controlled clinical trial using magnetic resonance imaging with myocardial tagging." *Circulation* 125(19): 2323-2333.
- Gillebert, T. C., A. F. Leite-Moreira, et al. (2000). "Load dependent diastolic dysfunction in heart failure." *Heart Fail Rev* 5(4): 345-355.
- Gillebert, T. C. and W. Y. Lew (1991). "Influence of systolic pressure profile on rate of left ventricular pressure fall." *Am J Physiol* 261(3 Pt 2): H805-813.
- Glantz, S. A. and W. W. Parmley (1978). "Factors which affect the diastolic pressure-volume curve." *Circ Res* 42(2): 171-180.
- Gonzalez, A., B. Lopez, et al. (2010). "Filling pressures and collagen metabolism in hypertensive patients with heart failure and normal ejection fraction." *Hypertension* 55(6): 1418-1424.
- Gonzalez-Vilchez, F., M. Ares, et al. (1999). "Combined use of pulsed and color M-mode Doppler echocardiography for the estimation of pulmonary capillary wedge pressure: an empirical approach based on an analytical relation." *J Am Coll Cardiol* 34(2): 515-523.
- Gonzalez-Vilchez, F., J. Ayuela, et al. (2005). "Oxidative stress and fibrosis in incipient myocardial dysfunction in type 2 diabetic patients." *Int J Cardiol* 101(1): 53-58.
- Gradman, A. H., R. E. Schmieder, et al. (2005). "Aliskiren, a novel orally effective renin inhibitor, provides dose-dependent antihypertensive efficacy and placebo-like tolerability in hypertensive patients." *Circulation* 111(8): 1012-1018.
- Grandi, A. M., E. Piantanida, et al. (2006). "Effect of glycemic control on left ventricular diastolic function in type 1 diabetes mellitus." *Am J Cardiol* 97(1): 71-76.
- Granger, C. B., J. J. McMurray, et al. (2003). "Effects of candesartan in patients with chronic heart failure and reduced left-ventricular systolic function intolerant to angiotensin-converting-enzyme inhibitors: the CHARM-Alternative trial." *Lancet* 362(9386): 772-776.
- Granzier, H. L. and T. C. Irving (1995). "Passive tension in cardiac muscle: contribution of collagen, titin, microtubules, and intermediate filaments." *Biophys J* 68(3): 1027-1044.
- Greenberg, N. L., M. S. Firstenberg, et al. (2002). "Doppler-derived myocardial systolic strain rate is a strong index of left ventricular contractility." *Circulation* 105(1): 99-105.
- Greenfield, J. R. and L. V. Campbell (2006). "Relationship between inflammation, insulin resistance and type 2 diabetes: 'cause or effect'?" *Curr Diabetes Rev* 2(2): 195-211.
- Grigorian Shamagian, L., J. R. Gonzalez-Juanatey, et al. (2005). "The death rate among hospitalized heart failure patients with normal and depressed left ventricular ejection fraction in the year following discharge: evolution over a 10-year period." *Eur Heart J* 26(21): 2251-2258.

- Grossman, W. (1986). "Assessment of regional myocardial function." J Am Coll Cardiol 7(2): 327-328.
- Grossman, W. and L. P. McLaurin (1976). "Diastolic properties of the left ventricle." Ann Intern Med 84(3): 316-326.
- Grutzner, A., S. Garcia-Manyes, et al. (2009). "Modulation of titin-based stiffness by disulfide bonding in the cardiac titin N2-B unique sequence." Biophys J 97(3): 825-834.
- Guazzi, M., M. Vicenzi, et al. (2011). "Pulmonary hypertension in heart failure with preserved ejection fraction: a target of phosphodiesterase-5 inhibition in a 1-year study." Circulation 124(2): 164-174.
- Guder, G., S. Frantz, et al. (2009). "Reverse epidemiology in systolic and nonsystolic heart failure: cumulative prognostic benefit of classical cardiovascular risk factors." Circ Heart Fail 2(6): 563-571.
- Guyton, A. C. (1955). "Determination of cardiac output by equating venous return curves with cardiac response curves." Physiol Rev 35(1): 123-129.
- Haass, M., D. W. Kitzman, et al. (2011). "Body mass index and adverse cardiovascular outcomes in heart failure patients with preserved ejection fraction: results from the Irbesartan in Heart Failure with Preserved Ejection Fraction (I-PRESERVE) trial." Circ Heart Fail 4(3): 324-331.
- Hajjar, R. J., U. Schmidt, et al. (1997). "Ca<sup>++</sup> sensitizers impair cardiac relaxation in failing human myocardium." J Pharmacol Exp Ther 280(1): 247-254.
- Hammer, S., M. Snel, et al. (2008). "Prolonged caloric restriction in obese patients with type 2 diabetes mellitus decreases myocardial triglyceride content and improves myocardial function." J Am Coll Cardiol 52(12): 1006-1012.
- Handoko, M. L. and W. J. Paulus (2008). "New statement of the European Society of Cardiology on diagnosing diastolic heart failure: what are the key messages." Pol Arch Med Wewn 118(3): 100-101.
- Hasenfuss, G., W. Schillinger, et al. (1999). "Relationship between Na<sup>+</sup>-Ca<sup>2+</sup>-exchanger protein levels and diastolic function of failing human myocardium." Circulation 99(5): 641-648.
- Hatle, L. and G. R. Sutherland (2000). "Regional myocardial function--a new approach." Eur Heart J 21(16): 1337-1357.
- Hausdorf, G., U. Rieger, et al. (1988). "Cardiomyopathy in childhood diabetes mellitus: incidence, time of onset, and relation to metabolic control." Int J Cardiol 19(2): 225-236.

- Henderson, Y. (1906). "The volume curve of the ventricles of the mammalian heart and the significance of this curve in respect to the mechanics of the heart-beat and the filling of the ventricles." Am. J. Physiol. 16: 325-367.
- Herman, M. V. and R. Gorlin (1969). "Implications of left ventricular asynergy." Am J Cardiol 23(4): 538-547.
- Hernandez, A. F., B. G. Hammill, et al. (2009). "Clinical effectiveness of beta-blockers in heart failure: findings from the OPTIMIZE-HF (Organized Program to Initiate Lifesaving Treatment in Hospitalized Patients with Heart Failure) Registry." J Am Coll Cardiol 53(2): 184-192.
- Heusch, G., A. Skyschally, et al. (2008). "Improvement of regional myocardial blood flow and function and reduction of infarct size with ivabradine: protection beyond heart rate reduction." Eur Heart J 29(18): 2265-2275.
- Hidalgo, C. and H. Granzier (2013). "Tuning the molecular giant titin through phosphorylation: Role in health and disease." Trends Cardiovasc Med 23(5): 165-171.
- Higginbotham, M. B., K. G. Morris, et al. (1986). "Regulation of stroke volume during submaximal and maximal upright exercise in normal man." Circ Res 58(2): 281-291.
- Hittinger, L., B. Ghaleh, et al. (1999). "Reduced subendocardial ryanodine receptors and consequent effects on cardiac function in conscious dogs with left ventricular hypertrophy." Circ Res 84(9): 999-1006.
- Hittinger, L., T. Patrick, et al. (1994). "Exercise induces cardiac dysfunction in both moderate, compensated and severe hypertrophy." Circulation 89(5): 2219-2231.
- Hogg, K., K. Swedberg, et al. (2004). "Heart failure with preserved left ventricular systolic function; epidemiology, clinical characteristics, and prognosis." J Am Coll Cardiol 43(3): 317-327.
- Hordern, M. D., J. S. Coombes, et al. (2009). "Effects of exercise intervention on myocardial function in type 2 diabetes." Heart 95(16): 1343-1349.
- Hoshijima, M., Y. Ikeda, et al. (2002). "Chronic suppression of heart-failure progression by a pseudophosphorylated mutant of phospholamban via in vivo cardiac rAAV gene delivery." Nat Med 8(8): 864-871.
- Hundley, W. G., D. W. Kitzman, et al. (2001). "Cardiac cycle-dependent changes in aortic area and distensibility are reduced in older patients with isolated diastolic heart failure and correlate with exercise intolerance." J Am Coll Cardiol 38(3): 796-802.

