



HAL
open science

Mécanismes de la dysfonction ventriculaire droite dans l'hypertension pulmonaire : focus sur l'ischémie myocardique et les troubles du métabolisme mitochondrial.

Pierre-Emmanuel Noly

► To cite this version:

Pierre-Emmanuel Noly. Mécanismes de la dysfonction ventriculaire droite dans l'hypertension pulmonaire : focus sur l'ischémie myocardique et les troubles du métabolisme mitochondrial.. Cardiologie et système cardiovasculaire. Université Paris Saclay (COMUE), 2017. Français. NNT : 2017SACLS535 . tel-01715457

HAL Id: tel-01715457

<https://theses.hal.science/tel-01715457>

Submitted on 22 Feb 2018

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.

Mécanismes de la dysfonction ventriculaire droite dans un modèle porcin d'hypertension pulmonaire : focus sur l'ischémie myocardique et la dysfonction mitochondriale

Thèse de doctorat de l'Université Paris-Saclay
Préparée à
L'Université Paris Sud

« Unité Recherche et Innovation – INSERM U999 »

Ecole Doctorale n°569
Innovation thérapeutique : du fondamental à l'appliqué
Spécialité de doctorat: Physiologie, Physiopathologie

Thèse présentée et soutenue à l'Hôpital Marie Lannelongue, le 15 décembre 2017,

Par

Mr Pierre-Emmanuel NOLY

Composition du Jury :

Mr le Pr Louis Perrault Institut de Cardiologie de Montréal	Président
Mr le Pr Oliver SANCHEZ PU-PH (INSERM)	Rapporteur
Mr le Pr Erwan Flecher PU-PH (CHU de Rennes)	Rapporteur
Mr le Pr Vladimir Veskler DR2 (UMR-S 1180)	Examineur
Mr le Pr Olaf Mercier PU-PH (INSERM, Paris-Sud)	Directeur de thèse
Mr le Pr Elie Fadel PU-PH (INSERM, Paris-Sud)	Co-Directeur de thèse

A ma grand-mère, à mes parents,

Remerciements

La thèse de doctorat est un ouvrage qu'il est plus facile de commencer que de terminer. Ce travail est le fruit d'une collaboration avec de nombreuses personnes que je souhaite vivement remercier ici.

En premier lieu, je souhaite adresser mes sincères remerciements aux membres du Jury :

Au Professeur Olaf Mercier

Olaf, non seulement tu es un médecin et un chirurgien exceptionnel, mais tu es également un chercheur, un enseignant et un encadrant dynamique et enthousiaste hors pair. J'ai la chance et la fierté d'être ton élève. Je te remercie pour m'avoir guidé durant ces belles années, reçois toute mon admiration, ma profonde gratitude et ma sincère amitié.

Au Professeur Elie Fadel

Elie, l'Hôpital Marie Lannelongue est une école extraordinaire où vous contribuez chaque jour à faire de nous des chirurgiens accomplis, aussi bien au niveau chirurgical qu'au niveau scientifique. Vos connaissances et votre expertise font de vous un expert international du traitement chirurgical de l'hypertension pulmonaire et de la défaillance ventriculaire droite. Vous êtes un exemple à suivre et je suis fier d'être votre élève. Pour m'avoir guidé, recevez toute ma gratitude, mon amitié et mon profond respect.

Au Professeur Erwan Flecher

Erwan, de par tes qualités exceptionnelles et ta connaissance de l'insuffisance cardiaque, tu es un exemple à bien des égards. Après m'avoir encadré de la plus belle des manières pour ma thèse de médecine à Rennes, tu me fais le plaisir et l'honneur d'être rapporteur de cette thèse. Je t'en remercie profondément et t'adresse également toute mon amitié.

Au Professeur Louis Perrault

Vous m'avez accueilli à l'Institut de Cardiologie de Montréal où je peux continuer à m'épanouir et à développer mes connaissances en chirurgie cardiaque. Vous êtes un chirurgien-chercheur de renommée internationale et me faites l'honneur de venir du Canada présider ce jury. Recevez ma sincère gratitude et mon profond respect.

Au Professeur Olivier Sanchez

Votre connaissance des maladies vasculaires pulmonaires fait de vous une référence internationale. Vous me faites l'honneur d'être rapporteur de cette thèse. Recevez toute ma gratitude.

Au Professeur Vladimir Veksler

Vous avez mis au point une technique unique pour l'étude de la fonction respiratoire mitochondriale *in situ* et vous êtes une sommité internationale dans le domaine de la recherche sur le métabolisme mitochondriale dans l'insuffisance cardiaque. Vous m'avez ouvert les portes de votre laboratoire et vous me faites l'honneur de juger cette thèse. Recevez tout mon respect et ma gratitude.

Je tiens également à adresser mes remerciements aux membres de l'Unité de Recherche et d'Innovation, de l'Unité INSERM U999 et de l'UMR-S 1180 avec qui j'ai eu le plaisir de travailler.

Au Docteur François Haddad

François, en plus d'être un expert et leader international de la recherche sur le ventricule droit, tu as apporté un élan incroyable aux doctorants de l'Unité de Recherche et d'Innovation. Tu as toujours été disponible pour nous donner des idées brillantes et pour accroître la qualité scientifique de mes travaux. Reçois mes sincères remerciements et toute mon amitié.

Au Docteur Julien Guihaire

Julien, tu as largement contribué à développer la recherche sur le ventricule droit au laboratoire. Pour ton aide précieuse, tes conseils amicaux toujours avisés et ta collaboration scientifique, je te remercie sincèrement.

Aux Docteurs Matthieu Glorion et Mathieu Coblence

Sans vous, cette thèse ne serait pas ce qu'elle est. C'est aussi le fruit de votre travail. Merci pour ces bons moments passés ensemble, au laboratoire ou dans les services. Je ne les oublierai jamais.

A Benoit Decante

Merci Benoit pour ta disponibilité, ton écoute et ta gentillesse. Reçois aussi toute mon amitié.

A Jérôme Piquereau

Jérôme, tu es un expert de l'étude du métabolisme énergétique et mitochondrial myocardique. Grâce à ta collaboration, nous avons pu étendre nos recherches sur le ventricule droit. Reçois mes chaleureux remerciements.

Merci à toi Jennifer, pour ton aide, tes conseils, et ta bonne humeur perpétuelle. Je remercie également le Docteur David Boulate, la Docteure Catherine Rucker-Martin, Lilia, Florence, Frédéric et Bruno pour leur aide.

Je souhaite également remercier les personnes qui ont contribué à ma formation chirurgicale française et canadienne et qui ont grandement participé à mon épanouissement quotidien :

L'équipe de chirurgie thoracique et vasculaire de l'Hôpital Marie Lannelongue : le Professeur Philippe Dartevelle, Sacha, Dominique, Delphine.

L'équipe de chirurgie cardiaque et thoracique de Rennes : les Professeurs Alain Leguerrier, Jean-Philippe Verhoye et Hervé Corbineau, les docteurs Thierry Langanay, Bertrand De Latour.

Le Professeur Patrick Nataf (Hôpital Bichat),

Le professeur Pascal Leprince (Hôpital Pitié-Salpêtrière),

Le Professeur Jean-François Obadia (Hôpital Louis Pradel, Lyon)

L'équipe de chirurgie cardiaque de l'Institut de Cardiologie de Montréal : les Docteurs Denis Bouchard, Ismail El-Hamamsy, Michel Carrier, Philippe Demers, Michel Pellerin, Nancy Poirier, Yoan Lamarche et Raymond Cartier.

Je remercie l'ADETEC, de m'avoir attribué 2 bourses de recherche (2012-2013 et 2015-2016).

Enfin je souhaiterais remercier mes amis et mes proches pour leur soutien qu'ils m'ont toujours témoigné et l'amour inconditionnel qu'ils me portent. Malgré la distance, je sais que vous serez toujours présents.

A mes amis,

A mes amis d'enfance qui se reconnaîtront,

A Bénédicte, Guedel et Amina,

A Marième,

A mes parents,

A ma grand-mère.

Table des matières

Remerciements.....	5
Table des matières.....	9
Liste des travaux	13
Liste des figures	15
Liste des tableaux	19
Liste des abréviations	21
Résumé de la thèse.....	24
Abstract.....	26
Préambule.....	29
Introduction	35
<u>Chapitre 1</u> : Particularités anatomiques, physiologiques et métaboliques du ventricule droit	35
1) <i>Embryologie du VD et circulation fœtale.....</i>	35
2) <i>Caractéristiques anatomiques et fonctionnelles du ventricule droit</i>	43
3) <i>Caractéristiques hémodynamiques et biomécaniques du ventricule droit.....</i>	49
4) <i>Métabolisme énergétique du ventricule droit</i>	59
<u>Chapitre 2</u> : la défaillance ventriculaire droite en pratique clinique	75
1) <i>Comment définir la défaillance ventriculaire droite ?</i>	75
2) <i>Comment évaluer la fonction ventriculaire droite ?</i>	80
3) <i>Importance de la défaillance ventriculaire droite : impact pronostique dans l'hypertension pulmonaire, la défaillance cardiaque et l'assistance mécanique ventriculaire gauche</i>	88
4) <i>Evidences du potentiel de réversibilité de la défaillance ventriculaire droite.....</i>	94
<u>Chapitre 3</u> : les mécanismes de défaillance ventriculaire droite.....	97
1. <i>Du remodelage à la défaillance ventriculaire droite</i>	97
2. <i>L'hypothèse de l'ischémie myocardique</i>	103
3. <i>Altération du métabolisme énergétique et mitochondrial</i>	112
4. <i>Co-régulation de la biogenèse mitochondriale et de l'angiogenèse : rôle central du PGC.....</i>	118
<u>Chapitre 4</u> : les thérapeutiques actuelles de la défaillance ventriculaire droite dans l'HTAP.....	123
1) <i>Thérapeutiques actuelles de la défaillance ventriculaire droite</i>	123

2) Un nouvel essor : les thérapies ciblées du ventricule droit	128
3) Assistance circulatoire mécanique de longue durée du ventricule droit défaillant	132
Hypothèses et objectifs de recherche	136
Objectifs généraux :	136
Matériel et méthodes.....	138
I. Modèles porcins d'hypertension pulmonaire chronique étudiés	138
a. Justification et réglementation sur l'expérimentation	138
b. Généralités sur les modèles animaux d'hypertension pulmonaire et de remodelage ventriculaire droit.....	138
c. Prise en charge anesthésique et soins post opératoires des animaux.....	139
d. Modèle porcin d'hypertension artérielle post-embolique : le modèle CTEPH.....	140
e. Le modèle de shunt systémique-pulmonaire : le modèle SHUNT	144
II. Etude du remodelage anatomique et fonctionnel du ventricule droit.....	147
a. Etude hémodynamique par cathétérisme cardiaque droit.....	147
b. Etude échocardiographique	148
c. Mesure des courbes pression-volume par méthode de conductance.....	151
III. Histologie.....	154
a. Etude histologique du ventricule droit des modèles porcins d'hypertension pulmonaire	154
b. Etude histologique sur des ventricules droits de patients atteints d'hypertension pulmonaire terminale et traités par transplantation cœur-poumon.	157
IV. Etude de l'expression génique.....	157
a. Extraction des ARN totaux selon la méthode trizol-chloroforme	157
b. Transcription inverse (RT).....	158
c. Réaction de polymérisation en chaîne quantitative en temps réel (RtqPCR)	158
V. Quantification de HIF-1 α et du VEGF intra myocardique par Western Blot dans le ventricule droit des modèles d'HP.....	159
a. Extraction des protéines	159
b. Migration des protéines (Western Blot)	159
VI. Etude des capacités respiratoires mitochondriales dans le modèle porcin d'HPPE.....	160
a. Réalisation des biopsies endomyocardiques du VD sur les modèles porcins d'HP	160
b. Dissection et perméabilisation des fibres myocardiques.....	162
c. Mesure de la respiration mitochondriale	163
d. Mesure de l'utilisation des différents substrats par les mitochondries : protocole substrat...	164
e. Analyse des données	165

VII.	Etude en microscopie électronique à transmission (MET).....	165
a.	<i>Préparation des échantillons et acquisition des images en MET.....</i>	166
b.	<i>Semi-quantification de la masse mitochondriale par étude stéréologique des échantillons ..</i>	166
c.	<i>Semi quantification des altérations structurelles mitochondriales en MET</i>	167
VIII.	Analyses statistiques	168
	Résultats des travaux de recherche	170
	<u>Travail 1</u> : “The importance of Capillary Density/Stroke Work Mismatch for Right Ventricular adaptation to Chronic Pressure Overload”	170
	<u>Travail 2</u> : « Capillary Density in failing human right ventricle »	181
	<u>Travail 3</u> : « Mitochondrial Respiratory Function in the Setting of Right Ventricular Remodeling Induced by Chronic Pulmonary Hypertension in piglets »	191
	Conclusion et perspectives.....	226
	Annexes.....	232
	Références bibliographiques.....	268

Liste des travaux

- Travaux de thèse

Travail 1 : “The importance of Capillary Density/Stroke Work Mismatch for Right Ventricular adaptation to Chronic Pressure Overload”

Auteurs : Pierre-Emmanuel Noly MD MSc*, François Haddad MD*, J Arthur Ataam MSc, Nathanael Langer MD, Peter Dorfmueller MD PhD, Fanny Loisel MSc, Julien Guihaire MD MSc, Benoit Decante MSc, Lilia Lamrani MSc, Elie Fadel MD PhD, and Olaf Mercier MD PhD

Etat : Paru dans The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery. *Epub ahead of print, June 2017*

Travail 2 : “Capillary Density in failing human right ventricle”

Auteurs : Pierre-Emmanuel Noly MD MSc^{1,2}, Peter Dorfmueller MD PhD^{1,3}, Elie Fadel MD PhD^{1,2,4}, and Olaf Mercier MD PhD^{1,2,4}

Etat : En cours de révision pour Journal of Heart and Lung Transplantation.

Travail 3 : “Mitochondrial Respiratory Function in the Setting of Right Ventricular Remodeling Induced by Chronic Pulmonary Hypertension in piglets”

Auteurs : Pierre-Emmanuel Noly MD MSc^a, Jérôme Piquereau PhD^b, Jennifer Arthur Ataam PhD^a, Matthieu Coblenche MD MSc^a, Catherine Rucker-Martin PhD^a, Benoit Decante MSc^a, Elie Fadel MD PhD^{a,c}, and Olaf Mercier MD PhD^{a,c}

Etat : Soumis à Cardiovascular Research.

- **Travaux hors thèse**

Travail 1 : “Thromboembolic Pulmonary Hypertension and Assessment of Right Ventricular Function in the Piglet”

Auteurs : Pierre-Emmanuel Noly MD, MSc, Julien Guihaire MD PhD, Matthieu Coblenca MD MSc, Peter Dorfmueller MD, PhD, Elie Fadel MD, PhD, Olaf Mercier MD, PhD

Etat : Paru dans J Vis Exp. 2015 Nov 4;(105)

Travail 2 : “Advancing knowledge of right ventricular pathophysiology in chronic pressure overload: Insights from experimental studies”

Auteurs : Julien Guihaire MD, PhD, Pierre-Emmanuel Noly MD, MSc, Sonia Schrepfer MD, PhD, Olaf Mercier MD, PhD.

Etat : Paru dans Arch Cardiovasc Dis. 2015 Oct;108(10)

Travail 3 : “ Right ventricular reserve in a piglet model of chronic pulmonary hypertension”

Auteurs : Julien Guihaire MD, PhD, François Haddad MD, Pierre-Emmanuel Noly MD, MSc, David Boulate MD, MSc, Benoit Decante MSc, Philippe Dartevelle MD, Marc Humbert PhD, Jean-Philippe Verhoye MD, PhD, Olaf Mercier MD, PhD, Elie Fadel MD, PhD

Etat : Paru dans Eur Respir J. 2015 Mar;45(3)

Liste des figures

Figure 1 : Contribution des différentes populations cellulaires au développement du cœur.

Figure 2 : Schématisation de la circulation fœtale et changements après la naissance.

Figure 3 : Anatomie ventriculaire droite.

Figure 4 : Organisation des fibres myocardiques du VD et du VG.

Figure 5 : Représentation de l'interaction VD-VG par imagerie de diffusion de tension en résonance magnétique.

Figure 6 : Représentation schématique des boucles pression-volume.

Figure 7 : Représentation schématique du couplage ventriculo-artériel et des aspects énergétiques ventriculaires.

Figure 8 : Production de l'énergie nécessaire au fonctionnement myocardique.

Figure 9 : Entrée des AG dans la cellule et dans la mitochondrie afin d'être métabolisés par les cardiomyocytes.

Figure 10 : Substrats énergétiques en période périnatale et au cours de la défaillance cardiaque.

Figure 11 : Voies métaboliques de la production énergétique dans les cardiomyocytes.

Figure 12 : Les 10 étapes de la glycolyse.

Figure 13 : Régulation de l'oxydation du glucose et du lactate par la pyruvate déshydrogénase.

Figure 14 : Les étape de la β -oxydation.

Figure 15 : Etapes du cycle de Krebs.

Figure 16 : La chaîne respiratoire mitochondriale.

Figure 17 : Les 4 phases du continuum des anomalies de la fonction ventriculaire droite.

Figure 18 : Paramètres échocardiographiques corrélés à la mortalité dans l'hypertension pulmonaire.

Figure 19 : La survie des patients atteints d'HP dépend de l'étiologie.

Figure 20 : Mesure des dimensions ventriculaires droites en diastole et systole et de l'index de remodelage télésystolique (RVESRI).

Figure 21 : Illustration de la fonction ventriculaire droite et de sa charge par les boucles pression-volume.

Figure 22 : Aspects physiologiques de la transition entre la phase adaptative et maladaptative du remodelage ventriculaire droit dans l'hypertension artérielle pulmonaire.

Figure 23 : Mécanismes hypothétiques impliqués dans la défaillance ventriculaire droite.

Figure 24 : Flux sanguin dans la coronaire droite (gauche) et l'IVA (droite) mesurés en IRM chez un patient avec HTAP (A) et chez un sujet sain (B).

Figure 25 : (A) régulation de HIF-1 α en présence ou non d'ischémie. (B) Voies moléculaires impliquant HIF-1 α .

Figure 26 : Représentation schématique des différentes voies impliquant HIF-1 α en cancérogenèse.

Figure 27 : Schématisation du shift glycolytique.

Figure 28 : Variation de l'utilisation de la glycolyse, l'oxydation du glucose et des acides gras.

Figure 29 : Implication de la glutaminolyse dans la réduction de l'oxydation du glucose.

Figure 30 : Réseau transcriptionnel et régulation de PGC-1 α .

Figure 31 : Représentation schématique de la biogenèse mitochondriale.

Figure 32 : Corégulation de l'angiogenèse et de la mitogenèse par PGC-1 α .

Figure 33 : Relation entre la β -oxydation des acides gras et les voies glycolytiques et oxydatives du glucose.

Figure 34 : Modélisation de l'hypertension artérielle post-embolique chez le porcelet.

Figure 35 : Reproduction de la physiopathologie de l'HPPE dans le modèle CTEPH.

Figure 36 : Modélisation de l'HP par hyperdébit pulmonaire secondaire à un shunt gauche-droit entre l'aorte thoracique et le tronc de l'AP.

Figure 37 : Contrôle de la perméabilité du shunt aorto-pulmonaire.

Figure 38 : Evaluation du remodelage morphologique du VD en échocardiographie.

Figure 39 : Etude échocardiographique du remodelage fonctionnel du VD en échocardiographie.

Figure 40 : Représentation schématique de la position du cathéter de conductance dans le ventricule droit pour l'enregistrement des boucles de pression-volume.

Figure 41 : Exemple de rapport d'interprétation des boucles pression-volume.

Figure 42 : Etude histologique du ventricule droit sur les modèles porcins d'HP.

Figure 43 : Réalisation des biopsies endomyocardiques du ventricule droit chez le porc.

Figure 44 : Etapes de l'analyse de la respiration mitochondriale selon la technique des fibres myocardiques perméabilisées.

Figure 45 : Protocole de l'étude des complexes de la chaîne respiratoire.

Figure 46 : Exemple de quantification des composants d'un cardiomyocyte en MET grâce au logiciel Image J.

Figure 47 : Quantification des anomalies mitochondriales en MET.

Figure 48 : Situation des études dans l'histoire naturelle de la dysfonction ventriculaire droite.

Figure 49 : Synthèse des mécanismes étudiés et impliqués dans la survenue de la défaillance ventriculaire droite.

Liste des tableaux

Tableau 1 : Origine des cellules myocardiques et le devenir.

Tableau 2 : Origines embryologiques des différents segments du ventricule droit.

Tableau 3 : Changements physiologiques du VD lors des transitions entre le stade de fœtus, nouveau-né et enfant ou adulte.

Tableau 4 : Caractéristiques morphologiques et fonctionnelles du VD et comparaison avec le VG chez l'adulte.

Tableau 5 : Valeurs normales hémodynamiques du VD et du VG.

Tableau 6 : Incidences d'adaptation ventriculaire droite à sa postcharge.

Tableau 7 : Bilan énergétique et consommation en oxygène selon le substrat utilisé

Tableau 8 : Terminologie et continuum de la défaillance ventriculaire droite.

Tableau 9 : Définitions de la défaillance ventriculaire droite utilisées dans la littérature (par ordre chronologique).

Tableau 10 : Formules utilisées pour l'évaluation hémodynamique de la fonction ventriculaire droite.

Tableau 11 : Synthèse des principaux indices de fonction et de contractilité associés à la défaillance ventriculaire droite.

Tableau 12 : Principales études pronostiques dans l'HP.

Tableau 13 : Principales études pronostiques dans la défaillance cardiaque gauche.

Tableau 14 : Caractéristiques de l'angiogenèse et du métabolisme énergétique dans l'hypertrophie adaptative et maladaptative. Données expérimentales.

Tableau 15 : Récapitulatif de l'effet des traitements pharmacologiques sur le remodelage et la fonction ventriculaire droite.

Tableau 16 : Récapitulatif des différentes thérapeutiques dans la défaillance ventriculaire droite.

Tableau 17 : Paramètres hémodynamiques mesurés et calculés en cathétérisme cardiaque droit.

Tableau 18 : Paramètres échographiques mesurés et leurs modalités d'acquisition.

Liste des abréviations

AG : acides gras

AP : artère pulmonaire

ATP : adénosine triphosphate

BPV : boucles pression volume

BSA : body surface area

CPT1 : carnitine palmitoyl transferase 1

CTEPH : chronic thromboembolic pulmonary hypertension

DC : débit cardiaque

DCA : dichloroacétate

Ea : élastance artérielle

Ees : élastance ventriculaire télésystolique

ERR : Estrogen-related receptor

FADH : flavin adenine dinucleotide

FOXO1 : Forkhead protein O1

GLUT 1 : glucose transporter 1

GMPc : guanosine monophosphate cyclique

HiF-1 α : *hypoxia inducible factor*

HK : hexokinase

HP : hypertension pulmonaire

HPPE : hypertension pulmonaire post-embolique

HTAP : hypertension artérielle pulmonaire

IC : index cardiaque

LVAD : left ventricular assist device

MVO₂ : consommation en oxygène

NADH : nicotinamide adénine dinucléotide

NRF : nuclear respiratory factor

NYHA : *New York Heart Association*

OXPHO : oxidative phosphorylations

PAP : pression artérielle pulmonaire

PAPm : pression artérielle pulmonaire moyenne
PAPs : pression artérielle pulmonaire systolique
PAPd : pression artérielle pulmonaire diastolique
PDE : phosphodiésterase
Pes : pression télésystolique
PDH : pyruvate déshydrogénase
PDK : pyruvate déshydrogénase kinase
PG2 : prostaglandine 2
PGC-1 α : peroxysome proliferator activator receptor coactivator 1 α
POD : pression oreillette droite
PP : pression pulsatile
PPAR γ : peroxisome proliferator-activated receptor gamma
ROS : *reactive oxygen species*
RVFAC : *right ventricular fractional area change*
RVP : résistances vasculaires pulmonaires
SCC : second champ cardiaque
SE : syndrome d'Eisenmenger
SIV : septum interventriculaire
SOD2 : superoxyde dismutase type 2
SW : *stroke work*
TAPSE : tricuspid annular plane systolic excursion
Tfam: transcription factor A mitochondrial
VCS : veine cave supérieure
VD : ventricule droit
VEGF-A : *vascular endothelium growth factor type A*
VEGF R1 : *vascular endothelium growth factor receptor 1*
VES : volume d'éjection systolique
VHL: Von Hippel-Lindau
VG : ventricule gauche
VTD : volume télédiastolique
VTS : volume télésystolique

Résumé de la thèse

La survenue d'une défaillance ventriculaire droite est associée à une augmentation de mortalité dans de nombreuses situations cliniques, particulièrement chez les patients atteints d'hypertension pulmonaire. Les mécanismes conduisant à la dysfonction et la défaillance du ventricule droit lorsqu'il est soumis à une surcharge chronique de pression sont complexes et demeurent mal connus. Si une bonne adéquation entre les apports et les besoins accrus en oxygène est essentielle au maintien d'une fonction ventriculaire droite adaptée, il semblerait que la raréfaction capillaire myocardique pourrait être responsable de la présence d'ischémie myocardique et pourrait contribuer à la transition de la phase adaptée à la phase non adaptée de l'hypertrophie ventriculaire droite. La mitochondrie étant l'organelle oxygène-dépendante responsable de la production d'énergie, l'intégrité de ses capacités oxydatives est également essentielle au bon fonctionnement du ventricule droit. Il semblerait que le métabolisme mitochondrial soit altéré dans le ventricule droit défaillant, mais il existe peu de données au stade précoce de la dysfonction ventriculaire droite. Afin de mieux comprendre l'importance de ces mécanismes, nous avons modélisé l'hypertension artérielle pulmonaire chez un modèle porcin.

La première partie de ce travail a consisté à mettre en évidence l'association entre l'altération de la microvascularisation et l'adaptation ventriculaire droite à une surcharge de pression. Pour cela, nous avons modélisé l'hypertension pulmonaire chez deux modèles porcins différents. L'un était un modèle de shunt entre la crosse aortique et le tronc de l'artère pulmonaire (modèle SHUNT), l'autre était un modèle d'hypertension artérielle pulmonaire post-embolique (modèle CTEPH). Un remodelage structurel et fonctionnel du ventricule droit était observé dans ces 2 modèles. Dans cette étude, nous avons mis en évidence que la dysfonction ventriculaire droite précoce était associée à (1) un mismatch entre la microvascularisation et l'hypertrophie ventriculaire droite, traduit par une baisse de la densité capillaire, (2) à une baisse du ratio entre la densité capillaire et la charge de travail du ventricule droit (StrokeWork) et (3) à une augmentation de la fibrose myocardique.

Dans la deuxième partie de cette thèse, nous avons étudié et comparé la densité capillaire et la fibrose myocardique ventriculaire droite chez 14 patients atteints de syndrome d'Eisenmenger et 14 patients atteints d'hypertension artérielle pulmonaire chronique. Ces 28

patients présentaient une défaillance ventriculaire droite symptomatique et avaient été traités par une transplantation cœur-poumon. La densité capillaire ventriculaire droite était identique dans les deux groupes et environ 1,5 fois plus basse que dans un ventricule droit normal, confirmant l'atteinte microvasculaire chez ces patients.

La troisième partie de ce travail a consisté à étudier les capacités respiratoires mitochondriales au cours du remodelage ventriculaire droit lorsqu'il est soumis à une surcharge chronique de pression. Il a ainsi été montré que, dans notre modèle porcin d'hypertension artérielle pulmonaire postembolique, les capacités respiratoires mitochondriales mesurées selon la méthode des fibres myocardiques perméabilisées étaient globalement diminuées, précocement dans l'évolution et sans diminution de la masse mitochondriale en microscopie électronique. Nous n'avons pas mis en évidence de modification d'utilisation préférentielle de substrat par la mitochondrie au cours du temps dans cette étude.

De manière générale, ces résultats démontrent le rôle de l'atteinte microvasculaire et de la dysfonction mitochondriale dans la dysfonction ventriculaire droite. Les voies moléculaires communes à ces deux mécanismes (PGC-1 α , HIF-1 α entre autres) font l'objet d'étude afin d'identifier de nouvelles cibles thérapeutiques.

Abstract

Right ventricular failure is associated with an increased mortality in several clinical features, especially in patients with pulmonary hypertension. Underlying mechanisms of right ventricular dysfunction and failure in chronic pressure overload are complex and still subject to debate. The balance between the supply and the increased need in oxygen is crucial to maintain an adapted right ventricular function. However, impairment of the myocardial microvascularisation could lead to myocardial ischemia and could contribute to the transition between adapted and non-adapted right ventricular hypertrophy. As mitochondrion are involved in the entire oxygen-dependent energy production in cardiomyocytes, their integrity is also essential for a good right ventricular function. It is suggested that mitochondrial metabolism is impaired in right ventricular failure. However, only few data exist at the early stage of right ventricular dysfunction. To better understand the importance of such mechanisms, we used a model of chronic pulmonary hypertension in piglets.

The first aim of this thesis was to study the association between microvascularisation impairment and right ventricular adaptation to chronic pressure overload. We compared two different piglet models of pulmonary hypertension. The first model was a systemic-to-pulmonary shunt (SHUNT) between the aortic arch and the pulmonary trunk. The second model reproduced thromboembolic pulmonary hypertension (CTEPH). In this work, we showed that early right ventricular dysfunction was associated with (1) a mismatch between microvascularisation and right ventricular hypertrophy as showed by a decreased capillary density, (2) an importance of the capillary density to right ventricular stroke work ratio and (3) an increased of myocardial fibrosis.

In the second part of this thesis, we studied and compared the capillary density and myocardial fibrosis in right ventricles of 14 Eisenmenger Syndrome patients and 14 patients with chronic pulmonary arterial hypertension. All 28 patients had symptomatic right ventricular failure and underwent heart-lung transplantation in our institution. Capillary density was not different between the two groups and was almost 1.5-fold lower than in normal right ventricle, confirming the impairment of microvascularisation in these patients.

In the third part of this work, we studied the mitochondrial respiratory capacity in the setting of right ventricular remodeling under chronic pressure overload. Thus, we showed that,

in our swine CTEPH model, the mitochondrial respiratory capacities were globally and early impaired. The mitochondrial mass assessed by transmission electronic microscopy was not decreased. We didn't observe any modification of energetic substrate use over time.

Taking together, these results show that microvascular impairment and mitochondrial dysfunction had an important role in the early right ventricular dysfunction. Molecular pathways involved in both mechanisms are currently being studied to find new targeted therapeutics (PGC-1 α , HIF-1 α).

PREAMBULE

- “1- If Nature does nothing in vain, she would not have added the right ventricle for the sole purpose of nourishing the lungs.
2- But Nature did add a right ventricle.
3- Therefore, Nature added the right ventricle for another purpose.”*

Sir William Harvey (1578-1657)

Préambule

L'histoire de la découverte de la circulation pulmonaire a commencé vers 300 avant Jésus Christ avec Hippocrate (460-377 avant JC), et se termine avec Marcello Malpighi (1628 – 1698) au 17^{ème} siècle¹. Selon Galien (129-200 avant JC), le ventricule droit était un appendice de la veine cave inférieure et avait une fonction limitée à l'apport de nutriments aux poumons². La première description moderne de la circulation pulmonaire fut réalisée par Ibn Nafis Damishqi (1210-1288), dans un manuscrit intitulé « *Commentary on anatomy of the Canon of Avicenna* » découvert en 1924 dans une bibliothèque de Berlin. Dans cet écrit, Ibn Nafis réfutait l'existence des pores entre le ventricule droit et le ventricule gauche décrits par Galien et décrivait la double circulation systémique et pulmonaire. Deux siècles plus tard, Leonardo da Vinci (1452-1512) fut le premier européen à décrire le cœur comme un muscle, avec 4 cavités et 4 valves. La représentation des pores entre les deux ventricules sur les schémas de Da Vinci témoignait de la persistance de l'influence de Galien. La découverte de la circulation pulmonaire telle que nous la connaissons actuellement a longtemps été attribuée à l'anglais Sir William Harvey (1578-1657), « le père de la circulation moderne ». Dans son célèbre traité « *Exercitatio Anatomica de Motu Cordis et Sanguinis in Animalibus* » paru en 1628, Harvey décrit la continuité entre les artères et les veines, prouvant ainsi le concept de la conservation du sang et de la circulation sanguine grâce à sa célèbre manœuvre du tourniquet (garrot progressivement occlusif). Il est le premier à s'interroger et à mettre en avant la fonction du ventricule droit dans la circulation. Le dernier maillon de la chaîne fut apporté par Marcello Malpighi (1628-1694) qui décrit pour la première fois les alvéoles et les capillaires pulmonaires grâce à l'avènement de la microscopie optique. L'étude du ventricule droit a, par la suite, été longtemps reléguée au second plan par rapport à celle du ventricule gauche. Des travaux expérimentaux réalisés au début du 20^{ème} siècle³ montrant que la destruction de la paroi ventriculaire droite par cautérisation n'entraînait pas de signe congestif de défaillance cardiaque chez le chien ont probablement contribué à ce phénomène. Quelques années plus tard, les Drs. Francis Fontan et Guillermo Kreutzer démontraient que la vie sans ventricule droit était possible comme l'illustraient les patients atteints de cardiopathies congénitales (ventricule unique, atrésie de la valve tricuspide) traitées par shunt cavo-pulmonaire ou opération de Fontan⁴. Cependant, l'absence de fonction pulsatile ventriculaire droite était

associée à court terme à une intolérance à l'effort liée à l'incapacité d'augmentation du débit, et à long terme à des signes congestifs (anasarque, entéropathie exsudative, cirrhose) pouvant conduire au décès de certains patients⁵.

La valeur pronostique de la fonction ventriculaire droite, longtemps sous-estimée, fut ensuite mise en évidence dans l'hypertension artérielle pulmonaire (HTAP) et l'infarctus du myocarde⁶⁻⁸ dans les années 1990-2000. Dès lors, le nombre de travaux publiés sur le VD augmenta de manière exponentielle, soulevant de nombreuses questions et ouvrant de nouveaux axes de recherche. L'un des premiers papiers séminaux sur la défaillance ventriculaire droite dans l'HTAP est paru en 1998 suite à la 40^{ème} conférence Aspen sur la biologie et la physiopathologie de la circulation pulmonaire⁹. En 2005, un groupe de travail sur le ventricule droit fut créé au sein de la section pulmonaire du National Institutes of Health (NIH) et publia un rapport synthétisant l'ensemble des connaissances de l'époque sur la défaillance ventriculaire droite¹⁰. Depuis, presque 100 000 publications liées au VD ont été indexées dans PubMed et plusieurs ouvrages se sont attelés à accroître les connaissances sur ce vaste et passionnant sujet. Malgré l'avancée importante des connaissances, de nombreuses questions restent sans réponse et justifient la poursuite des travaux de recherche: pourquoi certains patients atteints d'HTAP développent une insuffisance cardiaque droite et d'autres pas ? Quels sont les mécanismes impliqués dans la survenue de la défaillance ventriculaire droite ? Quels sont les facteurs protecteurs ? Quels sont les moyens de détecter précocement la dysfonction ventriculaire droite ? Comment prédire le passage de la phase compensée à la phase décompensée de la dysfonction ventriculaire droite ? Quelles thérapies spécifiques ciblées sur le ventricule droit pourraient améliorer la survie de ces patients ? Il est évident que pour répondre à ces nombreuses questions, le recours à l'utilisation de modèles animaux reproduisant la physiopathologie de l'HP et de la défaillance ventriculaire droite est indispensable.

L'hypertension pulmonaire (HP) est la cause la plus fréquente d'augmentation de la postcharge du VD et est définie par une augmentation de la pression artérielle pulmonaire moyenne supérieure à 25 mm Hg au repos ou supérieur à 30 mm Hg à l'effort¹¹. L'HP fait l'objet d'une classification en 5 catégories dans laquelle l'HTAP (classe 1 de la classification Dana Point) fait référence à une atteinte intrinsèque du lit vasculaire pulmonaire en l'absence

d'augmentation des pressions capillaires (<15 mm Hg)¹². L'hypertension artérielle pulmonaire post-embolique (HPPE) est une maladie vasculaire pulmonaire rare et grave, parfois secondaire à une embolie pulmonaire aiguë (classe 4). Elle se développe suite à l'organisation et la persistance de caillots fibreux au sein des artères pulmonaires, créant une obstruction et une élévation progressive des résistances vasculaires pulmonaires. Son diagnostic nécessite la mise en évidence de défauts dans le lit artériel pulmonaire après un traitement anticoagulant de 3 mois. L'augmentation progressive de sa postcharge entraîne un remodelage du ventricule droit (hypertrophie puis dilatation). Dans un premier temps, ce remodelage est dit adaptatif ou compensé. Lorsque la surcharge de pression persiste, l'évolution se fait vers un remodelage maladaptatif ou une dysfonction ventriculaire droite et enfin vers la défaillance ventriculaire droite.

La défaillance ventriculaire droite (DVD) est communément définie par l'incapacité du ventricule droit à assurer un débit sanguin dans la vascularisation pulmonaire de manière adaptée aux besoins¹³. Elle peut être de type systolique, diastolique ou mixte et elle se manifeste par un syndrome clinique dont les manifestations principales sont la rétention hydro-sodée avec œdème, ascite, anasarque, un bas débit cardiaque, responsable d'une intolérance à l'effort, et enfin des troubles du rythme auriculaire ou ventriculaire pouvant conduire à la mort. La qualité de vie des patients atteints d'insuffisance cardiaque droite symptomatique est très altérée. Les causes de défaillance chronique ventriculaire droite sont nombreuses, les plus fréquentes étant secondaires à l'insuffisance cardiaque gauche et à l'ischémie myocardique puis à l'HP. Malgré les avancées thérapeutiques, la défaillance cardiaque droite reste l'un des facteurs principaux de morbidité et mortalité chez les patients atteints d'HP¹⁴. De façon intéressante, il a été montré que le pronostic des patients atteints d'HPPE était moins bon que celui des patients ayant une HP associée à une cardiopathie congénitale comme le syndrome d'Eisenmenger. En effet, McLaughlin and coll. ont montré une survie à 3 ans de 77% chez ces derniers, contre 35% chez les patients atteints d'HPPE en l'absence de traitement¹⁵. Il semblerait que leur meilleure survie soit associée à une meilleure adaptation du ventricule droit mais les mécanismes expliquant ce phénomène restent inconnus^{16, 17}. Ces observations nous ont conduit à réaliser le premier axe de travail de cette thèse qui a consisté à comprendre quels pouvaient être les mécanismes expliquant ces différences d'adaptation de la fonction ventriculaire droite en comparant deux modèles d'HP

porcins différents.