- Hung, M. J., W. J. Cherg, et al. (2002). "Effect of verapamil in elderly patients with left ventricular diastolic dysfunction as a cause of congestive heart failure." Int J Clin Pract 56(1): 57-62.
- Hunt, S. A., W. T. Abraham, et al. (2009). "2009 Focused update incorporated into the ACC/AHA 2005 Guidelines for the Diagnosis and Management of Heart Failure in Adults A Report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines Developed in Collaboration With the International Society for Heart and Lung Transplantation." J Am Coll Cardiol 53(15): e1-e90.
- Hurrell, D. G., R. A. Nishimura, et al. (1997). "Utility of preload alteration in assessment of left ventricular filling pressure by Doppler echocardiography: a simultaneous catheterization and Doppler echocardiographic study." J Am Coll Cardiol 30(2): 459-467.
- Iversen, K. K., J. Kjaergaard, et al. (2008). "Chronic obstructive pulmonary disease in patients admitted with heart failure." J Intern Med 264(4): 361-369.
- Izawa, H., T. Murohara, et al. (2005). "Mineralocorticoid receptor antagonism ameliorates left ventricular diastolic dysfunction and myocardial fibrosis in mildly symptomatic patients with idiopathic dilated cardiomyopathy: a pilot study." Circulation 112(19): 2940-2945.
- Jacobshagen, C., L. Belardinelli, et al. (2011). "Ranolazine for the treatment of heart failure with preserved ejection fraction: background, aims, and design of the RALI-DHF study." Clin Cardiol 34(7): 426-432.
- Jarnert, C., L. Landstedt-Hallin, et al. (2009). "A randomized trial of the impact of strict glycaemic control on myocardial diastolic function and perfusion reserve: a report from the DADD (Diabetes mellitus And Diastolic Dysfunction) study." Eur J Heart Fail 11(1): 39-47.
- Jessup, M., W. T. Abraham, et al. (2009). "2009 focused update: ACCF/AHA Guidelines for the Diagnosis and Management of Heart Failure in Adults: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines: developed in collaboration with the International Society for Heart and Lung Transplantation." Circulation 119(14): 1977-2016.
- Kalogeropoulos, A., V. Georgiopoulou, et al. (2010). "Inflammatory markers and incident heart failure risk in older adults: the Health ABC (Health, Aging, and Body Composition) study." J Am Coll Cardiol 55(19): 2129-2137.
- Kamimura, D., T. Ohtani, et al. (2012). "Ca<sup>2+</sup> entry mode of Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup> exchanger as a new therapeutic target for heart failure with preserved ejection fraction." Eur Heart J 33(11): 1408-1416.

- Kaneko, H., S. Suzuki, et al. (2013). "Clinical characteristics and long-term clinical outcomes of Japanese heart failure patients with preserved versus reduced left ventricular ejection fraction: A prospective cohort of Shinken Database 2004-2011." J Cardiol 62(2): 102-109.
- Kasner, M., D. Westermann, et al. (2007). "Utility of Doppler echocardiography and tissue Doppler imaging in the estimation of diastolic function in heart failure with normal ejection fraction: a comparative Doppler-conductance catheterization study." Circulation 116(6): 637-647.
- Kass, D. A., J. G. Bronzwaer, et al. (2004). "What mechanisms underlie diastolic dysfunction in heart failure?" Circ Res 94(12): 1533-1542.
- Kass, D. A., D. W. Kitzman, et al. (2010). "The restoration of chronotropic competence in heart failure patients with normal ejection fraction (RESET) study: rationale and design." J Card Fail 16(1): 17-24.
- Kass, D. A., E. P. Shapiro, et al. (2001). "Improved arterial compliance by a novel advanced glycation end-product crosslink breaker." Circulation 104(13): 1464-1470.
- Katz, S. D., K. Balidemaj, et al. (2000). "Acute type 5 phosphodiesterase inhibition with sildenafil enhances flow-mediated vasodilation in patients with chronic heart failure." J Am Coll Cardiol 36(3): 845-851.
- Kawaguchi, M., I. Hay, et al. (2003). "Combined ventricular systolic and arterial stiffening in patients with heart failure and preserved ejection fraction: implications for systolic and diastolic reserve limitations." Circulation 107(5): 714-720.
- Kelly, A., E. B. Elliott, et al. (2012). "The effect of K201 on isolated working rabbit heart mechanical function during pharmacologically induced Ca<sup>2+</sup> overload." Br J Pharmacol 165(4b): 1068-1083.
- Kinnaird, T. D., C. R. Thompson, et al. (2001). "The deceleration [correction of declaration] time of pulmonary venous diastolic flow is more accurate than the pulmonary artery occlusion pressure in predicting left atrial pressure." J Am Coll Cardiol 37(8): 2025-2030.
- Kitzman, D. W., W. C. Little, et al. (2002). "Pathophysiological characterization of isolated diastolic heart failure in comparison to systolic heart failure." JAMA 288(17): 2144-2150.
- Klapholz, M., M. Maurer, et al. (2004). "Hospitalization for heart failure in the presence of a normal left ventricular ejection fraction: results of the New York Heart Failure Registry." J Am Coll Cardiol 43(8): 1432-1438.
- Klein, A. L., D. J. Burstow, et al. (1994). "Effects of age on left ventricular dimensions and filling dynamics in 117 normal persons." Mayo Clin Proc 69(3): 212-224.
- Kobayashi, K., P. W. Kotilainen, et al. (1979). "Cardiac responses to impulse exercise and recovery: systolic time intervals." Eur J Cardiol 10(6): 453-473.



- Kosmala, W., R. Derzhko, et al. (2008). "Plasma levels of TNF-alpha, IL-6, and IL-10 and their relationship with left ventricular diastolic function in patients with stable angina pectoris and preserved left ventricular systolic performance." Coron Artery Dis 19(6): 375-382.
- Kosmala, W., M. Przewlocka-Kosmala, et al. (2011). "A randomized study of the beneficial effects of aldosterone antagonism on LV function, structure, and fibrosis markers in metabolic syndrome." JACC Cardiovasc Imaging 4(12): 1239-1249.
- Krumholz, H. M., M. Larson, et al. (1993). "Sex differences in cardiac adaptation to isolated systolic hypertension." Am J Cardiol 72(3): 310-313.
- Kuwahara, F., H. Kai, et al. (2002). "Transforming growth factor-beta function blocking prevents myocardial fibrosis and diastolic dysfunction in pressure-overloaded rats." Circulation 106(1): 130-135.
- Kuwahara, F., H. Kai, et al. (2003). "Roles of intercellular adhesion molecule-1 in hypertensive cardiac remodeling." Hypertension 41(3 Pt 2): 819-823.
- Kuwahara, F., H. Kai, et al. (2004). "Hypertensive myocardial fibrosis and diastolic dysfunction: another model of inflammation?" Hypertension 43(4): 739-745.
- Kuznetsova, T., L. Herbots, et al. (2009). "Prevalence of left ventricular diastolic dysfunction in a general population." Circ Heart Fail 2(2): 105-112.
- Kwon, B. J., D. B. Kim, et al. (2010). "Prognosis of heart failure patients with reduced and preserved ejection fraction and coexistent chronic obstructive pulmonary disease." Eur J Heart Fail 12(12): 1339-1344.
- Lafitte, S., P. Bordachar, et al. (2006). "Dynamic ventricular dyssynchrony: an exercise-echocardiography study." J Am Coll Cardiol 47(11): 2253-2259.
- Lahmers, S., Y. Wu, et al. (2004). "Developmental control of titin isoform expression and passive stiffness in fetal and neonatal myocardium." Circ Res 94(4): 505-513.
- Lai, A. and W. H. Frishman (2005). "Rho-kinase inhibition in the therapy of cardiovascular disease." Cardiol Rev 13(6): 285-292.
- Lakatta, E. G. (1979). "Alterations in the cardiovascular system that occur in advanced age." Fed Proc 38(2): 163-167.
- Lam, C. S., B. A. Borlaug, et al. (2009). "Age-associated increases in pulmonary artery systolic pressure in the general population." Circulation 119(20): 2663-2670.
- Lam, C. S., P. E. Carson, et al. (2012). "Sex differences in clinical characteristics and outcomes in elderly patients with heart failure and preserved ejection fraction: the Irbesartan in Heart Failure with Preserved Ejection Fraction (I-PRESERVE) trial." Circ Heart Fail 5(5): 571-578.