Si traiter la cause de la défaillance ventriculaire droite est essentiel, il est également primordial de traiter l'insuffisance ventriculaire droite *per se* lorsqu'elle est installée. Or l'ensemble des thérapeutiques actuelles a une action dirigée sur le lit vasculaire pulmonaire avec peu ou pas d'effets sur le ventricule droit¹⁸. La majorité des traitements destinés au ventricule droit tels que les inotropes positifs ont un effet symptomatique bénéfique immédiat mais sont probablement délétères au long court du fait de l'augmentation de la consommation en oxygène qu'ils entraînent. De plus, les avancées thérapeutiques significatives (analogues des prostaglandines ; inhibiteurs du récepteur à l'angiotensine 1 ; et inhibiteurs de la Phosphodiesterase-5) ne permettent pas d'inverser le cours de la maladie lorsque la DVD est installée¹⁹. Dans ces conditions l'étude des mécanismes de défaillance et l'identification de nouvelles cibles thérapeutiques spécifiques du ventricule droit sont des enjeux majeurs pour les patients atteints de dysfonction ventriculaire droite. Des données récentes issues de travaux expérimentaux chez les rongeurs suggèrent qu'une atteinte du métabolisme mitochondrial serait associée à la défaillance ventriculaire droite^{20, 21}. Ces observations nous ont conduit à réaliser le deuxième axe de recherche de ce travail de thèse. Après avoir modélisé l'HPPE et induit une dysfonction ventriculaire droite chez le porc, nous avons étudié les capacités respiratoires mitochondriales dans le ventricule droit soumis à une surcharge chronique de pression.

INTRODUCTION

Introduction

Après avoir abordé les particularités embryologiques, anatomiques et physiologiques du ventricule droit dans un premier chapitre, nous tenterons de définir la fonction ventriculaire droite et de décrire son importance dans différents contextes cliniques. Dans le troisième chapitre de cette introduction, nous tenterons de faire une synthèse des mécanismes impliqués dans le développement de la défaillance ventriculaire droite, spécifiquement les rôles de l'ischémie myocardique, de l'angiogenèse et du métabolisme mitochondrial. Enfin, nous aborderons dans un quatrième chapitre, la prise en charge de la défaillance cardiaque droite et les thérapeutiques actuellement disponibles.

Chapitre 1 : Particularités anatomiques, physiologiques et métaboliques du ventricule droit

1) Embryologie du VD et circulation fœtale.

La connaissance de l'embryologie du cœur et du développement du VD est utile pour mieux comprendre ses particularités phénotypiques et physiopathologiques (morphologiques, structurales, expression génique et métabolique, réponse à la surcharge de volume, à la surcharge de pression et à l'ischémie).

a) Origine des cellules cardiaques

L'utilisation de modèles animaux modifiés génétiquement a permis un accroissement majeur des connaissances du développement cardiaque ces 20 dernières années. Si la majeure partie du cœur dérive du mésoderme splanchnique, il a été découvert dans les années 2000 que l'ensemble des cellules cardiaques provenait de quatre populations cellulaires différentes à l'origine des différentes parties du massif cardiaque²² (**Tableau 1 et Figure 1**) :

- Le *champ cardiaque primaire*, issu des cellules du mésoderme splanchnique antérieur (aire cardiaque primitive), forme le tube cardiaque primaire. Il sert de charpente pour la construction finale du cœur et il forme l'oreillette gauche et le ventricule gauche.

- Le *champ cardiaque secondaire (CCS)* découvert en 2001²³, provenant des cellules de la partie interne du mésoderme splanchnique et qui forme la partie postérieure du tube cardiaque primaire²⁴. Il apparaît dès la formation de la plaque cardiaque. De ce champ cardiaque secondaire dérivent le *mésocarde dorsal* qui développera le pôle veineux du tube cardiaque, et l'*aire cardiaque antérieure* qui développera le pôle artériel du tube cardiaque primitif puis le ventricule droit et l'outflow tract (conotruncus)²⁵.
- Les *cellules de la crête neurale* migrent vers les pôles artériel et veineux et participent à la formation des gros vaisseaux.
- L'*organe pro-épicardique* contribue à la formation des coronaires

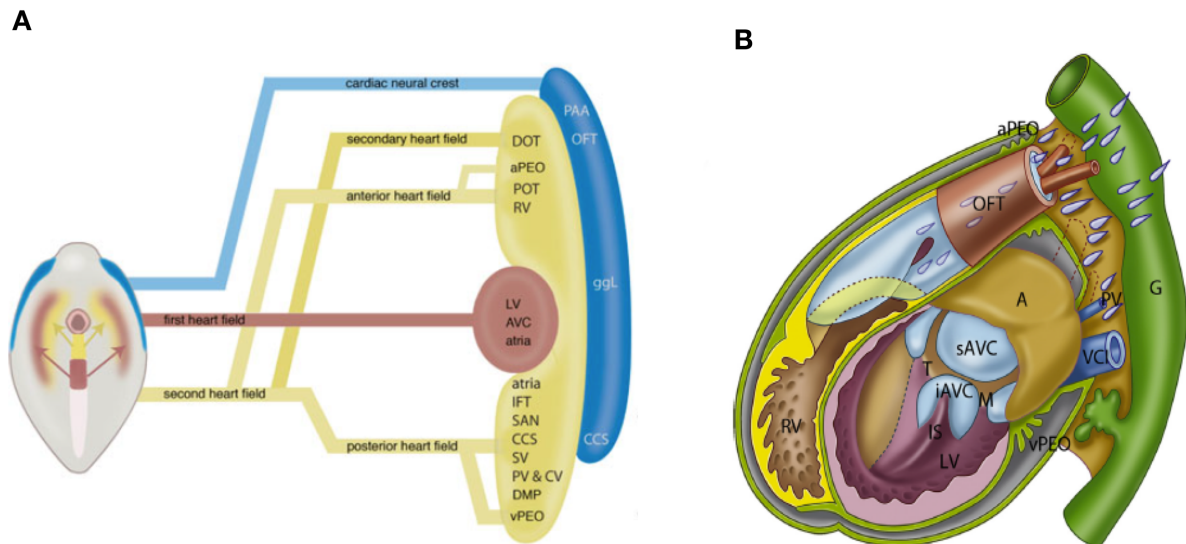
Tableau 1 : Origine des cellules myocardiques et leur devenir²⁶ (Tiré de L. Houyel, EMC Cardiologie – Embryologie du cœur normal – 11-001-C-10, Elsevier Masson SAS. 2009)

Populations cellulaires	Segments cardiaques concernés
Aire cardiaque primitive	Ventricule gauche Oreillette gauche Canal atrioventriculaire
Aire cardiaque antérieure	Ventricule droit Conotruncus Cellules musculaires lisses des gros vaisseaux
Cellules de la crête neurale	Arcs aortiques
Mésocarde dorsal	Septum atrioventriculaire Veines pulmonaires
Organe pro-épicardique	Coronaires

Figure 1 : (A) Contribution des différentes populations cellulaires au développement du cœur. La plaque cardiaque primitive est formée par le premier champ cardiaque (rouge), le champ cardiaque secondaire (CCS) (jaune) et les cellules de la crête neurale (bleu). Le champ cardiaque primaire donne le tube cardiaque primitif qui contribue à la formation du ventricule gauche, d'une partie des oreillettes et le canal atrioventriculaire. Pendant la croissance du tube cardiaque, le CCS contribue au développement des pôles artériels et veineux de celui-ci. Au niveau du pôle artériel, le CCS se divise et donne la partie distale ou des voies d'éjections et le champ cardiaque antérieur. Le champ cardiaque antérieur donne la partie proximale des voies d'éjection, le ventricule droit et l'organe pro-épicardial. Au niveau du pôle veineux, le champ postérieur cardiaque donne une partie des oreillettes, le septum inter auriculaire, le tissu de conduction, le myocarde supportant l'artère pulmonaire et les veines caves, et les veines coronaires. PAA : *pharyngeal arch arteries* ; OFT : *outflow tract* ; DOF : *distal outflow tract*; POT: *proximal outflow tract*; aPEO: *arterial pro epicardial organ*; RV: *right ventricle*; LV: *left ventricle*; AVC: *atrioventricular canal*; IFT: *inflow tract*; SAN: *sinoatrial node*; CCS: *cardiac*

conduction system; SV: sinus venosus; PV: pulmonary veins; CV: caval vein; DMP: dorsal mesenchymal protrusion; vPEO: venous pro epicardial organ. (Tiré du livre *The Right Ventricle in Health and Disease*²⁷)

(B) Représentation schématique du cœur en cours de développement, après la formation de la boucle cardiaque et avant la septation. Partie du ventricule droit (RV) issue du second champ cardiaque est représentée en jaune (tiré de Gittenberger-de Groot A et al.²⁸)



b) Les étapes du développement du cœur et du ventricule droit

Les 4 grandes étapes de la formation du cœur correspondent schématiquement à (1) la formation du tube cardiaque primitif, (2) la formation de la boucle cardiaque, (3) le phénomène de convergence et la (4) septation cardiaque.

Le *tube cardiaque primitif* comporte 2 segments distincts : l'un postérieur (oreillette primitive) et l'autre antérieur (ventricule primitif). En apparence symétrique, le tube cardiaque est une structure régionalisée, organisée selon les axes ou pôles antéropostérieur, craniocaudal et droite-gauche influencés par des groupes de gènes différents. Cette polarité est le prérequis pour la formation de la boucle (loop) cardiaque. Le tube cardiaque est formé de deux couches cellulaires séparées par une matrice extracellulaire appelée gelée myocardique.

La formation de la *boucle cardiaque* est un mouvement à la fois d'incurvation et de rotation : le tube cardiaque est génétiquement programmé pour s'infléchir selon une courbe à convexité droite (D-loop), initialement en forme de C puis, en forme de S, amenant le futur ventricule droit en position ventrale et droite, le futur ventricule gauche en position dorsal et gauche. Le déterminisme droit-gauche intervient avant le développement du cœur et est

contrôlé par un ensemble de gènes. Cette double rotation du tube cardiaque explique en partie l'étroite relation entre l'infundibulum du VD, situé en antérieur et la chambre de chasse du VG, centrale au niveau du massif cardiaque. Une fois la boucle cardiaque constituée, l'ébauche cardiaque continue de croître à ses deux extrémités, veineuse et artérielle, par addition de myocarde provenant des sources extracardiaques. Le pôle veineux devient le confluent des veines cardinales et du sinus veinosus, apportant le sang oxygéné (provenant du placenta via la veine ombilicale) au cœur. Le sang est ensuite expulsé via le pôle artériel connecté au sac aortique et aux artères pharyngées. Immédiatement après la boucle, le segment d'admission est entièrement relié au futur ventricule gauche et le segment d'éjection est entièrement relié au futur ventricule droit.

Le *phénomène de convergence* correspond à une série de déplacements dont l'aboutissement est un alignement du conotruncus, du canal atrioventriculaire et du septum interventriculaire primitif dans un même plan sagittal²⁹. Cette étape entraîne un remodelage de la courbure interne (septum interventriculaire primitif) qui est essentiel pour la dernière étape de la septation appelée le *wedging*.

Le *wedging* se définit comme l'encastrement de la valve aortique qui, par une rotation dans le sens antihoraire en arrière de l'origine du tronc pulmonaire, vient se nicher entre la valve tricuspide et la valve mitrale. Ainsi, la valve pulmonaire prend sa place définitive, antérieure et à gauche de la valve aortique. Ce mouvement serait expliqué par une croissance asymétrique du myocarde sous la valve pulmonaire provenant du second champ cardiaque. Ce concept est appelé "*pulmonary push*"³⁰. Le *wedging* se produit en même temps que la formation des septa conal et aortopulmonaire et constitue le dernier stade de la septation cardiaque.

Une fois développé, le ventricule droit peut être scindé en plusieurs régions anatomiques dont les origines embryologiques diffèrent (**Tableau 2**). Au-delà des malformations cardiaques, ceci pourrait expliquer que ces différentes régions ventriculaires droites aient une susceptibilité et une réponse différentes pour un même stimulus (surcharge de pression, réponse aux cathécolamines par exemple).

Tableau 2 : origines embryologiques des différents segments du ventricule droit.

Partie anatomique du VD	Origine embryologique
Valve tricuspide	Coussins endocardiques Partie postérieure du replis primaire
Paroi latérale	Aire cardiaque antérieure Outflow tract
Apex (zone trabéculée)	Tube cardiaque primitif
Septum interventriculaire	Formé par la fusion de : -Repli primaire ou anneau primitif (issu du tube cardiaque primitif) - <i>Inlet septum</i> entre les valves tricuspides et mitrale -Myocarde de l' <i>outflow tract</i> (aire cardiaque antérieure)
Septum membraneux	Fusion des coussins endocardiques et du foramen interventriculaire
Crête supraventriculaire	Second champ cardiaque ou aire cardiaque antérieure. Outflow septum (fusion de l'outflow proximal + coussins endocardiques)
Conus ou infundibulum	Bulbus cordis qui est une partie distincte du ventricule primitif et qui persiste uniquement pour le VD
Valve pulmonaire	Cellules de la crête neurale Coussins endocardiques
Artère pulmonaire	Cellules de la crête neurale

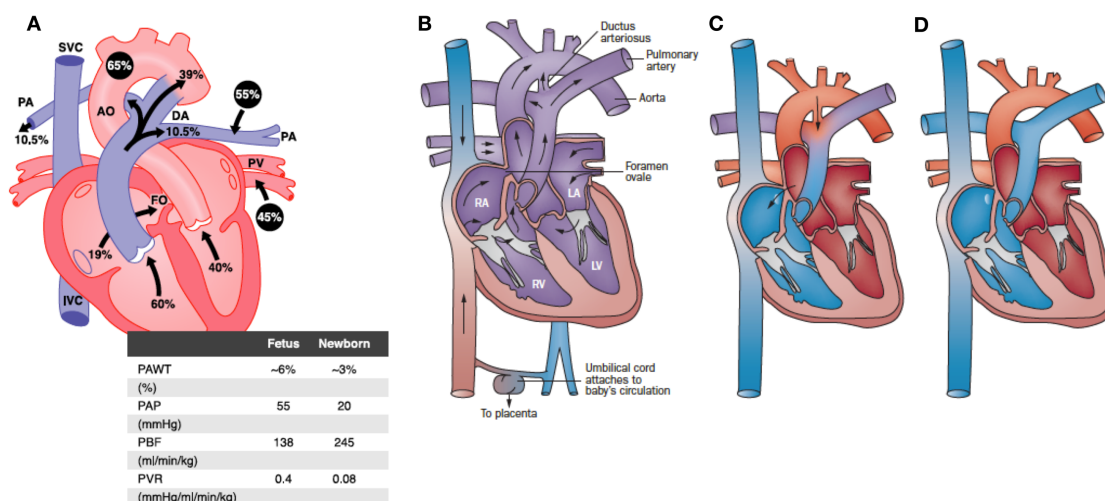
c) Caractéristiques du VD fœtal et de la circulation fœtale

Avant la naissance, les ventricules droit et gauche sont fonctionnellement couplés de par la présence de shunt ou communications entre la circulation pulmonaire et systémique à travers le foramen ovale et le canal artériel. In utéro, le ventricule droit a une fonction quasiment systémique car la plus grosse partie du sang qu'il éjecte passe dans l'aorte via le canal artériel perméable et contribue pour environ 2/3 du débit cardiaque total (**Figure 2A**). De ce fait, la paroi ventriculaire droite est plus épaisse que celle du ventricule gauche. Compte tenu des résistances pulmonaires extrêmement élevées comparées aux résistances vasculaires systémiques très basses de la circulation placentaire, le flux pulmonaire représente seulement 8 à 10% du débit cardiaque. La présence du foramen ovale perméable et du canal artériel entraîne une égalité des pressions dans les oreillettes gauche et droite et dans l'artère pulmonaire et l'aorte. Le sang oxygéné et enrichi en nutriments par le placenta arrive dans

l'oreillette droite par la veine cave inférieure (qui représente environ 2/3 du retour sanguin dans les cavités droites) et se mélange au sang non oxygéné provenant du cerveau via la veine cave supérieure. Environ 20% va passer directement dans l'oreillette gauche via le foramen ovale perméable (dirigé par la valvule d'Eustachi) et 80% passe dans le tronc de l'artère pulmonaire. Seulement 10% environ du débit passera dans la circulation pulmonaire. Le reste du débit passera dans l'aorte via le canal artériel perméable (**Figure 2A et B**).

Lors de la naissance, la circulation pulmonaire doit assurer la totalité de l'oxygénation du sang. Le début de la ventilation, le remplacement du liquide amniotique dans les poumons par de l'air, l'interface air-sang, l'augmentation de la tension en oxygène dans la circulation pulmonaire, la production de substances vasodilatatrices (NO, prostaglandines) et l'inhibition de la production de substances vasoconstrictrices (endothéline) ont pour conséquence une dilatation de la vascularisation pulmonaire et une baisse drastique et rapide des résistances vasculaires pulmonaires. Le débit sanguin transpulmonaire augmente ainsi de 10 fois environ. Les pressions dans les cavités droites vont diminuer et le foramen ovale et le canal artériel vont se fermer (**Figure 2 C et D**). La régulation de la circulation pulmonaire chez le fœtus et le nouveau-né fait l'objet d'une excellente revue très détaillée par Gao Y. et al en 2010³¹.

Figure 2 : Schématisation de la circulation fœtale et changements après la naissance. (Tirés de^{31, 32})



La survie des nouveaux nés est conditionnée par l'adaptation de la circulation pulmonaire fœtal au moment de la naissance. En effet, en l'absence de la chute des résistances entraîne un syndrome appelé persistance de l'hypertension artérielle pulmonaire du nouveau-né qui

est associée à une hypoxémie sévère réfractaire liée à la persistance des shunts, un bas débit et une mortalité élevée (Jusqu'à 50%). Parallèlement aux changements physiologiques de la circulation pulmonaire, le VD va également se remodeler et être l'objet de changements qui sont résumés dans le **Tableau 3**.

In utéro, le myocarde se développe dans un environnement pauvre en oxygène. Le métabolisme énergétique myocardique doit donc être adapté à ces conditions de relative hypoxémie. Ainsi, la production d'énergie (Adénosine Triphosphate ou ATP) par les myocytes implique l'utilisation préférentielle des voies de la glycolyse (utilisation préférentielle du glucose, lactate et pyruvate comme substrats énergétiques) au détriment des voies d'oxydation des acides gras^{33, 34}. Ce phénomène confère au cœur fœtal une meilleure résistance à l'ischémie que le cœur adulte. L'expression de facteurs de transcription induits par l'hypoxie, comme l'*Hypoxia Inducible Factor de type 1* (HIF-1 α) et du *Vascular Endothelium Growth Factor* (VEGF) joue un rôle central dans le développement myocardique chez le fœtus. L'augmentation de l'apport en oxygène immédiatement après la naissance induit un *switch métabolique*, vers l'utilisation préférentielle des voies oxydatives des acides gras, ce qui augmente l'efficacité de la production d'ATP par les mitochondries. De manière intéressante, lorsque le ventricule droit est soumis à une augmentation chronique de pression chez l'adulte, il semble que le métabolisme myocardique retourne vers un phénotype fœtale et une utilisation préférentielle des carbohydrates et de la voie glycolytique. Nous reviendrons plus en détail sur le métabolisme énergétique du ventricule droit dans des conditions pathologiques dans le chapitre 3 de cette thèse.

Tableau 3 : Changements physiologiques du VD lors des transitions entre le stade de fœtus, nouveau-né et enfant ou adulte (D'après Di Maria MV, chapitre 3- The Right Ventricle in Health and Disease).

	Fœtus	Nouveau-né	Enfant / adulte
Structure myocardique	Orientation aléatoire des fibres myocardiques Large, peu contractile, épais	Persistance de la masse myocardique	Augmentation de la cavité du VD Amincissement de la paroi
Précharge	Tension myocardique élevée et faible compliance	Persistance de la faible compliance du VD	Augmentation de la compliance, baisse des pressions de remplissage
Postcharge	Postcharge systémique Ejection dans l'aorte via le canal artériel	Baisse de la postcharge avec la fermeture du canal artériel et l'inflation des poumons	Poursuite de la baisse des résistances pulmonaires pendant les 6 premières semaines
Contractilité	Faible contractilité due à l'immaturation structurelle et métabolique	Elevée due au tonus adrénergique élevé au moment de la naissance	Baisse du tonus adrénergique, augmentation de la réserve contractile
Débit cardiaque (DC)	DC du VD est 1,2 à 1,5 x plus grand que celui du VG	Baisse de 30% du DC du VD dû à la fermeture des shunts	Idem que celui du VG
Utilisation de substrat	Perfusion myocardique plus grande que celle du VG Utilisation des carbohydrates	Baisse de la consommation en oxygène et de la perfusion coronarienne	Transition vers l'utilisation préférentiel des acides gras

2) Caractéristiques anatomiques et fonctionnelles du ventricule droit

a) Anatomie descriptive

Dans un cœur normal, le ventricule droit est la structure la plus antérieure, juste en arrière du sternum. Trois parties distinctes sont habituellement décrites : (1) ***l'inlet*** ou chambre d'admission qui est composé de la valve tricuspide et de son appareil sous valvulaire (cordages et piliers) ; (2) le ***corps du VD ou sinus***, qui est la partie trabéculée et apicale du VD ; (3) ***l'outflow tract*** ou chambre de chasse du VD encore appelée ***infundibulum*** ou ***conus***, qui correspond au myocarde sous la valve pulmonaire. Le VD peut également être divisé en 3 parois : antérieure, latérale et inférieure avec pour chacune une section basale, médiale et apicale. Cette description est surtout utile en imagerie pour situer les potentielles anomalies. Le VD normal a une forme complexe, en croissant ou triangulaire, enroulé autour du ventricule gauche qui est sphérique. Dans des conditions de charge normale, le septum interventriculaire est concave vers le ventricule gauche en systole et diastole et l'apex du cœur est formé par le VG. La masse ventriculaire droite est environ 6 fois inférieure à celle du VG mais le volume intra cavitaire du VD est plus grand (**Tableau 4**).

Y compris en cas de cardiopathie congénitale, le ventricule droit possède des caractéristiques anatomiques bien spécifiques qui le distingue du ventricule gauche et qui sont des repères utiles en cas de chirurgie correctrice de malformation cardiaque complexe. Si le VD normal est situé à la droite du VG et est connecté aux vaisseaux pulmonaires, il est plutôt défini par sa structure que par sa position et ses connections³⁵. Les structures et les caractéristiques³⁵ propres au VD sont essentiellement formées de bandes musculaires (**Figure 3**) :

- La ***bande septale*** qui s'étend en inférieur et se prolonge en continuité avec la ***bande modératrice*** qui s'attache au muscle papillaire antérieur de la valve tricuspide. Elle a souvent une forme de Y avec une branche antérieur et postérieure.
- La ***crête supraventriculaire*** formée par la fusion entre la bande pariétale et le septum infundibulaire.
- La ***repli ventriculo-infundibulaire*** qui sépare la valve tricuspide de la valve pulmonaire. A la différence du VG où il existe une continuité fibreuse entre la valve aortique et la valve mitrale, les valves tricuspides et pulmonaires ne sont pas en continuité et l'anneau de la valve pulmonaire est uniquement formé de myocarde infundibulaire.

- Le septum interventriculaire (SIV) peut être divisé en 3 portions distinctes : (1) portion de la chambre d'admission (inlet), (2) portion trabéculaire et (3) portion de la chambre de chasse (outlet).
- La face ventriculaire droite du septum interventriculaire et les parois antérieure et inférieure possèdent de nombreuses trabéculations.
- L'insertion plus apicale du feuillet septal de la valve tricuspide comparée à l'insertion du feuillet antérieur de la valve mitral.
- La présence de plusieurs groupes de muscles papillaires, septaux et inférieurs (leur nombre peut varier de 3 à 15).
- Les trois feuillets de la valve tricuspide et la présence d'un pilier septal.

Figure 3 : (A) Forme du ventricule droit en CT scanner (Tiré de ³⁶). Dissection du massif cardiaque montrant les particularités anatomiques du ventricule droit³⁷. (A) La ligne en pointillés marque le septum interventriculaire. (B) Vue de la face droite du septum interventriculaire montrant la bande septale (SMT) et sa bande antérieure (a) et postérieure (p) et sa continuité avec le repli ventriculo-infundibulaire (VIF) qui sépare la valve tricuspide et la valve pulmonaire. La bande modératrice (MB), est également observée. (D) Visualisation du myocarde du *conus* ou *infundibulum* sous la valve pulmonaire.

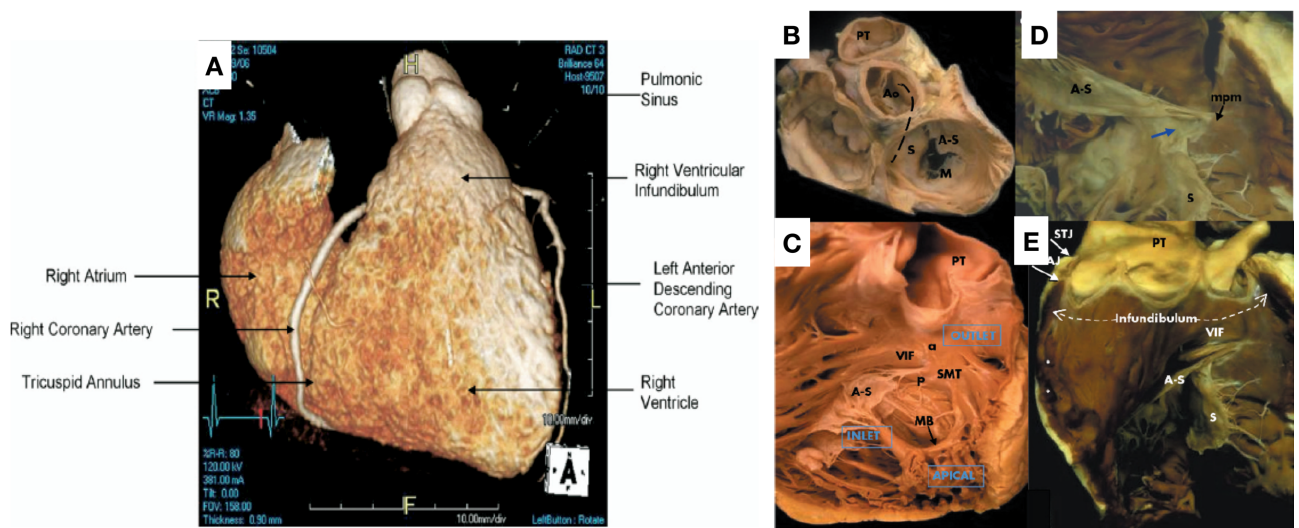


Tableau 4 : Caractéristiques morphologiques et fonctionnelles du VD et comparaison avec le VG chez l'adulte (Inspiré de Haddad F et al.³⁵).

Caractéristiques	Ventricule droit	Ventricule gauche
Structure	<ul style="list-style-type: none"> - Chambre d'admission, - Corps trabéculé, - Infundibulum ou conus 	<ul style="list-style-type: none"> - Chambre d'admission, - Corps, - Pas de conus
Forme		
<ul style="list-style-type: none"> - Section coronale - Section axiale 	<p>Triangulaire</p> <p>Croissant</p>	<p>Elliptique</p> <p>Circulaire</p>
Volume télé diastolique, ml/m²	75±13 (49-101)	66±12 (44-89)
Fraction d'éjection normale	45-55%	>60%
Mass myocardique, g/m²	26±5 (17-34)	87±12 (64-109)
Epaisseur paroi ventriculaire, mm	2 à 5	7 à 11
Orientation des fibres myocardiques	<p>Superficielles : circulaire</p> <p>Profondes : longitudinale</p>	<p>Superficielles : obliques</p> <p>Médiales : circulaires</p> <p>Profondes : longitudinales</p>
Mécanique de la contraction	Raccourcissement longitudinal > circonférentiel	Torsion et rotation majoritairement
Compliance en fin de diastole, ml/mm Hg	Plus élevée que le VG	5.0±0.52x10 ⁻²
Profil de remplissage ventriculaire	Remplissage à basse vitesse Commence plus tôt et se termine plus tard	Remplissage à haute vitesse Commence plus tard et se termine plus tôt
Résistance à l'ischémie	Plus grande résistance	Susceptibilité élevée

b) Anatomie fonctionnelle et physiologie du ventricule droit

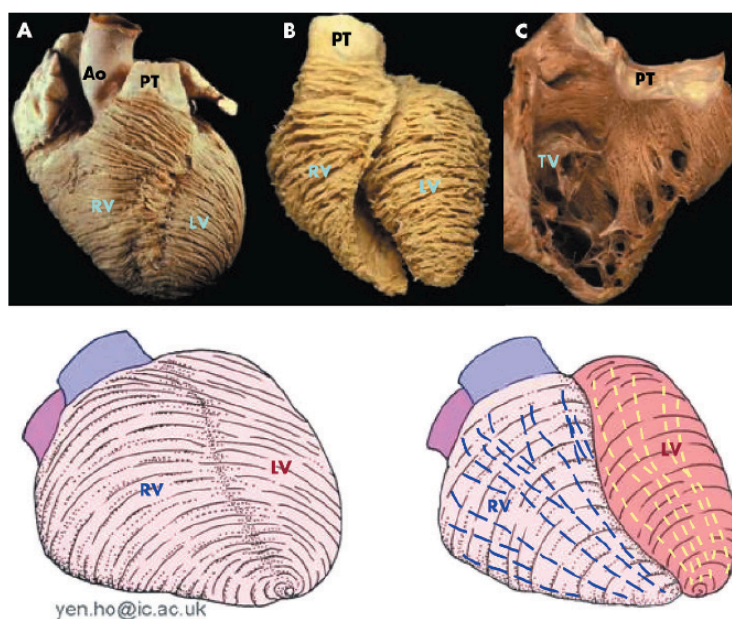
Il n'est pas possible de dissocier les caractéristiques structurelles du VD de ses caractéristiques fonctionnelles. La fonction primaire du ventricule droit est bien sûr d'éjecter le sang systémique veineux dans la circulation pulmonaire à basse pression. Connecté en série, le VD doit fournir le même débit que le VG.

Les ventricules sont constitués par plusieurs couches de fibres myocardiques dont l'orientation varie avec la profondeur dans le myocarde. L'organisation complexe tridimensionnelle de ces fibres a bien été décrite par Ho SY et al³⁷ (**Figures 4 et 5**). Au niveau

du VD, les fibres superficielles (sous-épiciardiques) ont une orientation quasi circulaire, parallèles au sillon auriculo-ventriculaire et vont jusqu'à l'infundibulum sous la valve pulmonaire. Ces fibres sont en continuité avec le ventricule gauche, ce qui lie les deux ventricules ensemble pour former une unité contractile unique à la base de l'interdépendance ventriculaire. Au niveau de l'apex, les fibres s'invaginent en spirale et forment les fibres profondes ou sous-endocardiques. L'orientation de ces fibres est longitudinale. Au niveau du ventricule gauche l'épaisseur du myocarde est beaucoup plus importante et les fibres sont organisées de manière oblique en superficie, longitudinale en profondeur et circonférentielle entre les 2.

Outre sa singularité, le conus du VD est une partie anatomiquement distincte du reste du cœur. Contrairement au corps du VD, les fibres myocardiques du conus sont parallèles sur toute l'épaisseur de sa paroi. Son diamètre est plus étroit, ce qui réduit sa tension pariétale (Loi de Laplace), d'autant plus que l'épaisseur du conus est identique à celle du corps du VD. La vascularisation du conus est assurée par l'artère conale qui naît soit d'un ostium propre, soit sur la partie proximale de la coronaire droite. Selon certains auteurs, cette artère n'est que très rarement le siège d'une occlusion³⁸. Pris ensemble, ces éléments suggèrent que le conus est probablement la zone la moins vulnérable du VD, tant pour l'ischémie myocardique, qu'à la surcharge de pression³⁹.

Figure 4 : Organisation des fibres myocardiques du VD et du VG (Tiré de ³⁷).



L'éjection ventriculaire droite est séquentielle, de l'inlet vers l'outlet (25 à 30 ms de délai), facilitant ainsi le passage du sang de la zone d'admission du VD à l'artère pulmonaire par un mouvement de reptation^{39, 40}. La contraction ventriculaire droite résulte de 3 mécanismes ou mouvements distincts : (1) mouvement vers le septum de la paroi libre du VD (contraction des fibres superficielles) ; (2) contraction longitudinale avec raccourcissement du VD et mouvement de l'anneau tricuspïdien vers l'apex (contraction des fibres longitudinales profondes) ; (3) traction des points d'attachement de la paroi libre sur le SIV lors de la contraction du ventricule gauche (fibres communes VD et VG)³⁵. Contrairement au ventricule gauche où la contraction résulte d'un mouvement de torsade, la contraction ventriculaire droite est caractérisée principalement par un raccourcissement longitudinal du VD (80% longitudinal et 20% radiaire)⁴¹.

Du fait de sa plus petite épaisseur, la compliance ventriculaire droite est plus grande que celle du VD et le volume télédiastolique est légèrement supérieur (**Tableau 4**). Dans des conditions normales, le ventricule droit ne génère pas de pression élevée. Les courbes de pression intra VD montrent une ascension rapide avec un pic précoce, suivi d'une décroissance rapide. Cet aspect contraste avec l'aspect des courbes ventriculaires gauches qui ont une forme plus arrondie. Ceci est expliqué par un temps de contraction isovolumétrique plus court (la pression d'éjection systolique est plus basse et donc atteinte plus rapidement). En fin de systole, la faible impédance de la circulation pulmonaire permet une éjection passive, malgré un gradient ventriculo-artériel négatif documenté sur les courbes de pression. Nous verrons dans un paragraphe ultérieur que ce phénomène impacte la forme des boucles pression-volume ventriculaire droite.

c) Interaction VD – VG, rôle du péricarde et du septum interventriculaire

L'interdépendance ventriculaire renvoie au concept que la forme, la taille et la compliance d'un ventricule peut affecter la relation pression-volume et pression-dimension de l'autre ventricule. La transmission des contraintes peut impliquer le myocarde, le péricarde, l'effet de régulation neuro-hormonale ou la variation des conditions de charge des ventricules. La relation anatomique étroite entre les 2 ventricules, l'entrelacement des fibres myocardiques, le septum interventriculaire et la contention dans le sac péricardique sont autant d'éléments expliquant l'interdépendance ventriculaire et les interactions qui lient le ventricule droit au

ventricule gauche (**Figure 5**). La compréhension de ces mécanismes est essentielle pour mieux appréhender les changements induits par des conditions pathologiques comme une surcharge chronique de pression, de volume ou après insertion d'une assistance circulatoire. Il faut distinguer les interactions systoliques et diastoliques, provenant de mécanismes physiologiques différents.

Les *interactions systoliques* font référence à l'effet positif réciproque des contractions ventriculaires sur chacun des ventricules⁴². Elles sont médiées par le SIV et les attaches du VD sur le VG. De nombreux travaux sur des modèles chirurgicaux animaux ou sur cœurs isolés ont mis en évidence cette interdépendance. L'augmentation de la contractilité du ventricule gauche augmente la performance du ventricule droit. La réciproque est également vraie, l'altération aiguë de la fonction ventriculaire droite (augmentation de la postcharge) entraîne une altération de la fonction du VG^{39, 40, 43}. La mise en évidence de la contribution de la contraction du VG à la fonction systolique ventriculaire droite a été facilitée par l'avènement de l'assistance circulatoire et la décharge ventriculaire gauche^{44, 45}. Il a été estimé que la contraction du VG et du SIV contribuerait pour environ 20 à 40 % de la fonction systolique du VD⁴³.

Les *interactions diastoliques* sont médiées par le SIV et par le péricarde, enveloppe inextensible à l'intérieur de laquelle le VG et le VD rentrent en compétition pour l'espace. La dilation du VD dans le sac péricardique entraîne une baisse du remplissage ventriculaire gauche et une baisse du débit cardiaque. Le péricarde est une enveloppe inextensible constituée principalement de 3 couches de fibres de collagène avec des angulations différentes. La pression normale intra péricardique est difficile à mesurer mais est proche de zéro et peut varier avec les pressions intra thoraciques ou le remplissage ventriculaire^{46, 47}. Barrière naturelle, ses principales fonctions sont la lubrification de l'épicarde, le maintien du cœur en position et d'éviter une distension aiguë des cavités cardiaques. Plusieurs auteurs ont montré que l'administration de volume dans les cavités droites entraîne une déviation des courbes pression-volume télédiastoliques et des courbes pression-dimension du ventricule gauche et que ces modifications disparaissent lorsque l'on ouvre ou retire le péricarde^{48, 49}. Les exemples les plus flagrants d'interaction entre les 2 ventricules et le péricarde sont l'embolie pulmonaire aiguë massive, l'infarctus aigu du VD, l'implantation d'une assistance ventriculaire gauche, où la distension ventriculaire droite qui entraînent une déviation septale vers la gauche en diastole et/ou en systole et une compression des cavités gauches en diastole

transmise par le péricarde rigide, ce qui empêche le VG de se remplir et donc de fournir un débit adéquat. Il a d'ailleurs été montré par Belenkie et al. que l'ouverture seule du péricarde dans un modèle canin de constriction aigue de l'artère pulmonaire entraîne une augmentation du débit cardiaque de 35%⁵⁰. Des travaux réalisés chez le rat (modèle de monocrotaline) et sur des patients atteints d'HTAP ont montré que l'hypertrophie ventriculaire droite entraîne une dysfonction diastolique du ventricule gauche⁵¹. Les anomalies de relaxation observées au niveau du VG pourraient également être dues à un remplissage sous optimal du VG.