- Lam, C. S., V. L. Roger, et al. (2009). "Pulmonary hypertension in heart failure with preserved ejection fraction: a community-based study." J Am Coll Cardiol 53(13): 1119-1126.
- Lance, V. Q. and D. H. Spodick (1975). "Constant-load versus heart rate-targeted exercise: responses of systolic intervals." J Appl Physiol 38(5): 794-800.
- Lang, C. C., H. M. McAlpine, et al. (1995). "Effects of lisinopril on congestive heart failure in normotensive patients with diastolic dysfunction but intact systolic function." Eur J Clin Pharmacol 49(1-2): 15-19.
- Leite-Moreira, A. F. and J. Correia-Pinto (2001). "Load as an acute determinant of end-diastolic pressure-volume relation." Am J Physiol Heart Circ Physiol 280(1): H51-59.
- Leite-Moreira, A. F., J. Correia-Pinto, et al. (1999). "Afterload induced changes in myocardial relaxation: a mechanism for diastolic dysfunction." Cardiovasc Res 43(2): 344-353.
- Leite-Moreira, A. F. and T. C. Gillebert (1994). "Nonuniform course of left ventricular pressure fall and its regulation by load and contractile state." Circulation 90(5): 2481-2491.
- Lele, S. S., H. L. Thomson, et al. (1995). "Exercise capacity in hypertrophic cardiomyopathy. Role of stroke volume limitation, heart rate, and diastolic filling characteristics." Circulation 92(10): 2886-2894.
- Lenzen, M. J., W. J. Scholte op Reimer, et al. (2004). "Differences between patients with a preserved and a depressed left ventricular function: a report from the EuroHeart Failure Survey." Eur Heart J 25(14): 1214-1220.
- Leung, W. H., K. L. Wong, et al. (1990). "Doppler echocardiographic evaluation of left ventricular diastolic function in patients with systemic lupus erythematosus." Am Heart J 120(1): 82-87.
- Levine, B., J. Kalman, et al. (1990). "Elevated circulating levels of tumor necrosis factor in severe chronic heart failure." N Engl J Med 323(4): 236-241.
- Lewis, G. D., J. Lachmann, et al. (2007). "Sildenafil improves exercise hemodynamics and oxygen uptake in patients with systolic heart failure." Circulation 115(1): 59-66.
- Lewis, T. R., M.A. (1915). "The excitatory Process in the Dog's Heart." Philosophical Transactions of the Royal Society of London: 181-226.
- Liao, L., J. G. Jollis, et al. (2006). "Costs for heart failure with normal vs reduced ejection fraction." Arch Intern Med 166(1): 112-118.
- Lindenfeld, J., N. M. Albert, et al. (2010). "HFSA 2010 Comprehensive Heart Failure Practice Guideline." J Card Fail 16(6): e1-194.
- Linke, W. A., V. I. Popov, et al. (1994). "Passive and active tension in single cardiac myofibrils." Biophys J 67(2): 782-792.

- Little, W. C., M. R. Zile, et al. (2005). "The effect of alagebrium chloride (ALT-711), a novel glucose cross-link breaker, in the treatment of elderly patients with diastolic heart failure." J Card Fail 11(3): 191-195.
- Liu, C. P., C. T. Ting, et al. (1993). "Diminished contractile response to increased heart rate in intact human left ventricular hypertrophy. Systolic versus diastolic determinants." Circulation 88(4 Pt 1): 1893-1906.
- Liu, J. E., V. Palmieri, et al. (2001). "The impact of diabetes on left ventricular filling pattern in normotensive and hypertensive adults: the Strong Heart Study." J Am Coll Cardiol 37(7): 1943-1949.
- Lopez, B., A. Gonzalez, et al. (2010). "Circulating biomarkers of collagen metabolism in cardiac diseases." Circulation 121(14): 1645-1654.
- Lorenz, C. H., J. S. Pastorek, et al. (2000). "Delineation of normal human left ventricular twist throughout systole by tagged cine magnetic resonance imaging." J Cardiovasc Magn Reson 2: 97-108.
- Lucats, L., B. Ghaleh, et al. (2007). "Conversion of post-systolic wall thickening into ejectional thickening by selective heart rate reduction during myocardial stunning." Eur Heart J 28(7): 872-879.
- Luo, W., I. L. Grupp, et al. (1994). "Targeted ablation of the phospholamban gene is associated with markedly enhanced myocardial contractility and loss of beta-agonist stimulation." Circ Res 75(3): 401-409.
- Ma, T. K., K. K. Kam, et al. (2010). "Renin-angiotensin-aldosterone system blockade for cardiovascular diseases: current status." Br J Pharmacol 160(6): 1273-1292.
- MacLennan, D. H. and N. M. Green (2000). "Structural biology. Pumping ions." Nature 405(6787): 633-634.
- Maeder, M. T. and D. M. Kaye (2009). "Heart failure with normal left ventricular ejection fraction." J Am Coll Cardiol 53(11): 905-918.
- Maione, S., G. Valentini, et al. (1991). "Evaluation of cardiac structures and function in systemic sclerosis by Doppler echocardiography." Cardiology 79(3): 165-171.
- Makarenko, I., C. A. Opitz, et al. (2004). "Passive stiffness changes caused by upregulation of compliant titin isoforms in human dilated cardiomyopathy hearts." Circ Res 95(7): 708-716.
- Marks, A. R., S. Reiken, et al. (2002). "Progression of heart failure: is protein kinase a hyperphosphorylation of the ryanodine receptor a contributing factor?" Circulation 105(3): 272-275.

- Marwick, T. H. (2004). "Tissue Doppler imaging for evaluation of myocardial function in patients with diabetes mellitus." Curr Opin Cardiol 19(5): 442-446.
- Masoudi, F. A., E. P. Havranek, et al. (2003). "Gender, age, and heart failure with preserved left ventricular systolic function." J Am Coll Cardiol 41(2): 217-223.
- Massie, B. M., P. E. Carson, et al. (2008). "Irbesartan in patients with heart failure and preserved ejection fraction." N Engl J Med 359(23): 2456-2467.
- Massie, B. M., J. J. Nelson, et al. (2007). "Comparison of outcomes and usefulness of carvedilol across a spectrum of left ventricular ejection fractions in patients with heart failure in clinical practice." Am J Cardiol 99(9): 1263-1268.
- Matsubara, H., M. Takaki, et al. (1995). "Logistic time constant of isovolumic relaxation pressure-time curve in the canine left ventricle. Better alternative to exponential time constant." Circulation 92(8): 2318-2326.
- Matsubara, L. S., B. B. Matsubara, et al. (2000). "Alterations in myocardial collagen content affect rat papillary muscle function." Am J Physiol Heart Circ Physiol 279(4): H1534-1539.
- Maurer, M. S., S. Teruya, et al. (2013). "Treating anemia in older adults with heart failure with a preserved ejection fraction with epoetin alfa: single-blind randomized clinical trial of safety and efficacy." Circ Heart Fail 6(2): 254-263.
- McKee, P. A., W. P. Castelli, et al. (1971). "The natural history of congestive heart failure: the Framingham study." N Engl J Med 285(26): 1441-1446.
- McMurray, J. and M. A. Pfeffer (2002). "New therapeutic options in congestive heart failure: Part II." Circulation 105(18): 2223-2228.
- Melenovsky, V., B. A. Borlaug, et al. (2007). "Cardiovascular features of heart failure with preserved ejection fraction versus nonfailing hypertensive left ventricular hypertrophy in the urban Baltimore community: the role of atrial remodeling/dysfunction." J Am Coll Cardiol 49(2): 198-207.
- Miettinen, K. H., J. Lassus, et al. (2008). "Prognostic role of pro- and anti-inflammatory cytokines and their polymorphisms in acute decompensated heart failure." Eur J Heart Fail 10(4): 396-403.
- Miyamoto, M. I., F. del Monte, et al. (2000). "Adenoviral gene transfer of SERCA2a improves left-ventricular function in aortic-banded rats in transition to heart failure." Proc Natl Acad Sci U S A 97(2): 793-798.
- Miyamoto, Y., J. Higuchi, et al. (1983). "Dynamics of cardiac output and systolic time intervals in supine and upright exercise." J Appl Physiol 55(6): 1674-1681.

- Moens, A. L., E. Takimoto, et al. (2008). "Reversal of cardiac hypertrophy and fibrosis from pressure overload by tetrahydrobiopterin: efficacy of recoupling nitric oxide synthase as a therapeutic strategy." Circulation 117(20): 2626-2636.
- Mohammed, S. F., B. A. Borlaug, et al. (2012). "Comorbidity and ventricular and vascular structure and function in heart failure with preserved ejection fraction: a community-based study." Circ Heart Fail 5(6): 710-719.
- Moller, J. E., S. H. Poulsen, et al. (2003). "Impact of early changes in left ventricular filling pattern on long-term outcome after acute myocardial infarction." Int J Cardiol 89(2-3): 207-215.
- Monnet, X., P. Colin, et al. (2004). "Heart rate reduction during exercise-induced myocardial ischaemia and stunning." Eur Heart J 25(7): 579-586.
- Monnet, X., B. Ghaleh, et al. (2006). "Phenotypic adaptation of the late preconditioned heart: myocardial oxygen consumption is reduced." Cardiovasc Res 70(2): 391-398.
- Monnet, X., L. Lucats, et al. (2007). "Reduction in postsystolic wall thickening during late preconditioning." Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2007(292): H158-164.
- Mottram, P. M., B. Haluska, et al. (2004). "Effect of aldosterone antagonism on myocardial dysfunction in hypertensive patients with diastolic heart failure." Circulation 110(5): 558-565.
- Muiesan, M. L., M. Lupia, et al. (2003). "Left ventricular structural and functional characteristics in Cushing's syndrome." J Am Coll Cardiol 41(12): 2275-2279.
- Mullens, W., A. G. Borowski, et al. (2009). "Tissue Doppler imaging in the estimation of intracardiac filling pressure in decompensated patients with advanced systolic heart failure." Circulation 119(1): 62-70.
- Muller-Brunotte, R., T. Kahan, et al. (2006). "Tissue velocity echocardiography shows early improvement in diastolic function with irbesartan and atenolol therapy in patients with hypertensive left ventricular hypertrophy. Results from the Swedish Irbesartan Left Ventricular Hypertrophy Investigation vs Atenolol (SILVHIA)." Am J Hypertens 19(9): 927-936.
- Munagala, V. K., C. Y. Hart, et al. (2005). "Ventricular structure and function in aged dogs with renal hypertension: a model of experimental diastolic heart failure." Circulation 111(9): 1128-1135.
- Murgo, J. P., N. Westerhof, et al. (1980). "Aortic input impedance in normal man: relationship to pressure wave forms." Circulation 62(1): 105-116.
- Nagel, E., M. Stuber, et al. (2000). "Cardiac rotation and relaxation in patients with aortic valve stenosis." 2000 21(7): 582-589.