Figure 5 : Représentation de l'interaction VD-VG par imagerie de diffusion de tension en résonance magnétique (Tiré de⁴²). Les fibres myocardiques traversent la paroi ventriculaire gauche (jaune et rouge) vers le VD et s'initient de l'épicarde vers l'endocarde.



3) Caractéristiques hémodynamiques et biomécaniques du ventricule droit

Le VD et la vascularisation pulmonaire normale forment un circuit à basse pression et basse impédance et haut débit (**Tableau 5**). Comme démontré par les travaux de Starr, la destruction de la paroi libre ventriculaire droite n'a que peu d'impact sur la pression veineuse centrale chez le chien au repos et en présence de résistances pulmonaires basses. Ces données, suggéraient que la fonction contractile du VD n'a qu'un rôle limité dans la propulsion du sang à travers les poumons au repos³. Une augmentation modérée de la pression veineuse centrale permettrait de maintenir un gradient de pression entre l'oreillette droite et l'oreillette gauche et serait suffisante pour maintenir un débit à travers la circulation pulmonaire⁵². En revanche, lors de l'effort (augmentation des besoins de débit cardiaque) ou en cas d'augmentation des résistances pulmonaires, ou d'augmentation des pressions de remplissage gauches, la fonction

systolique du VD devient primordiale pour la qualité de vie et la survie des patients. L'évolution péjorative des patients avec une « circulation de type Fontan » ayant des résistances pulmonaires élevées en est l'illustration^{5, 35}.

La performance ventriculaire droite est influencée par le rythme cardiaque, la synchronisation des contractions ventriculaires, l'interdépendance ventriculaire et la relation force-intervalle du ventricule droit^{35, 53, 54}. La performance du VD est également dépendante de la fonction systolique ventriculaire droite, elle-même déterminée par 3 éléments que nous détaillerons dans les paragraphes suivants : (1) la précharge, (2) la postcharge, (3) la contractilité. Le ventricule droit étant indissociable de la circulation pulmonaire, leur interaction est également un déterminant majeur de la performance myocardique du VD (notion de couplage ventriculo-artériel).

Tableau 5 : Valeurs normales hémodynamiques du VD et du VG (Inspiré de^{35, 52})

	Ventricule droit et circulation pulmonaire	Ventricule gauche et circulation systémique
Pressions, (mm Hg)		
<i>Auriculaires</i>	2-7	2-12
<i>Ventriculaires systoliques</i>	15-28	90-140
<i>Ventriculaires diastoliques</i>	0-8	4-12
<i>Artérielles</i>	10-16	65-105
Résistances vasculaires (dynes.sec.cm ⁻⁵)	70 (20-130)	1100 (700-1600)
Elastance ventriculaire (E_{max}) (mm Hg/ml)	1.30±0.84	5.48±1.23
Stroke Work index (g/m²)	8±2	50±20

a) Déterminants de la fonction systolique du ventricule droit

i) Précharge ventriculaire droite et retour veineux

La précharge correspond à la charge présente dans le ventricule avant sa contraction. De nombreux paramètres peuvent l'influencer comme les changements de volémie, les changements de position, les variations respiratoires, les modifications de la relaxation ventriculaire et de la compliance ventriculaire, la fréquence cardiaque, et les modifications de

pression intrapéricardique. Dans les conditions physiologiques, le VD est capable d'absorber ces variations et de maintenir un débit cardiaque adapté⁵⁵. La volémie est l'un des déterminants majeurs de la précharge ventriculaire droite. Une surcharge de volume ventriculaire droite peut entraîner une compression des cavités gauches en diastole par les biais de l'interdépendance ventriculaire (SIV) et du péricarde. Les caractéristiques anatomiques et structurelles du VD (forme, faible épaisseur, grande cavité, tension pariétale faible, sarcomères) lui confèrent une compliance élevée et une capacité accrue de tolérer une surcharge de volume comparé au VG. Le temps de remplissage du VD est plus long que celui du VG, et les vitesses de remplissage à travers la valve tricuspide sont basses. Dans des conditions physiologiques, une augmentation de précharge entraîne une augmentation de la contractilité myocardique selon la loi de Frank-Starling. Cependant, il a été montré que pour le VD, la relation entre la surface du VD et son volume est faible, suggérant qu'un changement de volume important est nécessaire avant d'induire une augmentation de contractilité. Lorsque le VD est dilaté ou soumis à une surcharge de pression, ses propriétés changent et ce mécanisme de recrutement de force contractile devient plus prépondérant⁵².

Lorsque la fonction ventriculaire droite est normale, les pressions veineuses centrales sont basses (**Tableau 5**). L'augmentation des pressions veineuses peut être le signe d'une altération de la compliance (dysfonction diastolique) ou d'une dysfonction systolique ventriculaire droite. Ceci peut être objectivé de manière précoce par l'analyse des courbes de pression de remplissage ventriculaire droit avec un cathéter de Swan-Ganz⁵⁶. On peut alors observer (1) une égalisation des pressions télédiastoliques du VD et de l'AP (normalement la pression télédiastolique du VD est plus basse que celle de l'AP), (2) la survenue d'une pente oblique puis une évolution en forme de racine carrée de la courbe de pression diastolique du VD, (3) associée à une augmentation des ondes V auriculaires droites. Cette augmentation de pression veineuse a des répercussions sur de nombreux organes cibles dont le rein, le foie et le cerveau. Dans ces conditions, la perfusion myocardique peut également être altérée par de multiples mécanismes (œdème myocardique, perte de la réserve vasodilatatrice, hypotension par compression des cavités gauches). L'augmentation des pressions dans l'oreillette droite est d'ailleurs un facteur de mortalité important chez les patients atteints d'HP.

ii) Post charge ventriculaire droite : propriétés de la vascularisation pulmonaire

La postcharge représente la charge que le ventricule doit vaincre lors de l'éjection. La circulation pulmonaire est caractérisée par de faibles résistances, une compliance (distensibilité) élevée et un débit élevé. Comparé au VG, le VD est beaucoup plus sensible à une augmentation de postcharge. Les forces qui s'opposent à l'éjection ventriculaire droite correspondent à la charge hydraulique du ventricule droit. Ces forces sont complexes et résultent de l'intégration des résistances pulmonaires, des ondes de réflexion et de l'élastance artérielle pulmonaire^{57, 58} dont les caractéristiques dépendent grandement des propriétés viscoélastiques du lit vasculaire pulmonaire.

Le calcul des résistances vasculaires pulmonaires (RVP) est la méthode la plus simple pour évaluer la post charge du VD. Exprimées en unité Wood, les RVP correspondent au ratio du gradient transpulmonaire (pression pulmonaire moyenne (PAPm) – pression oreillette gauche (POG)) sur le débit cardiaque. La PAPm peut être calculée à partir des valeurs de pression systolique (PAPs) seules ou en combinaison avec la pression diastolique (PAPd)⁵⁹. Bien que très utiles en clinique, les RVP n'intègrent pas la composante pulsatile de la circulation et l'impact du changement des ondes de réflexion liées aux modifications de la rigidité vasculaire pulmonaire. Elles ne sont donc qu'un reflet partiel de la postcharge ventriculaire droite. L'augmentation des résistances est directement corrélée au degré d'obstruction et au remodelage (hypertrophie de la média) du lit vasculaire pulmonaire⁶⁰. Le remodelage concerne aussi bien les artérioles que les veines pulmonaires.

La part pulsatile de la charge ventriculaire représente un tiers à la moitié de la charge hydraulique ventriculaire droite⁶¹. Elle est matérialisée par l'étude de la pression pulsatile et des ondes de pouls⁶². La mesure de la pression pulmonaire systolique mesurée en échographie ou en cathétérisme droit, chez les patients avec des valves tricuspide et pulmonaire normales, permet de calculer la pression pulmonaire moyenne ($PAPm = 0,36 \times PAPs$) et la pression pulsatile ($PP = 0,6 \times PAPs$). Lorsque la vascularisation pulmonaire est normale, la vitesse des ondes de pouls est basse, (1/3 de celles générées par le VG), et elles se réfléchissent lorsque la valve pulmonaire est fermée. Leur impact sur la charge hydraulique du VD est donc négligeable. Lors du remodelage vasculaire observé dans l'HTAP, le lit vasculaire pulmonaire devient plus rigide ce qui induit une augmentation de la vitesse des ondes de pouls qui vont se refléter plus rapidement et augmenter ainsi la charge hydraulique du VD. Une modification de la rigidité des vaisseaux pulmonaires peut donc avoir un effet négatif sur la postcharge du

VD, avec une augmentation de l'impédance, sans changement apparent sur les valeurs des résistances pulmonaires^{39, 62}. Castelain et al. ont montré que chez les patients atteints d'HPPE et d'HTAP idiopathique, la pression pulsée (PAPs-PAPd) était augmentée, avec une augmentation des ondes de réflexion dans les deux groupes mais plus marqués chez les patients HPPE.

L'élastance est le rapport de la variation de pression ΔP à la variation de volume ΔV dans une enceinte à la paroi plus ou moins élastique. L'élastance est donc l'inverse de la compliance. Le concept d'élastance artérielle effective (E_a), introduit par Sunagawa dans les années 1980, permet de caractériser la charge effective que le ventricule doit vaincre pendant l'éjection⁶³⁻⁶⁵. E_a peut être déterminée par l'analyse des boucles pression-volume (BPV) et correspond à la pente de la relation télésystolique pression artérielle et volume d'éjection systolique (**Figure 5**). E_a peut également être estimée par le ratio de la pression télésystolique (P_{es}) du VD sur le volume d'éjection systolique (VES) : $E_a = P_{es} / VES$. Ce ratio est fortement corrélé à la mesure de E_a dans différentes conditions de charge du VD⁶⁶. Il est cependant important de tenir compte de la pression d'aval du circuit pulmonaire, c'est-à-dire de la pression dans l'oreillette gauche.

L'impédance vasculaire est probablement l'indice le plus précis et le plus complet de l'évaluation de la charge hydraulique à laquelle le ventricule doit faire face. En effet, elle prend en compte les composantes statiques et dynamiques de la vascularisation pulmonaire⁶⁷. L'impédance représente la charge hydraulique en intégrant les résistances vasculaires, l'élastance et les ondes de réflexion. Huez et al. ont montré la faisabilité de la mesure de l'impédance pulmonaire par l'analyse des pressions et du flux pulmonaires mesurés respectivement par cathétérisme cardiaque droit et écho-doppler transthoracique⁵⁷. Les courbes de pression et de flux pulmonaires sont numérisées puis une transformation de Fourier est appliquée pour calculer la valeur de l'impédance dont la valeur normale chez des sujets sains est 38 ± 4 dynes.sec.cm⁻⁵. Ce processus complexe limite son application de routine en clinique.

La mesure du stress transmural ventriculaire est également un reflet de la postcharge et peut être approximé selon la transposition de la loi de Laplace par la formule suivante : Pression systolique x Volume télésystolique / épaisseur du ventricule.

iii) Contractilité

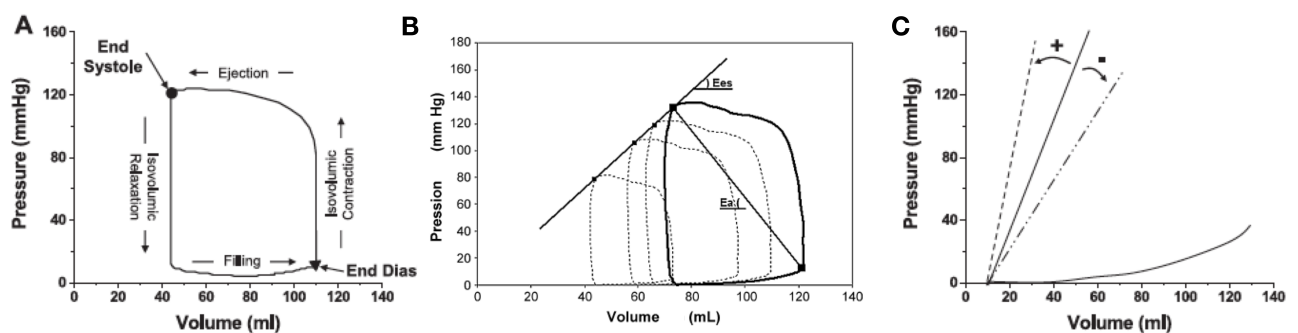
Le développement de l'acquisition des boucles pression-volume (BPV) dans les années 1970 a été un apport majeur pour la compréhension et l'évaluation des interactions ventriculo-artérielles du VG et du VD. Les BPV décrivent la relation instantanée entre la pression et le volume intra-ventriculaire sous différentes conditions de charge^{68, 69}. Maughan et al. ont été parmi les premiers à montrer que la performance myocardique du ventricule droit pouvait être mesurée par l'élastance ventriculaire grâce à l'acquisition des BPV chez le chien⁷⁰.

Du fait de son indépendance vis-à-vis des conditions de charge, l'élastance ventriculaire est considérée comme l'étalon d'or de la mesure de la contractilité myocardique in vivo. L'élastance ventriculaire est variable au cours du cycle cardiaque et correspond aux variations de pression en réponse aux variations de volume. L'élastance ventriculaire maximale (E_{max}) correspond à la valeur maximale du ratio entre la pression ventriculaire $P(t)$ et le volume ventriculaire ($V(t)$) mesurés continuellement au cours du cycle cardiaque⁶⁹. L'élastance ventriculaire instantanée $E(t)$ peut ainsi être définie selon l'équation : $E(t) = P(t) / [V(t) - V_0]$. Dans cette équation V_0 représente le volume d'intersection ou *unstressed* volume. Au niveau ventriculaire gauche, E_{max} coïncide avec la fin de la systole (télésystole). L'élastance télésystolique (E_{es}) est donc égale au ratio entre la pression (P_{es}) et le volume (V_{es}) télésystolique. Le point situé à l'angle supérieur gauche de la courbe pression-volume rectangulaire correspond au point télésystolique. La pente de la droite de la relation pression-volume télésystolique à des niveaux de précharge différents détermine E_{es} (**Figure 6**). La pente de cette droite varie selon la contractilité et augmente en réponse à une augmentation de l'inotropisme myocardique.

Du fait de la basse impédance de la vascularisation pulmonaire, la courbe pression-volume du VD normal a une forme triangulaire et E_{max} survient avant la fin de l'éjection systolique. Ceci provient du fait que le sang continue d'être éjecté en télésystole alors que la pression ventriculaire droite a commencé à diminuer. De plus, la phase de contraction isovolumique est plus courte dans le ventricule droit comparé au VG. Lorsque la postcharge est basse, le VD et le VG ont donc une géométrie des courbes pression-volume différente, avec une forme plus triangulaire pour le ventricule droit⁷¹. Par conséquent, l'élastance maximale (E_{max}) reflète mieux la contractilité ventriculaire droite que l'élastance télésystolique (E_{es}) habituellement utilisée pour le VG. E_{max} peut être déterminé par l'obtention d'une succession de boucles pression-volume lors de la diminution de la précharge (retour veineux)⁷⁰. Lorsque

l'impédance pulmonaire augmente, la courbe pression-volume du VD devient rectangulaire, avec une phase de contraction isovolumétrique plus marquée. Comme dans le VG, la téléstole coïncide avec l'arrêt de l'éjection du sang. En d'autres termes, le pic de E_{max} « fusionne » avec celui de l'Ees, comme observé dans les BPV du VG. De plus, la pente de l'élastance est plus faible dans le ventricule droit et le volume V_0 est plus élevé.

Figure 6 : Représentation schématique des boucles pression-volume. (A) Les 4 phases du cycle cardiaque sont matérialisées par une boucle pression-volume. (B) à contractilité et postcharge égales, la réduction progressive de la précharge par obstruction du retour veineux entraîne une déviation des boucles vers le bas et vers la gauche en systole et en diastole. La relation linéaire pression-volume téléstolique peut ainsi être représentée par une droite. La pente de cette droite correspond à la valeur de l'élastance téléstolique (Ees). L'élastance artérielle correspond à la pente de la droite perpendiculaire à la droite de Ees. (C) Cette pente varie selon les changements de contractilité sous l'influence de variations inotropiques. Elle augmente avec l'augmentation de l'inotropisme et diminue avec une baisse de l'inotropie ou une atteinte de la contractilité (Tiré de⁷²).



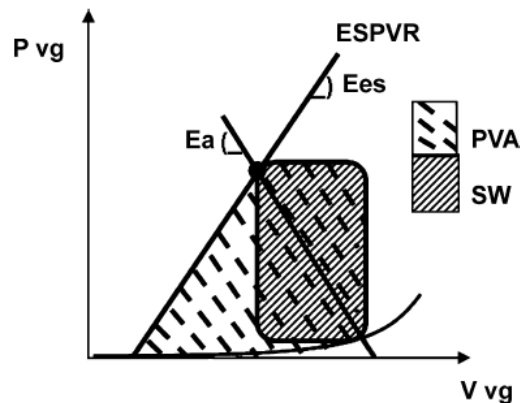
Les différentes méthodes de mesure de Ees dans le VD et ses valeurs chez des modèles animaux d'HP ont fait l'objet d'une revue récente par Guihaire J et al.⁷³. La complexité de la mesure du volume ventriculaire droit en temps réel rend l'utilisation des BPV et la mesure de l'élastance ventriculaire difficilement applicables à la pratique courante chez l'homme. Cependant de nombreux efforts sont faits pour rendre cette mesure moins invasive et plus accessible. Dell'Italia et al.⁷⁴ ont utilisé la mesure simultanée de la pression par un cathéter haute-fidélité et la mesure cinéventriculographique du volume ventriculaire droit (fluoroscopie) au cours de variations de conditions de charge chez des individus sains. La mesure de l' E_{max} ventriculaire droite par un cathéter de conductance et l'occlusion de la veine cave inférieure a été également rapportée chez des volontaires sains^{41, 74} mais cette technique n'est plus utilisée en clinique. Tedfort et al. ont décrit une mesure de Ees en utilisant un

cathéter de conductance et en faisant varier les variations de précharge par des manœuvres de Valsalva⁷⁵. La méthode du « *single beat elastance* », initialement appliquée au VG, est une technique actuellement validée pour l'étude du VD^{65, 76, 77}. Cette méthode consiste à ajuster une sinusoïde sur l'onde de pression ventriculaire tel que le point maximal de cette sinusoïde corresponde à la pression maximale qui serait développée par un cycle non éjectant. La mesure des pressions ventriculaires est ainsi réalisée avec des cathéter type fluid-filled ou Millar placés dans le VD. Les mesures du volume ventriculaire et du flux pulmonaire peuvent être réalisées de manière non invasive par résonance magnétique ou échocardiographie^{76, 78, 79}.

b) *Le couplage ventriculo-artériel : indice d'adaptation et de performance myocardique du ventricule droit*

L'interaction entre le ventricule droit et le réseau vasculaire pulmonaire est un déterminant majeur de la performance myocardique du VD. L'évaluation du couplage ventriculo-artériel permet de quantifier cette interaction grâce à la mesure de l'élastance ventriculaire et de l'élastance artérielle efficace. Le concept de couplage ventriculo-artériel, développé par Sunagawa et al. dans les années 1980, réunit les propriétés contractiles du VD et les propriétés du lit vasculaire pulmonaire dans une équation algébrique simple : $E_{es} / E_a = P_{es} \times VES / [(VTD - V_0 - VES) \times P_{es}] = VES / (VTD - V_0 - VES)$ ^{64, 80}. La performance du VD peut ainsi être décrite par les deux droites d'élastance E_{es} et E_a définies précédemment. Le point de fonctionnement, appelé couplage, correspond à l'intersection de ces deux droites⁸⁰ (**Figure 7**).

Figure 7 : Représentation schématique du couplage ventriculo-artériel et des aspects énergétiques ventriculaires.



Le ventricule est effectivement couplé à sa charge lorsque la valeur de E_{es}/E_a tend vers 2. Le découplage est défini par une valeur du ratio < 1 , ce qui traduit l'inefficacité du transfert d'énergie depuis le myocarde vers la circulation pulmonaire. Sa valeur peut également varier selon les espèces même dans des conditions normales⁷³. Ainsi, lorsque l'élastance artérielle augmente, la contractilité ventriculaire (E_{es}) doit augmenter de manière proportionnelle afin de rester adaptée. Si E_a augmente plus que E_{es} , alors le couplage diminue, ce qui est un indice précoce de dysfonction myocardique^{81, 82}.

Dans les conditions physiologiques normales, la dépense énergétique du ventricule droit correspond à l'énergie suffisante pour faire circuler une masse sanguine dans la circulation pulmonaire. La quantité d'énergie dépensée par le ventricule doit être la quantité minimale nécessaire pour éjecter le sang dans la circulation pulmonaire. En d'autres termes, le système pompe – circulation d'aval fonctionne de manière optimale lorsqu'une partie maximale de l'énergie mécanique générée par le ventricule est transmise à sa charge sanguine de la première à la dernière seconde de contraction⁸³. Dans ces conditions, la perte d'énergie est minimale et la contractilité myocardique est adaptée aux conditions de postcharge définie dans le paragraphe précédent. Bien qu'utilisée dans de nombreux travaux sur des modèles animaux, l'application du couplage ventriculo-artériel en pratique clinique reste marginale du fait de la difficulté de mesurer de manière précise le volume ventriculaire droit de manière instantanée. Quelques études chez des patients atteints d'HTAP ont rapporté les valeurs de E_{es}/E_a et des efforts sont faits pour simplifier sa mesure ou pour trouver des mesures alternatives^{75, 78}.

Le ratio des élastances peut être simplifié à un ratio de volumes. Sanz et al. ont montré que le ratio volume d'éjection (VES) sur le volume télésystolique (VTS) mesurés en imagerie par résonance magnétique (IRM) était corrélé à la sévérité de l'hypertension pulmonaire^{84, 85}. Il doit être validé plus extensivement.

Plusieurs indices d'adaptation à la postcharge du VD ont été étudiés ces dernières années et renvoient au concept de couplage ventriculo-artériel, de ratio simple de la fonction et de la charge ventriculaire ou des indices de proportionnalité évaluant si le remodelage ou la fonction ventriculaire est bien adapté à sa charge. Ils sont résumés dans le **tableau 6**. Amsellem et al. ont récemment montré que la modélisation allométrique (*fonction VD ou taille du VD* = $a \times \text{charge}^b$ (a et b étant constants) corrélait avec des indices de proportionnalité mais n'avait pas de valeur pronostique pour les patients atteints d'HTAP.

Tableau 6 : Indices d'adaptation ventriculaire droite à sa postcharge (D'après^{86, 87}).

	Ce qui est mesuré	Exemples
Couplage ventriculo-artériel	Contractilité combinée à la postcharge	Ees/Ea SV/RVESV RVAC/RVESA
Indices combinés (<i>modèles ratiométriques</i>)	Combine des indices métriques sans référence à leur relation physiologique	TAPSE/PTD PAPs/Index cardiaque Index de pulsatilité artérielle pulmonaire (PP/RAP) Capacitance : VES/PP PAPm/POD
Indices de proportionnalité (<i>modèles allométriques</i>)	Evalue le remodelage ou la fonction selon la charge du VD et sa relation physiologique	Dandel's index (VTI de la régurgitation tricuspidiennne X RVED/RVEDA)

SV : Stroke volume ; RVESV : right ventricular end-systolic volume ; RVFAC : right ventricular fractional area change ; RVESA : right ventricular end-systolic area change ; TAPSE : tricuspid annular plane systolic excursion ; RVSP : right ventricular systolic pressure ; RAP : right atrial pressure ; PP= pulsatility pressure (PAPs-PAPd) ; VTI : velocity-time integral.

Le travail mécanique externe appelé Stroke Work (SW) correspond à l'aire sous la courbe de la boucle pression-volume (**Figure 7**). L'aire délimitée par le segment systolique de la BPV, la droite de la relation pression-volume télésystolique et la droite de la relation pression-volume télédiastolique représente la somme du travail mécanique externe généré par le

ventricule et d'une énergie potentielle, emmagasinée à la fin de la systole. Il peut être calculé selon la formule : $SW \text{ du VD (en ml.mm Hg)} = (1.25 \text{ PAPm-POD}) \times \text{VES}^{88}$.

4) Métabolisme énergétique du ventricule droit

a. Généralités sur le métabolisme énergétique cardiaque

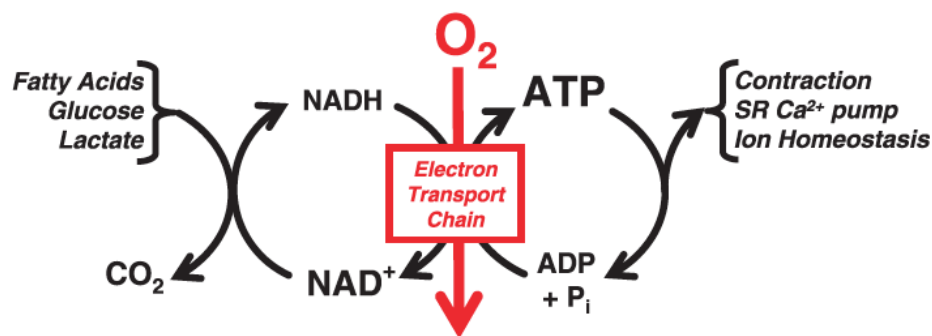
Le cœur est l'organe qui consomme le plus d'énergie par gramme de tissu. Il utilise environ 11% de la consommation totale en oxygène de l'organisme alors qu'il ne représente que 0,4% de la masse corporelle^{89, 90}. L'énergie nécessaire au fonctionnement des cardiomyocytes est stockée sous la forme d'adénosine triphosphate (ATP) et de phosphocréatine. La production d'énergie est oxygène-dépendante et dépend pour l'essentiel (90%) du métabolisme oxydatif provenant de la respiration mitochondriale.

Les réserves du myocarde sont quasi nulles, ce qui le rend très vulnérable à un défaut de production énergétique. Dans les conditions normales de charge, le myocarde consomme environ 1 mM d'ATP par seconde alors que les cardiomyocytes ne disposent que de 8 mM d'ATP en réserve⁹¹. Au repos, le cœur bat environ 95 000 fois par jour et consomme environ 30 kg d'ATP alors qu'il ne possède que 1g en réserve. Ainsi, les processus de contraction et de relaxation myocardiques nécessitent un apport continu en oxygène et en énergie, comme le montre la corrélation étroite entre la consommation myocardique et oxygène et le travail myocardique⁹². La perte de l'équilibre entre production et consommation énergétique est un des aspects principaux de l'insuffisance cardiaque. L'énergie nécessaire au fonctionnement des cardiomyocytes est issue de l'hydrolyse de l'ATP par des enzymes à activité ATPasique ($\text{ATP} \rightarrow \text{ADP} + \text{Phosphate inorganique (Pi)}$) (**Figure 8**). Environ 60-70% de l'ATP produit est utilisé pour la contraction des myofilaments et 30-40% est utilisé par la calcium-ATPase du réticulum sarcoplasmique ou d'autres pompes ioniques^{68, 93}. La quantité d'ATP est constante dans les cardiomyocytes normaux et le taux de phosphorylation oxydative est étroitement lié au taux d'hydrolyse de l'ATP. Ceci est montré par l'absence de relation entre le travail cardiaque et le contenu en ATP et phosphocréatine. En d'autres termes, le cœur ajuste en permanence la production d'énergie en fonction de ses besoins^{89, 90}.

En conditions normales, la production d'ATP est effectuée majoritairement à partir des acides gras et du glucose via les voies oxydatives (Cycle de l'acide citrique et β -oxydation)⁹⁴. Ces voies oxydatives permettent de générer des équivalents réduits (NADH et FADH_2) qui alimenteront

les réactions de transport d'électrons de la chaîne respiratoire mitochondriale. Il existe donc une corrélation étroite entre le taux d'oxydation carbonique, la réduction du NADH et du FADH_2 , le flux d'électrons dans la chaîne respiratoire, la consommation en oxygène, le niveau d'hydrolyse de l'ATP et la force contractile générée par le myocarde (**Figure 8**). Nous détaillerons ces différentes voies métaboliques après avoir abordé les principaux substrats énergétiques des cardiomyocytes.

Figure 8 : Production de l'énergie nécessaire au fonctionnement myocardique et lien entre hydrolyse de l'ATP, phosphorylation oxydative et génération de NADH par les déshydrogénases (Tiré de⁹⁵).



b. Les substrats énergétiques

Le cœur est généralement considéré comme un omnivore ayant la capacité d'utiliser les acides gras, les carbohydrates, les corps cétoniques, le lactate et même les acides aminés comme source de nutriments⁹⁵ (voir pour revue⁹⁵). Nous aborderons ici les deux principaux substrats énergétiques utilisés par le myocarde, à savoir le glucose et les acides gras.

i. Le glucose

Le glucose est le substrat principal chez le fœtus. Après la naissance, il devient la deuxième source d'énergie derrière les acides gras. Du fait de sa nature hydrophile, il doit franchir le sarcolemme via des transporteurs qui sont composés de deux grandes familles : les protéines GLUT (GLUT 1 et GLUT 4, qui assurent le transport facilité) et les SGLT (protéine de transport sodium-glucose). GLUT 1 est le transporteur du glucose par défaut et compte pour environ 30% de tous les transporteurs. Il est majoritaire chez le fœtus et possède une très forte affinité pour le glucose. Chez l'adulte, les récepteurs GLUT 4 sont majoritaires et sont insulino-dépendants. L'expression et la translocation membranaire de GLUT 4 augmentent en réponse

à l'insuline, à l'augmentation de la charge de travail du cœur et à l'ischémie^{96, 97}. Les SGLTs transportent une variété de substrats dont le glucose dans la cellule en utilisant le gradient électrochimique de sodium.

Une fois entré dans la cellule, le glucose est soit dégradé par la glycolyse, soit entre dans la synthèse du glycogène (glycogénogénèse), soit entre dans la voie des pentoses phosphates pour former des riboses. En période prénatale, le glucose est le substrat préférentiel car il est le nutriment majoritaire dans la circulation sanguine fœtale. De plus, la β -oxydation des acides gras est inhibée par la faible concentration en acides gras.

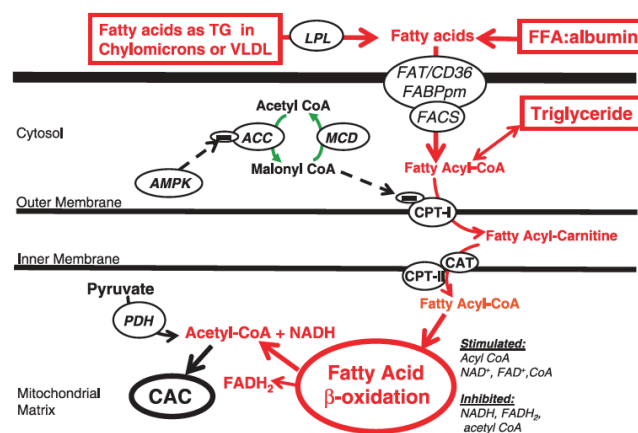
ii. Les acides gras

Les acides gras (AG) sont la source principale d'énergie dans le myocarde adulte normal. Le taux d'utilisation des AG par le cœur est principalement déterminé par leur concentration plasmatique qui peut varier grandement au cours du temps et sous l'influence de la lipoprotéine lipase. La lipoprotéine lipase est une enzyme extra cellulaire présente à la surface de l'endothélium capillaire du myocarde, des muscles striés squelettiques et du tissu adipeux. Son rôle est d'hydrolyser les triglycérides circulants des chylomicrons et des VLDL en acide gras et glycérol. Dans le plasma, les AG libres circulent liés à l'albumine. La concentration plasmatique d'AG est donc régulée par leur libération depuis les triglycérides dans les adipocytes, sous l'influence de la lipoprotéine lipase. La lipoprotéine lipase est activée par les catécholamines et inhibée par l'insuline. Par conséquent, lorsque le taux de catécholamines est élevé et le taux d'insuline bas, la concentration plasmatique d'AG est élevée, favorisant l'entrée des AG dans la cellule, puis leur oxydation. La vitesse d'entrée des AG dans la cellule est donc déterminée par leur concentration plasmatique.

Les AG à longue chaîne entrent dans la cellule, soit par diffusion passive, soit par des transporteurs protéiques (FATP) et des translocases FAT/DC36. Ces transporteurs sont responsables de plus de la moitié du transport des AG. Une fois internalisés dans la cellule, les AG à longue chaîne se lient à une protéine FABP (fatty acid binding protein) et sont transformés (estérification) en acyl-CoA par l'acyl-CoA synthase. L'acyl-CoA à longue chaîne peut être internalisé dans la mitochondrie (75%) ou être transformé en triglycérol acide gras (TAG). Parce que la membrane interne mitochondriale est imperméable à l'acyl-CoA à longue chaîne, il doit être transporté dans la matrice mitochondriale par un système de transport

carnitine-dépendant appelé système CPT1-CACT-CPT2 (**Figure 9**). Les acides gras de moins de 10 carbones sont oxydés indépendamment de ce système et passent librement à travers la membrane mitochondriale. La carnitine palmitoyltransferase 1 (CPT 1) catalyse la formation de l'acylcarnitine à longue chaîne dans le compartiment intermembranaire de la mitochondrie. L'acyltranslocase transporte l'acylcarnitine à longue chaîne au niveau de la membrane interne mitochondriale en échange d'une carnitine. Enfin, la CPT 2 régénère l'acyl-CoA dans la matrice mitochondriale, où il est le premier substrat de la β -oxydation des acides gras.

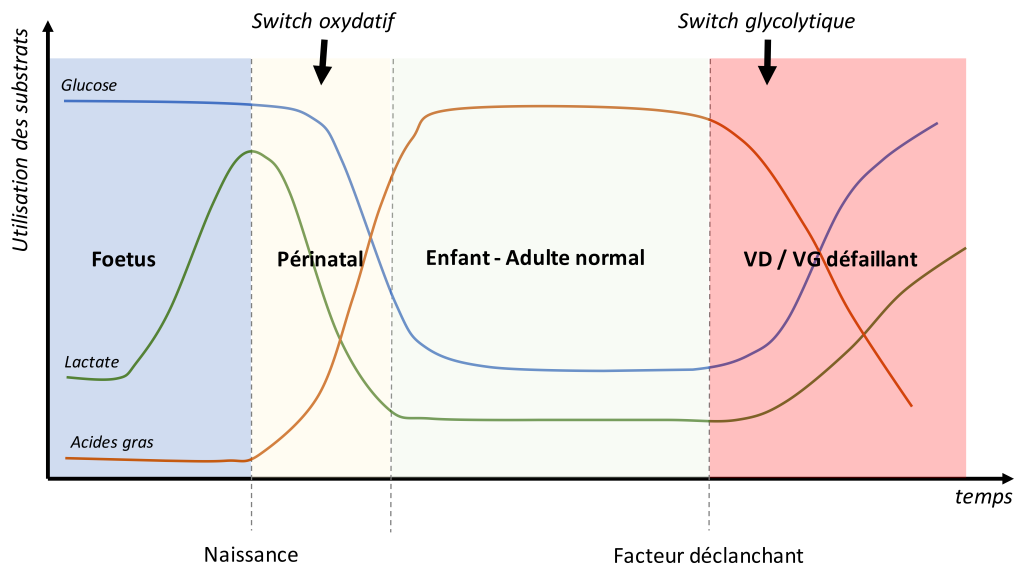
Figure 9 : Entrée des AG dans la cellule et dans la mitochondrie afin d'être métabolisés par les cardiomyocytes (Tiré de⁹⁵).



iii. Régulation de l'utilisation des substrats

Le cœur est doté d'une flexibilité métabolique qui lui permet d'adapter l'utilisation des substrats selon leur disponibilité. Nous avons évoqué ce phénomène avec la survenue d'un switch métabolique après la naissance. Le myocarde fœtal consomme préférentiellement des carbohydrates dans un environnement pauvre en oxygène tandis le myocarde de l'enfant et de l'adulte utilise principalement l'oxydation des acides gras comme source énergétique (shift oxydatif). Nous verrons dans une section suivante que dans la défaillance cardiaque, ce switch métabolique s'inverse, pour revenir à un phénotype de type fœtal (shift glycolytique) (**Figure 10**).

Figure 10 : Substrats énergétiques en période périnatale et au cours de la défaillance cardiaque.