- Nagueh, S. F., H. A. Kopelen, et al. (1996). "Assessment of left ventricular filling pressures by Doppler in the presence of atrial fibrillation." Circulation 94(9): 2138-2145.
- Nagueh, S. F., N. M. Lakkis, et al. (1999). "Changes in left ventricular diastolic function 6 months after nonsurgical septal reduction therapy for hypertrophic obstructive cardiomyopathy." Circulation 99(3): 344-347.
- Nagueh, S. F., N. M. Lakkis, et al. (1999). "Doppler estimation of left ventricular filling pressures in patients with hypertrophic cardiomyopathy." Circulation 99(2): 254-261.
- Nagueh, S. F., K. J. Middleton, et al. (1997). "Doppler tissue imaging: a noninvasive technique for evaluation of left ventricular relaxation and estimation of filling pressures." J Am Coll Cardiol 30(6): 1527-1533.
- Nagueh, S. F., I. Mikati, et al. (1998). "Doppler estimation of left ventricular filling pressure in sinus tachycardia. A new application of tissue doppler imaging." Circulation 98(16): 1644-1650.
- Nagueh, S. F., G. Shah, et al. (2004). "Altered titin expression, myocardial stiffness, and left ventricular function in patients with dilated cardiomyopathy." Circulation 110(2): 155-162.
- Neagoe, C., M. Kulke, et al. (2002). "Titin isoform switch in ischemic human heart disease." Circulation 106(11): 1333-1341.
- Nijland, F., O. Kamp, et al. (1997). "Prognostic implications of restrictive left ventricular filling in acute myocardial infarction: a serial Doppler echocardiographic study." J Am Coll Cardiol 30(7): 1618-1624.
- Nishimura, R. A., C. P. Appleton, et al. (1996). "Noninvasive doppler echocardiographic evaluation of left ventricular filling pressures in patients with cardiomyopathies: a simultaneous Doppler echocardiographic and cardiac catheterization study." J Am Coll Cardiol 28(5): 1226-1233.
- Nishimura, R. A., R. S. Schwartz, et al. (1993). "Noninvasive measurement of rate of left ventricular relaxation by Doppler echocardiography. Validation with simultaneous cardiac catheterization." Circulation 88(1): 146-155.
- Nishimura, R. A. and A. J. Tajik (1997). "Evaluation of diastolic filling of left ventricle in health and disease: Doppler echocardiography is the clinician's Rosetta Stone." J Am Coll Cardiol 30(1): 8-18.
- O'Rourke, B., D. A. Kass, et al. (1999). "Mechanisms of altered excitation-contraction coupling in canine tachycardia-induced heart failure, I: experimental studies." Circ Res 84(5): 562-570.
- Oikonomou, E., D. Tousoulis, et al. (2011). "The role of inflammation in heart failure: new therapeutic approaches." Hellenic J Cardiol 52(1): 30-40.

- Okura, H., K. Asawa, et al. (2007). "Impact of statin therapy on systemic inflammation, left ventricular systolic and diastolic function and prognosis in low risk ischemic heart disease patients without history of congestive heart failure." Intern Med 46(17): 1337-1343.
- Olivetti, G., G. Giordano, et al. (1995). "Gender differences and aging: effects on the human heart." J Am Coll Cardiol 26(4): 1068-1079.
- Olsson, L. G., K. Swedberg, et al. (2006). "Atrial fibrillation and risk of clinical events in chronic heart failure with and without left ventricular systolic dysfunction: results from the Candesartan in Heart failure-Assessment of Reduction in Mortality and morbidity (CHARM) program." J Am Coll Cardiol 47(10): 1997-2004.
- Ommen, S. R., R. A. Nishimura, et al. (2000). "Clinical utility of Doppler echocardiography and tissue Doppler imaging in the estimation of left ventricular filling pressures: A comparative simultaneous Doppler-catheterization study." Circulation 102(15): 1788-1794.
- Omori, Y., T. Ohtani, et al. (2012). "L-Carnitine prevents the development of ventricular fibrosis and heart failure with preserved ejection fraction in hypertensive heart disease." J Hypertens 30(9): 1834-1844.
- Owan, T. E., D. O. Hodge, et al. (2006). "Trends in prevalence and outcome of heart failure with preserved ejection fraction." N Engl J Med 355(3): 251-259.
- Palmer, S., S. Di Bello, et al. (1995). "The effects of EMD 57033 on rigor tension in porcine skinned cardiac trabecula." Eur J Pharmacol 294(1): 83-90.
- Parmley, W. W. and E. H. Sonnenblick (1969). "Relation between mechanics of contraction and relaxation in mammalian cardiac muscle." Am J Physiol 216(5): 1084-1091.
- Parthasarathy, H. K., B. Pieske, et al. (2009). "A randomized, double-blind, placebo-controlled study to determine the effects of valsartan on exercise time in patients with symptomatic heart failure with preserved ejection fraction." Eur J Heart Fail 11(10): 980-989.
- Parving, H. H., B. M. Brenner, et al. (2009). "Aliskiren Trial in Type 2 Diabetes Using Cardio-Renal Endpoints (ALTITUDE): rationale and study design." Nephrol Dial Transplant 24(5): 1663-1671.
- Patterson, S. W. S., E.H. (1914). "On the mechanical factors which determine the output of the ventricles." J Physiol. 48(5): 357-379.
- Paulus, W. J., J. G. Bronzwaer, et al. (1992). "Deficient acceleration of left ventricular relaxation during exercise after heart transplantation." Circulation 86(4): 1175-1185.
- Paulus, W. J., C. Tschope, et al. (2007). "How to diagnose diastolic heart failure: a consensus statement on the diagnosis of heart failure with normal left ventricular ejection fraction by

- the Heart Failure and Echocardiography Associations of the European Society of Cardiology." Eur Heart J 28(20): 2539-2550.
- Paulus, W. J. and J. J. van Ballegoij (2010). "Treatment of heart failure with normal ejection fraction: an inconvenient truth!" J Am Coll Cardiol 55(6): 526-537.
- Paulus, W. J., P. J. Vantrimpont, et al. (1994). "Acute effects of nitric oxide on left ventricular relaxation and diastolic distensibility in humans. Assessment by bicoronary sodium nitroprusside infusion." Circulation 89(5): 2070-2078.
- Perez, N. G., W. D. Gao, et al. (1998). "Novel myofilament Ca<sup>2+</sup>-sensitizing property of xanthine oxidase inhibitors." Circ Res 83(4): 423-430.
- Perk, G., P. A. Tunick, et al. (2007). "Non-Doppler two-dimensional strain imaging by echocardiography--from technical considerations to clinical applications." J Am Soc Echocardiogr 20(3): 234-243.
- Petrie, M. and J. McMurray (2001). "Changes in notions about heart failure." Lancet 358(9280): 432-434.
- Phan, T. T., K. Abozguia, et al. (2009). "Heart failure with preserved ejection fraction is characterized by dynamic impairment of active relaxation and contraction of the left ventricle on exercise and associated with myocardial energy deficiency." J Am Coll Cardiol 54(5): 402-409.
- Phan, T. T., G. N. Shivu, et al. (2010). "Impaired heart rate recovery and chronotropic incompetence in patients with heart failure with preserved ejection fraction." Circ Heart Fail 3(1): 29-34.
- Pinsky, D. J., S. Patton, et al. (1997). "Mechanical transduction of nitric oxide synthesis in the beating heart." Circ Res 81(3): 372-379.
- Pinto, J. G. and R. Win (1977). "Non-uniform strain distribution in papillary muscles." Am J Physiol 233(3): H410-416.
- Pipilis, A., T. E. Meyer, et al. (1992). "Early and late changes in left ventricular filling after acute myocardial infarction and the effect of infarct size." Am J Cardiol 70(18): 1397-1401.
- Pitt, B., G. Williams, et al. (2001). "The EPHEsus trial: eplerenone in patients with heart failure due to systolic dysfunction complicating acute myocardial infarction. Eplerenone Post-AMI Heart Failure Efficacy and Survival Study." Cardiovasc Drugs Ther 15(1): 79-87.
- Pitt, B., F. Zannad, et al. (1999). "The effect of spironolactone on morbidity and mortality in patients with severe heart failure. Randomized Aldactone Evaluation Study Investigators." N Engl J Med 341(10): 709-717.