La régulation du métabolisme myocardique est liée à la concentration sanguine de substrats, à la concentration d'hormones régulatrices (catécholamines) et à l'inotropisme. Cette régulation de l'utilisation des substrats et des voies métaboliques implique la régulation de l'expression de protéines clé (enzymes, transporteurs), et la régulation des relations entre substrats et produits. Lors d'une charge maximale de travail myocardique, la machinerie métabolique utilise 90% des capacités maximales de transfert d'électrons dans la chaîne respiratoire, versus 15 à 25% au repos. L'activité métabolique des enzymes clé peut donc être augmentée ou abaissée rapidement sans affecter la concentration d'ATP intracellulaire. Pour un taux de consommation en oxygène donnée (MVO_2), la performance contractile du cœur est plus grande lorsque le cœur oxyde majoritairement du glucose et du lactate et moins d'acides gras⁹⁵. Des études réalisées chez des sujets sains ont démontré une diminution de l'efficacité myocardique lorsque la concentration sanguine en acides gras libres était élevée⁹⁸. Les mécanismes expliquant ce phénomène ne sont pas clairs. D'un point de vue théorique, l'oxydation des acides gras requière un taux de consommation en oxygène plus élevé pour la synthèse de l'ATP que l'oxydation des carbohydrates. En effet, le ratio ATP/oxygène pour le glucose et le lactate est de 3,17 et 3,0 respectivement alors qu'il est de 2,80 et 2,86 pour le palmitate et l'oléate. Ceci est expliqué par le fait que la glycolyse entraîne la formation de NADH qui donnera 3 protons H^+ au complexe I de la chaîne respiratoire mitochondriale, tandis

que la β -oxydation des acides gras entraîne la formation de FADH_2 qui donnera 2 protons H^+ au complexe II. En d'autres termes, le maintien du gradient de protons nécessaire à l'ATP synthase est donc plus efficient avec l'utilisation du glucose et l'utilisation des acides gras requière une plus grande quantité d'oxygène pour la production d'une quantité donnée d'ATP. La quantité d'énergie générée et le rendement de chaque type de substrat sont représentés dans le **tableau 7**.

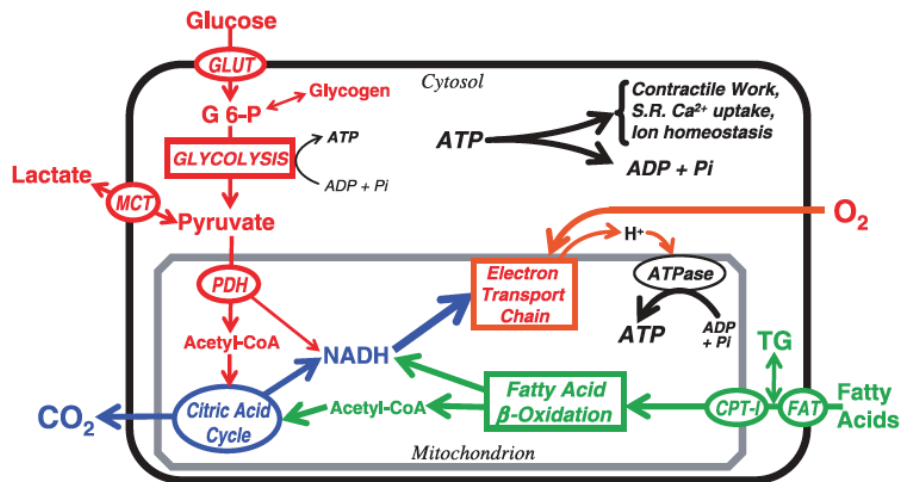
Tableau 7 : Bilan énergétique et consommation en oxygène selon le substrat utilisé.

Substrat	Type de substrat	Rendement en ATP par molécule	ATP formé / atome d' O_2 consommés	Atomes d' O_2 consommé par mol.
Palmitate	AG saturé (16C)	129 ATP	2.6	50
Oléate	AG mono insaturé (18C)	144 ATP	2.6	50
Glucose libre	Glucide	32 ATP en aérobie 2 ATP en anaérobie	3.0	12
Lactate	Produit de la glycolyse	18	3.0	6

c. Synthèse énergétique du myocyte

Dans des conditions de normoxie, plus de 95% de la formation d'ATP provient du métabolisme oxydatif de la chaîne respiratoire mitochondriale (phosphorylations oxydatives) dont l'oxydation des acides gras représente la source préférentielle. Le reste provient de la glycolyse et de la formation de guanosine triphosphate (GTP) via le cycle de l'acide citrique (Cycle de Krebs). Les réactions de phosphorylations oxydatives sont alimentées par l'énergie provenant des électrons issus du NADH et du FADH_2 . Ces équivalents réduits sont produits principalement par la β -oxydation des acides gras, le cycle de Krebs, la glycolyse et la pyruvate déshydrogénase. La **figure 11** schématise les voies métaboliques impliquées dans la production énergétique du cardiomyocyte. Le cycle de l'acide citrique (cycle de Krebs) est alimenté par l'Acetyl-CoA provenant de la décarboxylation du pyruvate et de la β -oxydation des acides gras. Les équivalents réducteurs (NADH et FADH_2) sont les produits de plusieurs voies métaboliques : glycolyse, l'oxydation du lactate, l'oxydation du pyruvate, la β -oxydation des acides gras et le cycle de Krebs. L'acetyl-CoA constitue donc une molécule « carrefour ». Suite à des cascades de réactions de phosphorylation oxydative, le NADH et FADH_2 délivrent des électrons à la chaîne respiratoire mitochondriale aboutissant à la formation d'ATP.

Figure 11 : Voies métaboliques de la production énergétique dans les cardiomyocytes (Tiré de⁹⁵).



i. La glycolyse

La glycolyse correspond à une série de réactions chimiques se produisant dans le cytoplasme du cardiomyocyte (**Figure 12**). La glycolyse est caractérisée par 10 étapes séparées en 2 phases : la phase d'investissement (5 réactions ; consommation de 2 ATP) et la phase de libération de l'énergie (5 réactions ; production de 4 ATP). A partir d'une molécule de glucose, il y a donc utilisation de 2 ATP, génération de 4 ATP, production de 2 pyruvates, 2 NADH et relâche de 2 cations H^+ . Les étapes de la glycolyse font l'objet de nombreuses régulations complexes hormonales (insuline, glucagon) et nerveuses (adrénaline). Globalement, la glycolyse est régulée par ses produits de réaction de sorte que la production énergétique soit en adéquation avec la demande et la consommation.

L'hexokinase (HK) qui catalyse la première étape irréversible de la glycolyse est une enzyme clé de la régulation. Elle permet de « piéger » le glucose à l'intérieur de la cellule par la phosphorylation du glucose en glucose-6-phosphate (G6P) en utilisant un ATP, maintenant un gradient de concentration du glucose entre les compartiments intra- et extra-cellulaire. Il existe deux isoformes d'hexokinase : HK1 et HK2. HK1 serait impliquée dans le catabolisme, associée à GLUT1, particulièrement dans le cœur fœtal. HK2 serait impliquée dans l'anabolisme et associée à GLUT4 et principalement présente chez l'adulte.

La phosphofructokinase-1 (PFK-1) catalyse le fructose-6-phosphate en fructose-1,6-diphosphate en consommant une molécule d'ATP et est une enzyme clé de la régulation de la glycolyse (réaction 3). Elle est activée par l'ADP, l'AMP et le phosphate inorganique (Pi). Elle

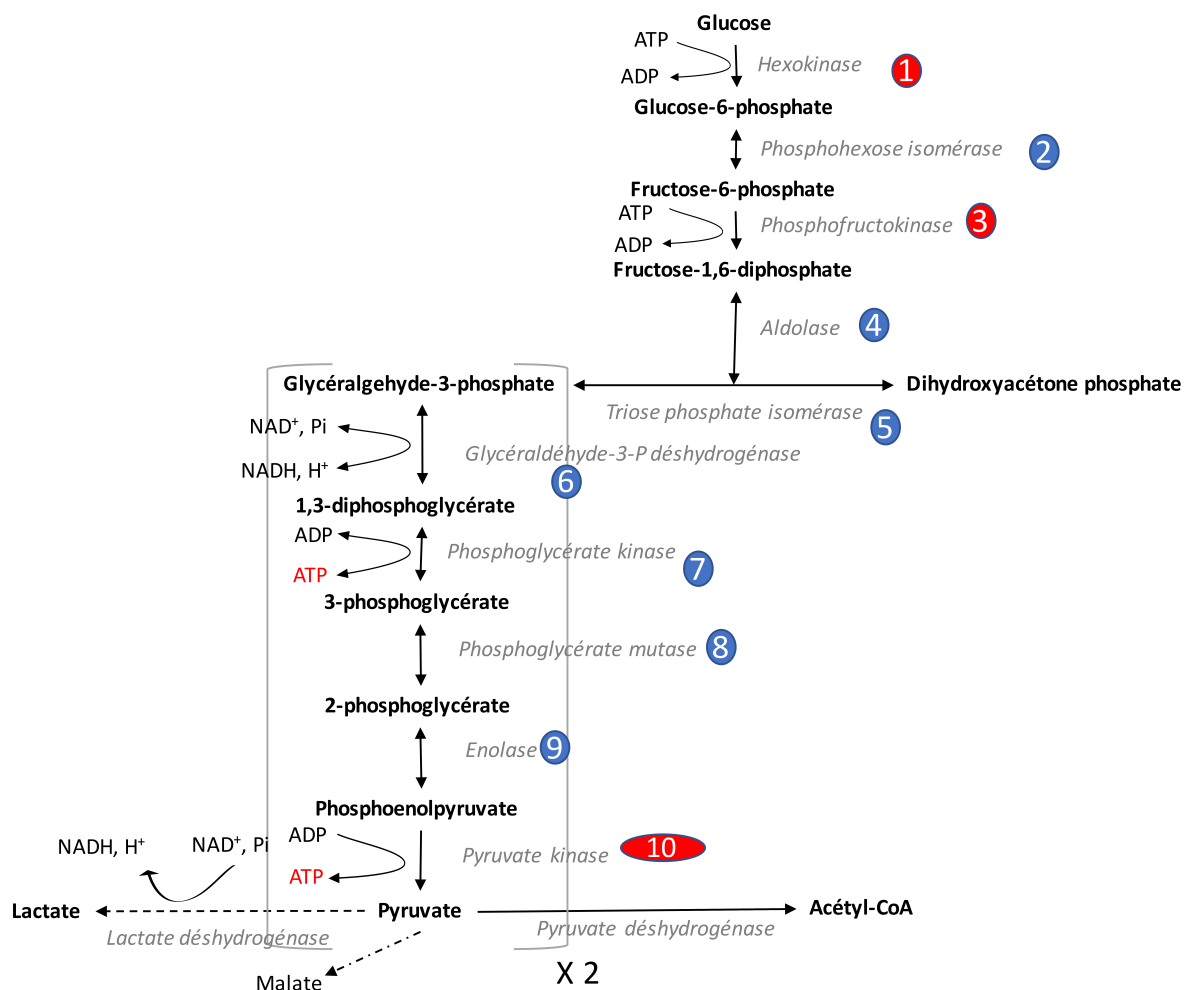
est inhibée par l'ATP et la baisse de pH. Ainsi, lorsque les phosphorylations diminuent, la PKF-1 active la glycolyse.

La dernière étape de la glycolyse est catalysée par la pyruvate kinase (PK) qui entraîne la production d'un ATP par déphosphorylation irréversible du phosphoénolpyruvate en pyruvate. La localisation des complexes glycolytiques à proximité des ATPases permet de coupler la production d'énergie à sa consommation ainsi que la régulation de la glycolyse par ses propres produits. En effet, l'ATP produit par la glycolyse alimente prioritairement les pompes membranaires à activité ATPase. Ces pompes entretiennent les gradients de sodium, potassium et calcium à travers la membrane cellulaire^{95, 99}.

Une fois le pyruvate formé par la glycolyse, il peut soit entrer dans la mitochondrie pour générer du CO₂ et du NADH afin de compléter le processus oxydatif de la glycolyse (glycolyse aérobie), soit être converti en lactate dans le cytosol (glycolyse non oxydative). Les dernières étapes de l'oxydation du glucose se produisent dans la mitochondrie et permettent la production d'une grande quantité d'énergie en présence d'oxygène. Une fois dans la mitochondrie, le pyruvate est décarboxylé par la pyruvate déshydrogénase (PDH) en NADH, et acétyl-CoA. Ce dernier est utilisé par le cycle de l'acide citrique afin d'alimenter la chaîne respiratoire mitochondriale.

Bien qu'ayant un faible rendement énergétique (production de 2 ATP), la glycolyse anaérobie est essentielle pour le fonctionnement cardiaque car elle permet une production d'ATP même en l'absence d'oxygène. Cependant, cette compensation n'est pas durable car le rendement glycolytique n'est pas suffisant pour assurer une fonction normale à long terme et entraîne l'accumulation de lactate. Dans les conditions normales, le cœur consomme plus de lactate qu'il n'en produit, tandis qu'en condition ischémique, la glycolyse étant principale source d'énergie, le lactate s'accumule dans les cardiomyocytes entraînant une acidose cellulaire¹⁰⁰.

Figure 12 : Les 10 étapes de la glycolyse.



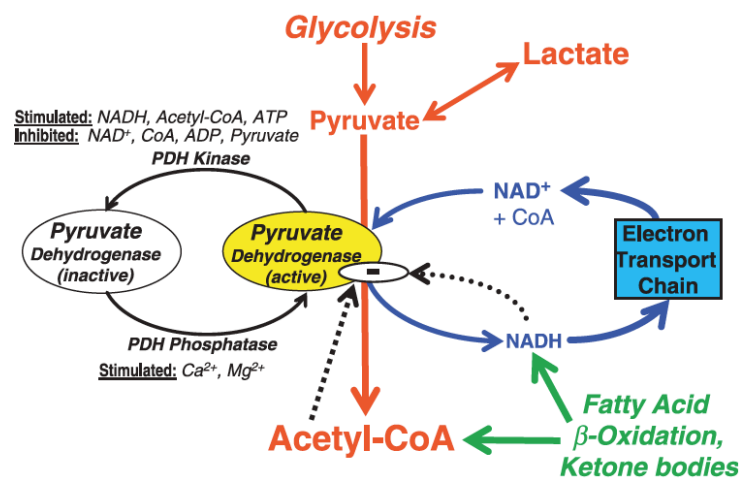
ii. Le catabolisme du pyruvate

La glycolyse aboutit à la formation de 2 molécules de pyruvate qui sont importées dans la mitochondrie par un transporteur pyruvate-proton H^+ . Le pyruvate peut alors être utilisé de 3 manières (**Figure 13**) : (1) conversion en lactate par la lactate déshydrogénase, (2) carboxylation en malate, (3) ou décarboxylation en acétyl-CoA par la pyruvate déshydrogénase (PDH).

La décarboxylation du pyruvate par la PDH est une étape irréversible clé dans le métabolisme énergétique des cardiomyocytes. La PDH est un complexe enzymatique localisé dans la matrice mitochondriale qui est sujette à de multiples régulations. Lorsque la PDH est inactivée, le pyruvate n'est plus transformé en acétyl-CoA et est dévié vers la transformation en lactate. L'inhibition de la PDH réduit donc l'oxydation du glucose. La PDH est inactivée par phosphorylation par la pyruvate déshydrogénase kinase (PDK) et est activée par

déphosphorylation de la PDH phosphatase (**Figure 13**). L'isoforme PDK4 est la forme prépondérante de la PDK dans les cardiomyocytes adultes. Son activité est inhibée par le pyruvate et la baisse des ratios acétyl-coA/CoA et NADH/NAD⁺. L'expression de la PDK est rapidement induite par le jeune, le diabète et les PPAR- α . Une concentration sanguine élevée en acides gras et l'accumulation d'acides gras à longue chaîne dans la cellule augmentent également l'expression de PDK4 par l'intermédiaire des PPAR- α , ce qui induit une plus grande phosphorylation de PDH et par conséquent une réduction de l'oxydation du pyruvate. L'inhibition de la glycolyse sous l'effet de l'augmentation de l'oxydation des acides gras est médiée par le citrate et l'augmentation des ratio (acetyl-CoA/CoA) et (NADH/NAD⁺) qui inhibe la PDH. Cette interaction est appelée cycle de Randle¹⁰¹. A l'opposé, l'activité de la PDH est augmentée par une stimulation adrénérurgique via une augmentation de la concentration de calcium intracellulaire.

Figure 13 : Régulation de l'oxydation du glucose et du lactate par la pyruvate déshydrogénase (Tiré de⁹⁵).

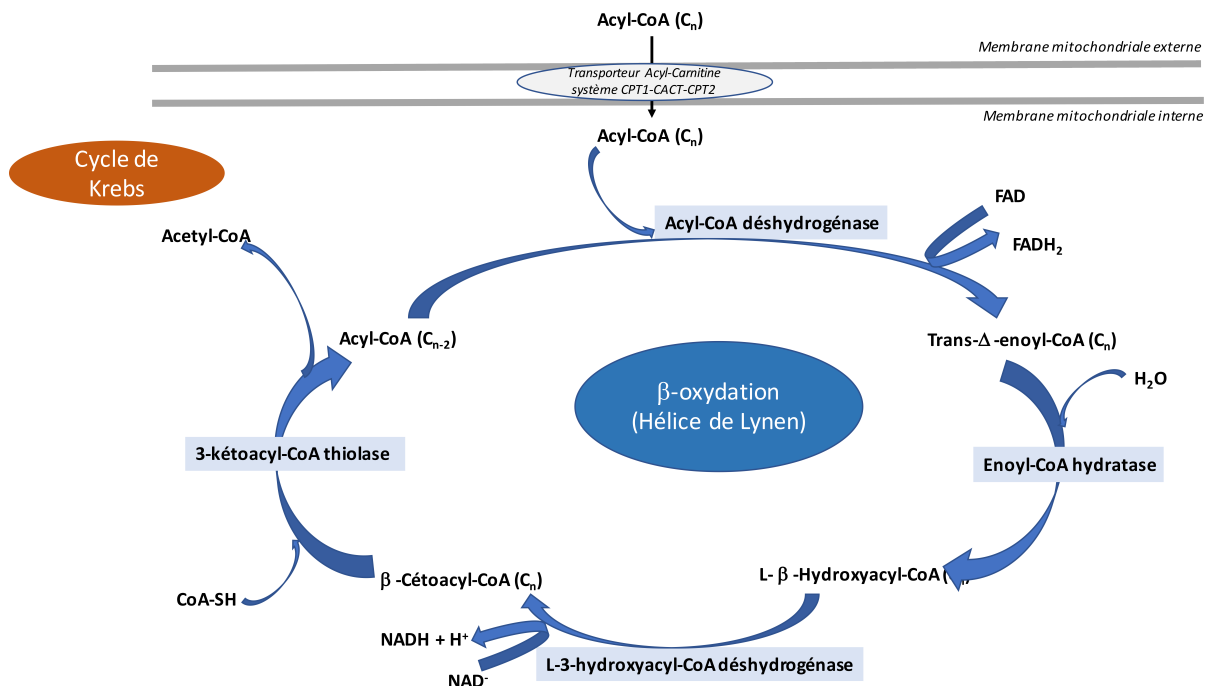


iii. La β -oxydation

La β -oxydation, ou hélice de Lynen, se produit dans la matrice mitochondriale et correspond à une succession de réactions enzymatiques en spirale qui produisent à chaque tour un AG avec 2 carbones en moins, un NADH, un FADH₂ et un acétyl-CoA¹⁰² (Pour revue, voir¹⁰²). Cette spirale est composée de 4 étapes principales correspondant chacune à une enzyme : (1) une étape d'oxydation via l'acyl-CoA déshydrogénase, (2) une étape d'hydratation par l'enoyl-CoA hydratase, (3) une seconde étape d'oxydation via la L-3-hydroxyacyl-CoA déshydrogénase (4) et une étape de thiolyse via la 3-kétoacyl-CoA thiolase (**Figure 14**). Chacune de ces enzymes est inhibée par son produit de réaction et par le NADH et le FADH₂.