- Pocock, S. J., C. A. Ariti, et al. (2013). "Predicting survival in heart failure: a risk score based on 39 372 patients from 30 studies." Eur Heart J 34(19): 1404-1413.
- Pollack, P. S., A. Malhotra, et al. (1986). "Effects of diabetes on cardiac contractile proteins in rabbits and reversal with insulin." Am J Physiol 251(2 Pt 2): H448-454.
- Polyakova, V., S. Hein, et al. (2004). "Matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors in pressure-overloaded human myocardium during heart failure progression." J Am Coll Cardiol 44(8): 1609-1618.
- Poulsen, S. H., N. H. Andersen, et al. (2005). "Relation between plasma amino-terminal propeptide of procollagen type III and left ventricular longitudinal strain in essential hypertension." Heart 91(5): 624-629.
- Prestle, J., S. Dieterich, et al. (1999). "Heterogeneous transmural gene expression of calcium-handling proteins and natriuretic peptides in the failing human heart." Cardiovasc Res 43(2): 323-331.
- Querejeta, R., N. Varo, et al. (2000). "Serum carboxy-terminal propeptide of procollagen type I is a marker of myocardial fibrosis in hypertensive heart disease." Circulation 101(14): 1729-1735.
- Rademakers, F. E., M. B. Buchalter, et al. (1992). "Dissociation between left ventricular untwisting and filling. Accentuation by catecholamines." Circulation 85(4): 1572-1581.
- Raff, G. L. and S. A. Glantz (1981). "Volume loading slows left ventricular isovolumic relaxation rate. Evidence of load-dependent relaxation in the intact dog heart." Circ Res 48(6 Pt 1): 813-824.
- Raymond, R. J., G. J. Dehmer, et al. (2001). "Elevated interleukin-6 levels in patients with asymptomatic left ventricular systolic dysfunction." Am Heart J 141(3): 435-438.
- Reape, T. J. and P. H. Groot (1999). "Chemokines and atherosclerosis." Atherosclerosis 147(2): 213-225.
- Redfield, M. M., B. A. Borlaug, et al. (2012). "Phosphodiesterase-5 Inhibition to Improve Clinical Status and Exercise Capacity in Diastolic Heart Failure (RELAX) trial: rationale and design." Circ Heart Fail 5(5): 653-659.
- Redfield, M. M., S. J. Jacobsen, et al. (2003). "Burden of systolic and diastolic ventricular dysfunction in the community: appreciating the scope of the heart failure epidemic." JAMA 289(2): 194-202.
- Regan, T. J., M. M. Lyons, et al. (1977). "Evidence for cardiomyopathy in familial diabetes mellitus." J Clin Invest 60(4): 884-899.

- Reiken, S., M. Gaburjakova, et al. (2003). "Protein kinase A phosphorylation of the cardiac calcium release channel (ryanodine receptor) in normal and failing hearts. Role of phosphatases and response to isoproterenol." *J Biol Chem* 278(1): 444-453.
- Reil, J. C. and M. Bohm (2007). "The role of heart rate in the development of cardiovascular disease." *Clin Res Cardiol* 96(9): 585-592.
- Roig, E., J. Orus, et al. (1998). "Serum interleukin-6 in congestive heart failure secondary to idiopathic dilated cardiomyopathy." *Am J Cardiol* 82(5): 688-690, A688.
- Rosen, B. D., B. L. Gerber, et al. (2004). "Late systolic onset of regional LV relaxation demonstrated in three-dimensional space by MRI tissue tagging." *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 287(4): H1740-1746.
- Ruilope, L. M., A. Dukat, et al. (2010). "Blood-pressure reduction with LCZ696, a novel dual-acting inhibitor of the angiotensin II receptor and neprilysin: a randomised, double-blind, placebo-controlled, active comparator study." *Lancet* 375(9722): 1255-1266.
- Rushmer, R. F. (1954). "Continuous measurements of left ventricular dimensions in intact, unanesthetized dogs." *Circ Res* 2(1): 14-21.
- Rushmer, R. F. (1964). "Initial Ventricular Impulse. A Potential Key to Cardiac Evaluation." *Circulation* 29: 268-283.
- Sabbah, H. N., M. Marzilli, et al. (1981). "The relative role of subendocardium and subepicardium in left ventricular mechanics." *Am J Physiol* 240(6): H920-926.
- Samuel, J. L., L. Rappaport, et al. (1983). "Distribution of myosin isozymes within single cardiac cells. An immunohistochemical study." *Circ Res* 52(2): 200-209.
- Sanderson, J. E. (2007). "Heart failure with a normal ejection fraction." *Heart* 93(2): 155-158.
- Sarnoff, S. J. and J. H. Mitchell (1961). "The regulation of the performance of the heart." *Am J Med* 30: 747-771.
- Sato, N., M. Uechi, et al. (1997). "Effects of a novel inotropic agent, BAY 5959, in conscious dogs: comparison with dobutamine and milrinone." *Am J Physiol* 272(H753-759).
- Schellings, M. W., Y. M. Pinto, et al. (2004). "Matricellular proteins in the heart: possible role during stress and remodeling." *Cardiovasc Res* 64(1): 24-31.
- Schillaci, G., L. Pasqualini, et al. (2002). "Prognostic significance of left ventricular diastolic dysfunction in essential hypertension." *J Am Coll Cardiol* 39(12): 2005-2011.
- Schirmer, H., P. Lunde, et al. (2000). "Mitral flow derived Doppler indices of left ventricular diastolic function in a general population; the Tromso study." *Eur Heart J* 21(16): 1376-1386.

- Schroen, B., S. Heymans, et al. (2004). "Thrombospondin-2 is essential for myocardial matrix integrity: increased expression identifies failure-prone cardiac hypertrophy." Circ Res 95(5): 515-522.
- Schwinger, R. H., G. Munch, et al. (1999). "Reduced Ca(2+)-sensitivity of SERCA 2a in failing human myocardium due to reduced serin-16 phospholamban phosphorylation." J Mol Cell Cardiol 31(3): 479-491.
- Scognamiglio, R., C. Negut, et al. (2006). "Effects of different insulin regimes on postprandial myocardial perfusion defects in type 2 diabetic patients." Diabetes Care 29(1): 95-100.
- Senni, M., C. M. Tribouilloy, et al. (1998). "Congestive heart failure in the community: a study of all incident cases in Olmsted County, Minnesota, in 1991." Circulation 98(21): 2282-2289.
- Senzaki, H. and D. A. Kass (2010). "Analysis of isovolumic relaxation in failing hearts by monoexponential time constants overestimates lusitropic change and load dependence: mechanisms and advantages of alternative logistic fit." Circ Heart Fail 3(2): 268-276.
- Senzaki, H., N. Paolocci, et al. (2000). "Beta-blockade prevents sustained metalloproteinase activation and diastolic stiffening induced by angiotensin II combined with evolving cardiac dysfunction." Circ Res 86(7): 807-815.
- Serri, K., P. Reant, et al. (2006). "Global and regional myocardial function quantification by two-dimensional strain: application in hypertrophic cardiomyopathy." J Am Coll Cardiol 47(6): 1175-1181.
- Setaro, J. F., B. L. Zaret, et al. (1990). "Usefulness of verapamil for congestive heart failure associated with abnormal left ventricular diastolic filling and normal left ventricular systolic performance." Am J Cardiol 66(12): 981-986.
- Shah, S. J., J. F. Heitner, et al. (2013). "Baseline characteristics of patients in the treatment of preserved cardiac function heart failure with an aldosterone antagonist trial." Circ Heart Fail 6(2): 184-192.
- Shapiro, B. P., M. D. McGoon, et al. (2007). "Unexplained pulmonary hypertension in elderly patients." Chest 131(1): 94-100.
- Silberman, G. A., T. H. Fan, et al. (2010). "Uncoupled cardiac nitric oxide synthase mediates diastolic dysfunction." Circulation 121(4): 519-528.
- Simon, L., B. Ghaleh, et al. (1995). "Coronary and hemodynamic effects of S 16257, a new bradycardic agent, in resting and exercising conscious dogs." J Pharmacol Exp Ther 275(2): 659-666.
- Smith, C. S., P. A. Bottomley, et al. (2006). "Altered creatine kinase adenosine triphosphate kinetics in failing hypertrophied human myocardium." Circulation 114(11): 1151-1158.

- Smith, D. H., M. L. Thorp, et al. (2013). "Chronic kidney disease and outcomes in heart failure with preserved versus reduced ejection fraction: the Cardiovascular Research Network PRESERVE Study." Circ Cardiovasc Qual Outcomes 6(3): 333-342.
- Solaro, R. J., G. Gambassi, et al. (1993). "Stereoselective actions of thiazidiazinones on canine cardiac myocytes and myofilaments." Circ Res 73(6): 981-990.
- Solomon, S. D., N. Anavekar, et al. (2005). "Influence of ejection fraction on cardiovascular outcomes in a broad spectrum of heart failure patients." Circulation 112(24): 3738-3744.
- Solomon, S. D., E. Appelbaum, et al. (2009). "Effect of the direct Renin inhibitor aliskiren, the Angiotensin receptor blocker losartan, or both on left ventricular mass in patients with hypertension and left ventricular hypertrophy." Circulation 119(4): 530-537.
- Solomon, S. D., R. Janardhanan, et al. (2007). "Effect of angiotensin receptor blockade and antihypertensive drugs on diastolic function in patients with hypertension and diastolic dysfunction: a randomised trial." Lancet 369(9579): 2079-2087.
- Solomon, S. D., A. Verma, et al. (2010). "Effect of intensive versus standard blood pressure lowering on diastolic function in patients with uncontrolled hypertension and diastolic dysfunction." Hypertension 55(2): 241-248.
- SOLVD Investigators (1991). "Effect of Enalapril on Survival in Patients with Reduced Left Ventricular Ejection Fractions and Congestive Heart Failure." N Engl J Med 325: 293-302.
- Song, L. S., Y. Pi, et al. (2005). "Paradoxical cellular Ca<sup>2+</sup> signaling in severe but compensated canine left ventricular hypertrophy." Circ Res 97(5): 457-464.
- Sonnenblick, E. H. (1962). "Implications of muscle mechanics in the heart." Fed Proc 21: 975-990.
- Sossalla, S., S. Wagner, et al. (2008). "Ranolazine improves diastolic dysfunction in isolated myocardium from failing human hearts--role of late sodium current and intracellular ion accumulation." J Mol Cell Cardiol 45(1): 32-43.
- Spinale, F. G. (2002). "Matrix metalloproteinases: regulation and dysregulation in the failing heart." Circ Res 90(5): 520-530.
- Spinale, F. G., M. L. Coker, et al. (2000). "A matrix metalloproteinase induction/activation system exists in the human left ventricular myocardium and is upregulated in heart failure." Circulation 102(16): 1944-1949.
- Spinale, F. G., H. Gunasinghe, et al. (2002). "Extracellular degradative pathways in myocardial remodeling and progression to heart failure." J Card Fail 8(6 Suppl): S332-338.
- Spinelli, L., M. Petretta, et al. (2003). "Left ventricular diastolic function and cardiac performance during exercise in patients with acromegaly." J Clin Endocrinol Metab 88(9): 4105-4109.

- St John Sutton, M. G., R. L. Frye, et al. (1978). "Relation between left coronary artery stenosis and regional left ventricular function." Circulation 58(3 Pt 1): 491-497.
- Streeter, D. D., Jr., H. M. Spotnitz, et al. (1969). "Fiber orientation in the canine left ventricle during diastole and systole." Circ Res 24(3): 339-347.
- Streeter, D. D. J. and W. T. Hanna (1973). "Engineering mechanics for successive states in canine left ventricular myocardium. II. Fiber angle and sarcomere length." Circ Res 33(6): 656-664.
- Stugaard, M., O. A. Smiseth, et al. (1993). "Intraventricular early diastolic filling during acute myocardial ischemia, assessment by multigated color m-mode Doppler echocardiography." Circulation 88(6): 2705-2713.
- Stugaard, M., O. A. Smiseth, et al. (1995). "Intraventricular early diastolic velocity profile during acute myocardial ischemia: a color M-mode Doppler echocardiographic study." J Am Soc Echocardiogr 8(3): 270-279.
- Suga, H. and K. Sagawa (1974). "Instantaneous pressure-volume relationships and their ratio in the excised, supported canine left ventricle." Circ Res 35(1): 117-126.
- Sugden, P. H. and A. Clerk (2001). "Akt like a woman: gender differences in susceptibility to cardiovascular disease." Circ Res 88(10): 975-977.
- Takatsuji, H., T. Mikami, et al. (1996). "A new approach for evaluation of left ventricular diastolic function: spatial and temporal analysis of left ventricular filling flow propagation by color M-mode Doppler echocardiography." J Am Coll Cardiol 27(2): 365-371.
- Takeda, Y., T. Fukutomi, et al. (2004). "Effects of carvedilol on plasma B-type natriuretic peptide concentration and symptoms in patients with heart failure and preserved ejection fraction." Am J Cardiol 94(4): 448-453.
- Takimoto, E., H. C. Champion, et al. (2005). "Chronic inhibition of cyclic GMP phosphodiesterase 5A prevents and reverses cardiac hypertrophy." Nat Med 11(2): 214-222.
- Takimoto, E., D. G. Soergel, et al. (2004). "Frequency- and afterload-dependent cardiac modulation in vivo by troponin I with constitutively active protein kinase A phosphorylation sites." Circ Res 94(4): 496-504.
- Tan, Y. T., F. Wenzelburger, et al. (2009). "The pathophysiology of heart failure with normal ejection fraction: exercise echocardiography reveals complex abnormalities of both systolic and diastolic ventricular function involving torsion, untwist, and longitudinal motion." J Am Coll Cardiol 54(1): 36-46.
- Tapp, R. J., A. Sharp, et al. (2010). "Differential effects of antihypertensive treatment on left ventricular diastolic function: an ASCOT (Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes Trial) substudy." J Am Coll Cardiol 55(17): 1875-1881.

- Tarantini, L., P. Faggiano, et al. (2002). "Clinical features and prognosis associated with a preserved left ventricular systolic function in a large cohort of congestive heart failure outpatients managed by cardiologists. Data from the Italian Network on Congestive Heart Failure." *Ital Heart J* 3(11): 656-664.
- Tektonidou, M. G., J. P. Ioannidis, et al. (2001). "Right ventricular diastolic dysfunction in patients with anticardiolipin antibodies and antiphospholipid syndrome." *Ann Rheum Dis* 60(1): 43-48.
- Terpstra, W. F., J. F. May, et al. (2001). "Long-term effects of amlodipine and lisinopril on left ventricular mass and diastolic function in elderly, previously untreated hypertensive patients: the ELVERA trial." *J Hypertens* 19(2): 303-309.
- Thomas, M. D., K. F. Fox, et al. (2004). "The epidemiological enigma of heart failure with preserved systolic function." *Eur Heart J* 6(2): 125-136.
- Torre-Amione, G., S. Kapadia, et al. (1996). "Proinflammatory cytokine levels in patients with depressed left ventricular ejection fraction: a report from the Studies of Left Ventricular Dysfunction (SOLVD)." *J Am Coll Cardiol* 27(5): 1201-1206.
- Toyoshima, C., M. Asahi, et al. (2003). "Modeling of the inhibitory interaction of phospholamban with the Ca<sup>2+</sup> ATPase." *Proc Natl Acad Sci U S A* 100(2): 467-472.
- Triposkiadis, F., G. Karayannis, et al. (2009). "The sympathetic nervous system in heart failure physiology, pathophysiology, and clinical implications." *J Am Coll Cardiol* 54(19): 1747-1762.
- Triposkiadis, F. K. and J. Skoularigis (2012). "Prevalence and importance of comorbidities in patients with heart failure." *Curr Heart Fail Rep* 9(4): 354-362.
- Tsai, E. J. and D. A. Kass (2009). "Cyclic GMP signaling in cardiovascular pathophysiology and therapeutics." *Pharmacol Ther* 122(3): 216-238.
- Tsang, T. S., M. E. Barnes, et al. (2002). "Left atrial volume as a morphophysiological expression of left ventricular diastolic dysfunction and relation to cardiovascular risk burden." *Am J Cardiol* 90(12): 1284-1289.
- Tsuruda, T., G. Boerrigter, et al. (2002). "Brain natriuretic Peptide is produced in cardiac fibroblasts and induces matrix metalloproteinases." *Circ Res* 91(12): 1127-1134.
- Tsutamoto, T., T. Hisanaga, et al. (1998). "Interleukin-6 spillover in the peripheral circulation increases with the severity of heart failure, and the high plasma level of interleukin-6 is an important prognostic predictor in patients with congestive heart failure." *J Am Coll Cardiol* 31(2): 391-398.

- Tyberg, J. V., W. W. Parmley, et al. (1969). "In-vitro studies of myocardial asynchrony and regional hypoxia." Circ Res 25(5): 569-579.
- Udelson, J. E., P. S. Coleman, et al. (1994). "Predicting recovery of severe regional ventricular dysfunction. Comparison of resting scintigraphy with 201Tl and 99mTc-sestamibi." Circulation 89(6): 2552-2561.
- Vaitkevicius, P. V., M. Lane, et al. (2001). "A cross-link breaker has sustained effects on arterial and ventricular properties in older rhesus monkeys." Proc Natl Acad Sci U S A 98(3): 1171-1175.
- van der Meer, I. M., M. P. de Maat, et al. (2002). "Inflammatory mediators and cell adhesion molecules as indicators of severity of atherosclerosis: the Rotterdam Study." Arterioscler Thromb Vasc Biol 22(5): 838-842.
- van der Meer, R. W., L. J. Rijzewijk, et al. (2009). "Pioglitazone improves cardiac function and alters myocardial substrate metabolism without affecting cardiac triglyceride accumulation and high-energy phosphate metabolism in patients with well-controlled type 2 diabetes mellitus." Circulation 119(15): 2069-2077.
- Vantrimpont, P. J., H. Felice, et al. (1995). "Does dobutamine prevent the rise in left ventricular filling pressures observed during exercise after heart transplantation?" Eur Heart J 16(9): 1300-1306.
- Varela-Roman, A., L. Grigorian, et al. (2005). "Heart failure in patients with preserved and deteriorated left ventricular ejection fraction." Heart 91(4): 489-494.
- Vasan, R. S., E. J. Benjamin, et al. (1995). "Prevalence, clinical features and prognosis of diastolic heart failure: an epidemiologic perspective." J Am Coll Cardiol 26(7): 1565-1574.
- Vasan, R. S., M. G. Larson, et al. (1999). "Congestive heart failure in subjects with normal versus reduced left ventricular ejection fraction: prevalence and mortality in a population-based cohort." J Am Coll Cardiol 33(7): 1948-1955.
- Vasan, R. S. and D. Levy (2000). "Defining diastolic heart failure: a call for standardized diagnostic criteria." Circulation 101(17): 2118-2121.
- Vasan, R. S., L. M. Sullivan, et al. (2003). "Inflammatory markers and risk of heart failure in elderly subjects without prior myocardial infarction: the Framingham Heart Study." Circulation 107(11): 1486-1491.
- Vatner, S. F. and E. Braunwald (1975). "Cardiovascular control mechanisms in the conscious state." N Engl J Med 296(19): 970-976.
- Ventura, H., P. Loyalka, et al. (1999). "Treatment of the hypertensive patient with microvascular angina." Curr Opin Cardiol 14(5): 370-374.

- Vilaine, J. P. (2006). "The discovery of the selective I(f) current inhibitor ivabradine. A new therapeutic approach to ischemic heart disease." Pharmacol Res 53(5): 424-434.
- Vinereanu, D., P. O. Lim, et al. (2005). "Reduced myocardial velocities of left ventricular long-axis contraction identify both systolic and diastolic heart failure-a comparison with brain natriuretic peptide." Eur J Heart Fail 7(4): 512-519.
- Vinereanu, D., E. Nicolaidis, et al. (2005). "'Pure' diastolic dysfunction is associated with long-axis systolic dysfunction. Implications for the diagnosis and classification of heart failure." Eur J Heart Fail 7(5): 820-828.
- Vlachopoulos, C., K. Hirata, et al. (2003). "Effect of sildenafil on arterial stiffness and wave reflection." Vasc Med 8(4): 243-248.
- von Bibra, H., A. Hansen, et al. (2004). "Augmented metabolic control improves myocardial diastolic function and perfusion in patients with non-insulin dependent diabetes." Heart 90(12): 1483-1484.
- von Bibra, H., T. Siegmund, et al. (2007). "[Augmentation of myocardial function by improved glycemic control in patients with type 2 diabetes mellitus]." Dtsch Med Wochenschr 132(14): 729-734.
- von Haehling, S., D. J. van Veldhuisen, et al. (2011). "Anaemia among patients with heart failure and preserved or reduced ejection fraction: results from the SENIORS study." Eur J Heart Fail 13(6): 656-663.
- Wachtell, K., J. N. Bella, et al. (2002). "Change in diastolic left ventricular filling after one year of antihypertensive treatment: The Losartan Intervention For Endpoint Reduction in Hypertension (LIFE) Study." Circulation 105(9): 1071-1076.
- Wang, A. Y., M. Wang, et al. (2013). "Heart failure with preserved or reduced ejection fraction in patients treated with peritoneal dialysis." Am J Kidney Dis 61(6): 975-983.
- Wang, J., D. S. Khoury, et al. (2008). "Preserved left ventricular twist and circumferential deformation, but depressed longitudinal and radial deformation in patients with diastolic heart failure." Eur Heart J 29(10): 1283-1289.
- Warner, J. G., Jr., D. C. Metzger, et al. (1999). "Losartan improves exercise tolerance in patients with diastolic dysfunction and a hypertensive response to exercise." J Am Coll Cardiol 33(6): 1567-1572.
- Weber, C. R., V. Piacentino, 3rd, et al. (2003). "Dynamic regulation of sodium/calcium exchange function in human heart failure." Circulation 108(18): 2224-2229.
- Weber, K. T., C. G. Brilla, et al. (1993). "Myocardial fibrosis: functional significance and regulatory factors." Cardiovasc Res 27(3): 341-348.



- Weisfeldt, M. L., H. E. Scully, et al. (1974). "Hemodynamic determinants of maximum negative dP-dt and periods of diastole." Am J Physiol 227(3): 613-621.
- Weiss, J. L., J. W. Frederiksen, et al. (1976). "Hemodynamic determinants of the time-course of fall in canine left ventricular pressure." J Clin Invest 58(3): 751-760.
- Weisser-Thomas, J., V. Piacentino, 3rd, et al. (2003). "Calcium entry via Na/Ca exchange during the action potential directly contributes to contraction of failing human ventricular myocytes." Cardiovasc Res 57(4): 974-985.
- West, R., L. Liang, et al. (2011). "Characterization of heart failure patients with preserved ejection fraction: a comparison between ADHERE-US registry and ADHERE-International registry." Eur J Heart Fail 13(9): 945-952.
- Westfall, M. V., A. R. Borton, et al. (2002). "Myofilament calcium sensitivity and cardiac disease: insights from troponin I isoforms and mutants." Circ Res 91(6): 525-531.
- Whitworth, J. A., G. J. Mangos, et al. (2000). "Cushing, cortisol, and cardiovascular disease." Hypertension 36(5): 912-916.
- Wier, W. G., M. B. Cannell, et al. (1987). "Cellular and subcellular heterogeneity of  $[Ca^{2+}]_i$  in single heart cells revealed by fura-2." Science 235(4786): 325-328.
- Wiggers, C. J. (1921). "Studies on the consecutive phases of the cardiac cycle." Am. J. Physiol. 56: 415-419.
- Wiggers, C. J. (1927). "The interpretation of the intraventricular pressure curve on the basis of rapidly summated fractionate contractions." Am. J. Physiol. 80: 1-11.
- Willerson, J. T. and P. M. Ridker (2004). "Inflammation as a cardiovascular risk factor." Circulation 109(21 Suppl 1): II2-10.
- Williams, E. S., S. J. Shah, et al. (2008). "C-reactive protein, diastolic dysfunction, and risk of heart failure in patients with coronary disease: Heart and Soul Study." Eur J Heart Fail 10(1): 63-69.
- Wilson Tang, W. H., W. Tong, et al. (2008). "Differential effects of arginine methylation on diastolic dysfunction and disease progression in patients with chronic systolic heart failure." Eur Heart J 29(20): 2506-2513.
- Winegrad, S. (1982). "Mechanism of contraction in cardiac muscle." Int Rev Physiol 26: 87-117.
- Wolska, B. M., K. Vijayan, et al. (2001). "Expression of slow skeletal troponin I in adult transgenic mouse heart muscle reduces the force decline observed during acidic conditions." J Physiol 536(Pt 3): 863-870.

- Wong, L. Y., R. Y. Leung, et al. (2007). "Plasma levels of fibrinogen and C-reactive protein are related to interleukin-6 gene -572C>G polymorphism in subjects with and without hypertension." *J Hum Hypertens* 21(11): 875-882.
- Wu, Y., O. Cazorla, et al. (2000). "Changes in titin and collagen underlie diastolic stiffness diversity of cardiac muscle." *J Mol Cell Cardiol* 32(12): 2151-2162.
- Yamamoto, K., H. Origasa, et al. (2012). "Effects of carvedilol on heart failure with preserved ejection fraction: the Japanese Diastolic Heart Failure Study (J-DHF)." *Eur J Heart Fail*.
- Yanbaeva, D. G., M. A. Dentener, et al. (2007). "Systemic effects of smoking." *Chest* 131(5): 1557-1566.
- Yancy, C. W., M. Lopatin, et al. (2006). "Clinical presentation, management, and in-hospital outcomes of patients admitted with acute decompensated heart failure with preserved systolic function: a report from the Acute Decompensated Heart Failure National Registry (ADHERE) Database." *J Am Coll Cardiol* 47(1): 76-84.
- Yin, F. C. (1981). "Ventricular wall stress." *Circ Res* 49(4): 829-842.
- Yip, G., M. Wang, et al. (2002). "Left ventricular long axis function in diastolic heart failure is reduced in both diastole and systole: time for a redefinition?" *Heart* 87(2): 121-125.
- Yip, G. W., M. Wang, et al. (2008). "The Hong Kong diastolic heart failure study: a randomised controlled trial of diuretics, irbesartan and ramipril on quality of life, exercise capacity, left ventricular global and regional function in heart failure with a normal ejection fraction." *Heart* 94(5): 573-580.
- Young, J. B., M. E. Dunlap, et al. (2004). "Mortality and morbidity reduction with Candesartan in patients with chronic heart failure and left ventricular systolic dysfunction: results of the CHARM low-left ventricular ejection fraction trials." *Circulation* 110(17): 2618-2626.
- Yturralde, R. F. and W. H. Gaasch (2005). "Diagnostic criteria for diastolic heart failure." *Prog Cardiovasc Dis* 47(5): 314-319.
- Yu, C. M., H. Lin, et al. (2002). "Progression of systolic abnormalities in patients with "isolated" diastolic heart failure and diastolic dysfunction." *Circulation* 105(10): 1195-1201.
- Yusuf, S., M. A. Pfeffer, et al. (2003). "Effects of candesartan in patients with chronic heart failure and preserved left-ventricular ejection fraction: the CHARM-Preserved Trial." *Lancet* 362(9386): 777-781.
- Zerhouni, E. A., D. M. Parish, et al. (1988). "Human heart: tagging with MR imaging--a method for noninvasive assessment of myocardial motion." *Radiology* 169(1): 59-63.
- Zhou, J., H. Shi, et al. (2010). "Rationale and design of the beta-blocker in heart failure with normal left ventricular ejection fraction (beta-PRESERVE) study." *Eur J Heart Fail* 12(2): 181-185.

- Zi, M., N. Carmichael, et al. (2003). "The effect of quinapril on functional status of elderly patients with diastolic heart failure." Cardiovasc Drugs Ther 17(2): 133-139.
- Zile, M. R., C. F. Baicu, et al. (2004). "Diastolic heart failure--abnormalities in active relaxation and passive stiffness of the left ventricle." N Engl J Med 350(19): 1953-1959.
- Zile, M. R. and D. L. Brutsaert (2002). "New concepts in diastolic dysfunction and diastolic heart failure: Part II: causal mechanisms and treatment." Circulation 105(12): 1503-1508.
- Zile, M. R. and W. H. Gaasch (1990). "Mechanical loads and the isovolumic and filling indices of left ventricular relaxation." Prog Cardiovasc Dis 32(5): 333-346.

TITLE: Physiopathological and pharmacological characterisation of a pig model of diastolic dysfunction with preserved ejection.

NAME: Mario G. RIENZO

SUMMARY:

Approximately 20 millions individuals in the world experience heart failure symptoms; heart failure prevalence is continuously rising with population aging. Left ventricular function evaluation by the ejection fraction allows distinguishing two different patient sets: one with and one other without ejection fraction alteration, respectively named *Heart Failure with Reduced Ejection Fraction* (HF-rEF) and *Heart Failure with Preserved Ejection Fraction* (HF-pEF). It is unknown if these two clinical presentations represent two different pathologies or two manifestations of the same clinical entity. HF-pEF is found in about 40-50% of patients with heart failure and its evolution is similar to that of patients with HF-rEF.

However, several conceptual difficulties deal with the HFpEF: on one hand, talking about preserved ejection fraction implies the knowledge of its basal value; on the other, the normality needs to be established. Moreover, considering the heart either as a hemodynamic pump or as a muscular pump may modify the understanding of HFpEF physiopathology.

We therefore set up a swine model of diastolic dysfunction with preserved ejection induced by chronic hypertension, which was obtained by continuous perfusion of angiotensin II during 28 days. In these conditions, we clearly demonstrated a LV function impairment, while the ejection phase parameters remained preserved. The LV impairment is demonstrated by: 1) the paradox increase of the relative durations of isovolumic contraction and relaxation; 2) the blunted responses of the isovolumic phases of cardiac cycle to heart rate augmentation and cardiac inotropisme; 3) a straight relationship between these two isovolumic phases (contraction-relaxation relationship).

The mismatch between the heart rate and the isovolumic phases behaviour led us to investigate the possible effects of the heart rate pharmacological modulation on the contraction-relaxation coupling. The selective reduction of the heart rate by ivabradine administration (a selective If channel inhibitor) was able to significantly reduce the isovolumic contraction and relaxation phases' durations, thus improving filling phase dynamics. Anyway, this "normalisation" was only apparent, because the contraction to relaxation ratio was increased at day 28, to the detriment of the isovolumic contraction.

In conclusion, chronic hypertension induces a diastolic dysfunction with a preserved ejection fraction paralleled by a systolic dysfunction which is responsible of a blunted myocardial response to stress.

KEY WORDS: Diastolic Dysfunction, Heart Rate, Heart Rate with Preserved Ejection Fraction, Systole, Heart as a Muscular Pump.

HOSTING LABORATORY: Pharmacology Laboratory, INSERM U955 Equipe 3, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort et Faculté de Médecine de Créteil, Université Paris-Est Créteil.

TITRE : Caractérisation physiopathologique et pharmacologique d'un modèle porcin de dysfonction diastolique avec éjection préservée.

NOM : Mario G. RIENZO

RESUME :

On estime qu'approximativement 20 millions de personnes dans le monde souffrent d'insuffisance cardiaque et la prévalence de cette pathologie ne cesse d'augmenter avec le vieillissement croissant de la population. L'évaluation de la fonction ventriculaire gauche par la mesure de la fraction d'éjection permet en fait de distinguer deux populations distinctes de patients insuffisants cardiaques : l'une avec et l'autre sans altération de la fraction d'éjection, encore dénommées respectivement *Heart Failure with Reduced Ejection Fraction* (IC-FER) et *Heart Failure with Preserved Ejection Fraction* (IC-FEP). On ne sait pas aujourd'hui si ces deux entités représentent deux pathologies distinctes ou, au contraire, deux entités intimement liées. L'IC-FEP est actuellement observée chez environ 40 à 50% des patients présentant une insuffisance cardiaque et son évolution est semblable à celle des patients IC-FER.

Le concept d'IC-FEP soulève toutefois des difficultés conceptuelles : d'une part car la notion d'une fraction d'éjection préservée implique la connaissance de sa valeur de base et d'autre part, les valeurs dites "normales" de la fraction d'éjection sont encore à établir. Par ailleurs, la vision mécanique du cœur comme une pompe hémodynamique ou musculaire conditionne la compréhension de la physiopathologie de la IF-FEP.

Dans ce contexte, nous avons mis au point un modèle porcin de dysfonction diastolique avec éjection préservée secondaire à une hypertension artérielle induite par une perfusion continue d'angiotensine II pendant 28 jours. Dans ces conditions, nous avons démontré une altération de la fonction ventriculaire gauche alors même que l'éjection était préservée. Ceci était objectivé par 1) une augmentation paradoxale des durées relatives de contraction et de relaxation isovolumiques, 2) des réponses inappropriées des phases isovolumiques du cycle cardiaque à des augmentations de la fréquence et de l'inotropisme cardiaques et 3) une étroite relation entre ces deux phases isovolumiques (couplage contraction-relaxation). L'inadéquation entre les niveaux de fréquence cardiaque et des phases isovolumiques nous a amené à évaluer les effets de la modulation pharmacologique de la fréquence cardiaque sur le couplage contraction-relaxation. Ainsi la réduction sélective de la fréquence cardiaque par l'administration d'ivabradine, un inhibiteur des canaux If, a réduit significativement la durée de ces deux phases et favorisé le remplissage. Cependant, cette normalisation n'était qu'apparente puisque le ratio entre la contraction et la relaxation isovolumiques restait augmenté à J28, en défaveur de la contraction isovolumique.

En conclusion, le développement d'une dysfonction diastolique avec une éjection préservée s'accompagne d'une dysfonction systolique qui entrave une réponse adéquate du myocarde à un stress dans un contexte d'hypertension chronique.

MOTS-CLES : Dysfonction diastolique, Fréquence cardiaque, Insuffisance Cardiaque à Fraction d'Ejection Préservée, Systole, Pompe musculaire cardiaque.

LABORATOIRE D'ACCUEIL : INSERM U955 Equipe 3, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort et Faculté de Médecine de Créteil, Université Paris-Est Créteil.