Les AG à longue chaîne sont dégradés complètement après un nombre de tours qui dépend de la longueur de la chaîne.

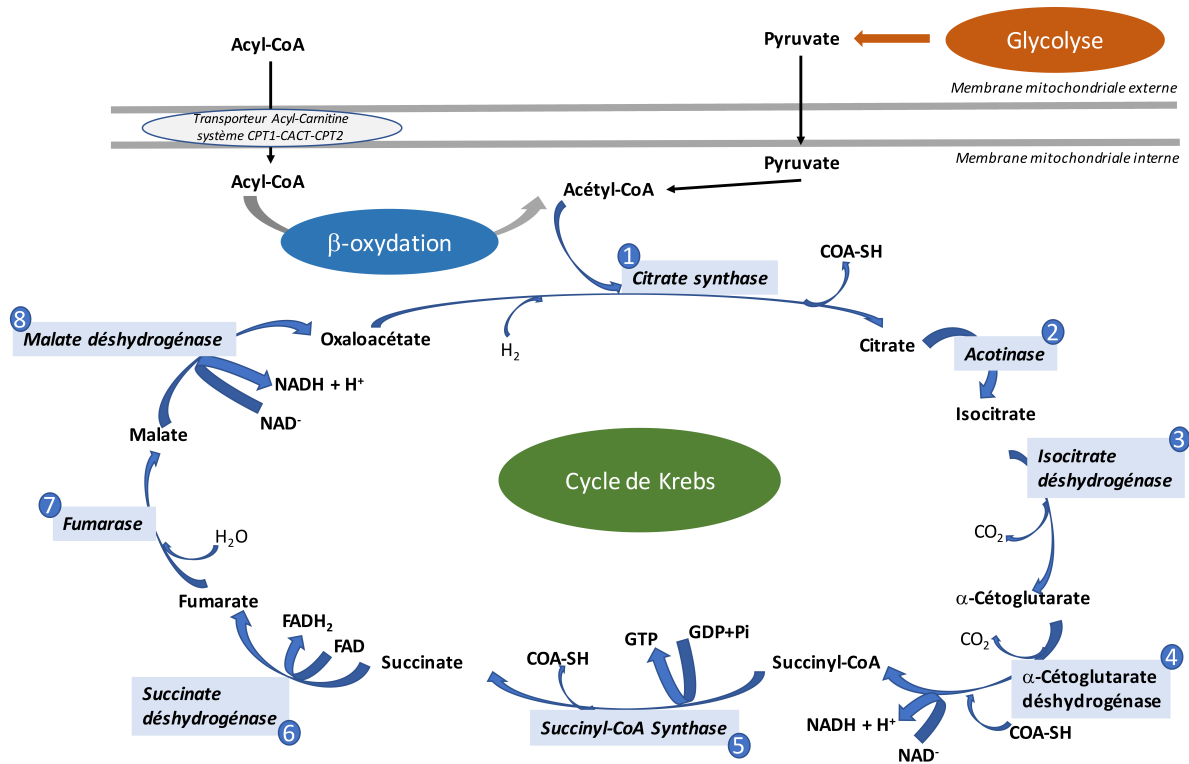
Figure 14 : Les étapes de la β -oxydation.



iv. Le cycle de l'acide citrique ou cycle de Krebs

Le cycle de l'acide citrique ou cycle de Krebs est l'étape commune des voies oxydatives du glucose et des acides gras. Il correspond au catabolisme oxydatif aérobie du groupement acétyle sous forme active d'acétyl-CoA. L'acétyl CoA est le point de convergence du catabolisme des glucides (glycolyse, oxydation du pyruvate), et des lipides (β -oxydation des acides gras). Nous venons de voir que l'acétyl-CoA provenait majoritairement de la β -oxydation (60-90%) et de l'oxydation du pyruvate (10-40%) provenant lui-même de la glycolyse et de l'oxydation du lactate¹⁰³⁻¹⁰⁵. Le cycle de Krebs se déroule dans la matrice mitochondriale et correspond à une succession de 8 réactions dont la dernière régénère le substrat de la première : l'oxaloacétate. Le cycle de Krebs permet la production d'une molécule de GTP et de quatre équivalents réduits (3 NADH et 1 FADH₂) qui alimentent la chaîne respiratoire mitochondriale. Ce cycle est contrôlé majoritairement par la disponibilité des substrats. Les étapes du cycle de Krebs sont représentées dans la **figure 15**.

Figure 15 : Les étapes du cycle de Krebs.



v. Les mitochondries

Généralités - Structure

Le terme mitochondrie, introduit par Benda en 1902, correspond à des organelles indispensables au bon fonctionnement et à la survie cellulaire. Les mitochondries sont impliquées dans de nombreux aspects de l'homéostasie. Elles jouent un rôle central dans l'homéostasie calcique, la thermogénèse, la régulation du pH intracellulaire, le processus d'apoptose et bien sûr dans la production énergétique¹⁰⁶. L'immense spectre des maladies mitochondriales est le reflet de leur rôle essentiel dans la cellule¹⁰⁷.

Les mitochondries proviennent de la fusion d'une α -pro bactérie symbiotique et d'un progéniteur eucaryote¹⁰⁸ dont il ne reste qu'un faible pourcentage dans les mitochondries humaines. Bien que possédant leur propre génome, les mitochondries sont dépendantes du génome nucléaire. La biogénèse mitochondriale et le maintien de l'intégrité structurelle des mitochondries nécessitent l'apport de protéines codées dans le noyau¹⁰⁹. En effet, environ

1500 protéines mitochondriales ont été recensées tandis que le génome mitochondrial, transmis par la mère, ne contient que 37 gènes dont 13 codent pour des sous-unités de la chaîne respiratoire mitochondriale¹¹⁰. Deux facteurs de transcription jouent un rôle majeur dans la communication noyau-mitochondrie. Le *nuclear respiratory factor* (NRF) se lie et active les promoteurs de plusieurs gènes codant pour OXPHO et le *mitochondrial transcription factor A* (mtTFA) régule la réplication et la transcription de l'ADN mitochondrial. En aval de ces facteurs de transcription, le *transcriptional coactivator of peroxisome proliferator-activated receptor gamma* (PPAR γ) de type 1 (PGC-1 α) peut coactiver la biogénèse mitochondriale via son interaction avec NRF.

Les mitochondries sont des structures dynamiques, sujettes en permanence à des phénomènes de fusion et de fission¹¹¹. Leur forme, leur disposition, leur taille et leur abondance varient selon le type cellulaire et l'espèce. Malgré leur petite taille (diamètre 0.7 à 3 μm) les mitochondries occupent environ 30% de l'espace intra cardiomyocytes et sont organisée en rangs serrés le long des myofilaments, autour du noyau et au niveau subsarcolemmal. Elles ont d'ailleurs des propriétés biochimiques différentes selon la région qu'elles occupent dans la cellule¹¹². Les mitochondries réparties le long des myofibrilles ont une activité succinate deshydrogenase et citrate synthase plus élevée que celles réparties sous le sarcolème.

Les mitochondries sont constituées d'une membrane externe et d'une membrane interne ayant chacune leurs particularités. La membrane externe est perméable aux ions et aux molécules de poids moléculaire inférieur à 6 kDa, tandis que la membrane interne est imperméable à la plupart des ions et des molécules polaires. Ces deux membranes délimitent deux compartiments essentiels à la fonction mitochondriale : la matrice mitochondriale et l'espace intermembranaire¹¹³. La membrane interne contient les différents complexes de la chaîne respiratoire mitochondriale et l'ATP synthase qui sont les principaux acteurs des phosphorylations oxydatives. La très faible perméabilité de la membrane interne impose la nécessité d'utilisation de transporteurs transmembranaires pour les échanges ioniques et métaboliques. Un des exemples de transporteurs dans la cellule cardiaque est la navette malate-aspartate permettant au NADH produit dans le cytoplasme par la glycolyse de passer dans la matrice mitochondriale pour servir de substrat à la chaîne respiratoire mitochondriale.

Nous avons évoqué précédemment le système des carnitines palmitoyl transférase (CPT1-CAT-CPT2) pour le transfert de l'acyl-CoA qui sert de substrat à la β -oxydation des acides gras. Lorsque l'on observe les mitochondries en microscopie électronique, nous pouvons visualiser de nombreuses crêtes qui semblent correspondre à des invaginations de la membrane interne. L'ensemble de ces crêtes est appelé *cristae* mitochondriale. Ces crêtes sont en fait des structures à part, reliées à la membrane interne par des jonctions tubulaires¹¹⁴. Elles pourraient jouer un rôle dans la compartimentalisation des protons ou de protéines comme le cytochrome C. La membrane mitochondriale est également le siège du pore de transition de perméabilité (PTP) qui est formé transitoirement au moment de l'entrée de la mitochondrie dans le processus d'apoptose. Il correspond à un complexe multi protéique dont la structure précise reste mal connue. L'ouverture de ce pore conduit au gonflement de la mitochondrie et à la rupture de la membrane externe.

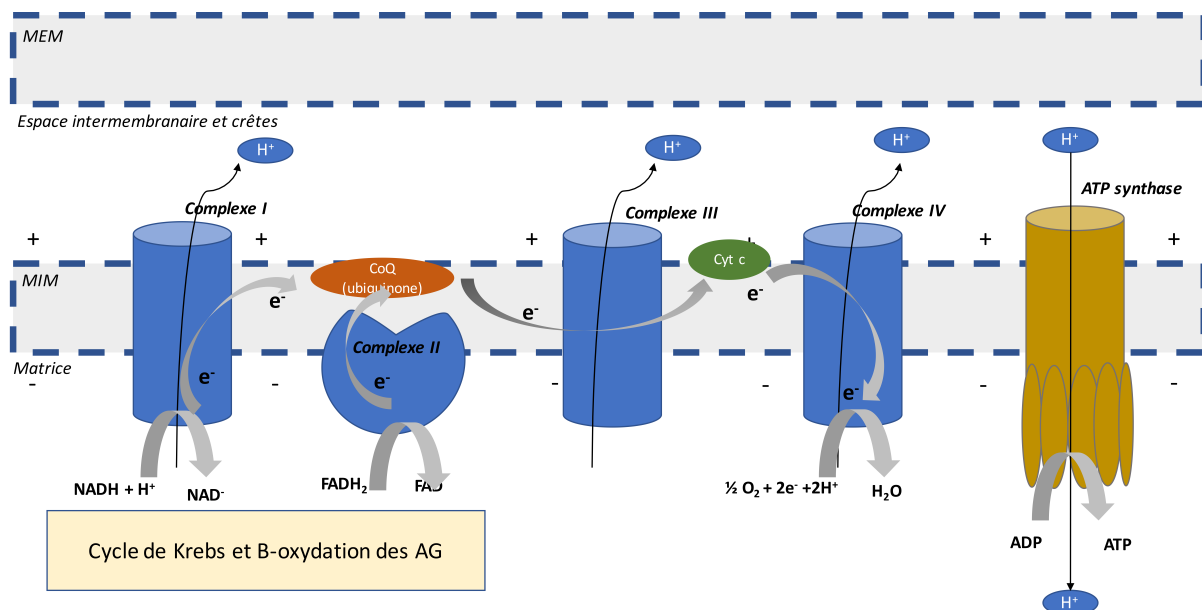
Les phosphorylations oxydatives et la chaîne respiratoire mitochondriale

Présentes dans toutes les cellules eucaryotes aérobies, les mitochondries sont le siège des mécanismes oxydatifs aboutissant à la production d'une grande quantité d'ATP à partir de substrats variés. Les capacités maximales des mitochondries à utiliser l'oxygène sont déterminées par la masse mitochondriale et par leur activité intrinsèque et peuvent être mesurées par l'activité d'enzymes clé comme la citrate synthase, ou la cytochrome oxydase. Les réactions d'oxydation du catabolisme (glycolyse, cycle de l'acide citrique, β -oxydation des acides gras) enlèvent aux substrats des atomes d'hydrogène qui sont pris en charge par les coenzymes NAD et FAD. La réoxydation de ces coenzymes réduits ou équivalents réduits est indispensable à l'entretien de ce catabolisme oxydatif. De plus, le pouvoir réducteur de ces coenzymes (NADH et FADH₂) est utilisé pour la synthèse d'ATP. Le processus qui couple la réoxydation des équivalents réduits à la synthèse d'ATP par phosphorylation de l'ADP s'appelle oxydation phosphorylante. Il est réalisé à travers une succession de réactions au sein d'un groupement de complexes enzymatiques appelé chaîne respiratoire mitochondriale. Le NADH et le FADH₂ sont transférés de couple redox en couple redox dans le sens du gradient de potentiel redox et transfèrent soit un ion hydrure (NAD), soit 2 atomes d'hydrogène (FAD, coenzyme Q), soit un électron (cytochromes). La chaîne respiratoire est localisée dans la membrane interne mitochondriale et comprend 4 complexes fixes (I, II, III et IV) et 2

transporteurs mobiles d'électrons (l'ubiquinone ou Coenzyme Q (CoQ) entre les complexes I et II) et le cytochrome C (entre les complexes III et IV) (**Figure 16**).

Le complexe I (NADH-coenzyme Q réductase) reçoit les équivalents réduits NADH, H⁺ provenant de voies oxydatives mitochondriales (cycle de Krebs et β-oxydation des acides gras) et de la glycolyse. Le complexe I transmet alors les équivalents réduits au CoQ. Le complexe II (succinate-coenzyme Q réductase) reçoit le FADH₂ et les transmet également au CoQ. Ainsi, tous les équivalents réduits issus du catabolisme oxydatif transitent par le CoQ. Le complexe III (coenzyme QH₂-cytochrome c réductase) reçoit les équivalents réduits du CoQH₂ et les transmet au cytochrome c. Le complexe IV (cytochrome c oxydase) reçoit les équivalents réduits du cytochrome c et les passe à l'oxygène moléculaire pour former de l'H₂O. L'énergie chimique (oxydation) est convertie en énergie électrochimique. L'énergie perdue le long de la chaîne respiratoire est utilisée à la formation d'un gradient transmembranaire de protons au sein de l'espace intermembranaire. Les complexes I, III et IV sont en effet des pompes à protons, capables de générer une différence de potentiel de part et d'autre de la membrane interne mitochondriale. Cette énergie créée par le gradient de protons est appelée force protonotrice. Cette énergie est libérée lors du retour des protons dans la matrice via le canal de l'ATPase-ATP synthase et permet la production d'ATP à partir de l'ADP. L'énergie électrochimique est alors convertie en énergie chimique. Le passage de 3 protons est nécessaire à la synthèse d'une molécule d'ATP.

Figure 16 : La chaîne respiratoire mitochondriale.



Chapitre 2 : la défaillance ventriculaire droite en pratique clinique

1) Comment définir la défaillance ventriculaire droite ?

Malgré l'avancée significative des connaissances ces dernières années, la configuration tridimensionnelle complexe du VD, ses interactions étroites avec le ventricule gauche et le péricarde restent des obstacles pour l'établissement d'une définition unique et simple de la dysfonction et de la défaillance ventriculaires droites. Il est important de noter que *remodelage*, *dysfonction* et *défaillance* du ventricule droit ne sont pas des stricts synonymes. Ils représentent en effet un continuum dans l'évolution des anomalies de fonctionnement du ventricule droit^{35, 54} (**Figure 17 et Tableau 8**). Ce continuum physiopathologique va de l'état de *prédisposition* à l'insuffisance ventriculaire droite, à la « *défaillance terminale* » du ventricule droit. Nous nous attacherons à définir chacun de ces termes.

Figure 17 : Les 4 phases du continuum des anomalies de la fonction ventriculaire droite.

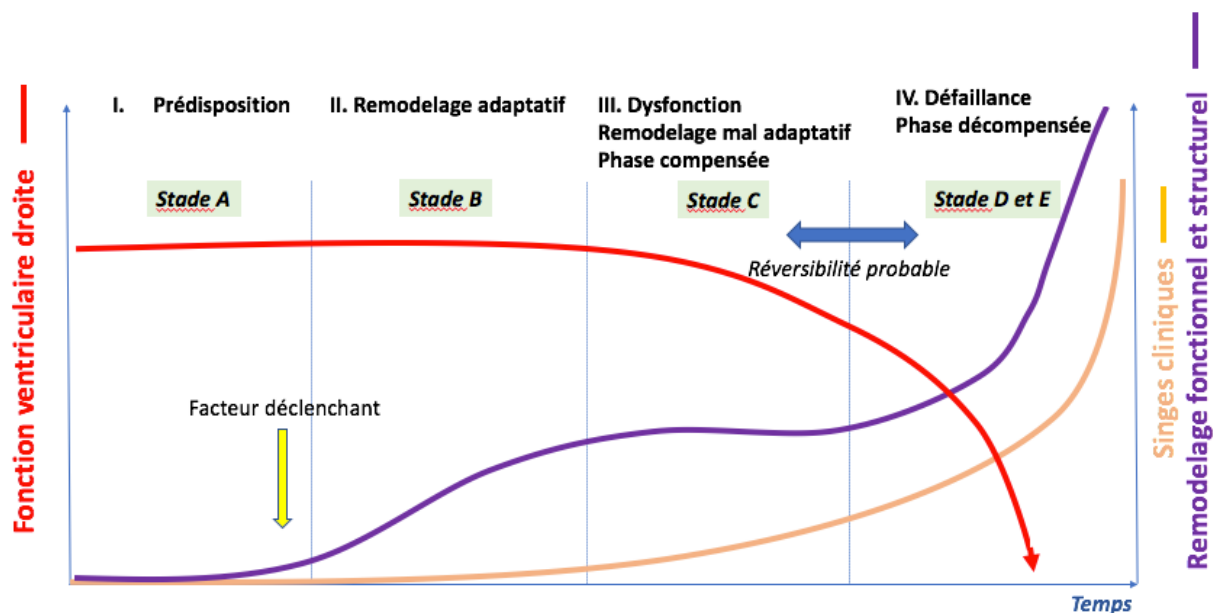


Tableau 8. Terminologie et continuum de la défaillance ventriculaire droite (Inspiré de³⁴).

Stades	A	B	C	D et E	
Terminologie	Risque de développer une insuffisance cardiaque droite	Remodelage ventriculaire adaptatif	Dysfonction VD Défaillance VD asymptomatique	Défaillance VD symptomatique	Défaillance VD terminale ou réfractaire
Définition	Présence de précurseurs (liste non exhaustive) : -Génétique -HTAP -Cardiopathie gauche -Coronaropathie -Cardiopathie congénitale	Phase d'adaptation aux nouvelles conditions de charge du VD	Mal adaptation du VD aux nouvelles conditions de charge. Anomalie structurelle ou fonctionnelle systolique ou diastolique	Insuffisance myocardique avec incapacité d'éjection ou de remplissage adéquat du VD. Signes cliniques et symptômes de rétention hydro-sodée	Persistance des symptômes et des signes cliniques malgré un traitement médical optimal maximal
Symptômes	Non	Non	Non (Possible à l'effort)	Oui	Oui, invalidants
Signes cliniques	Non	Non	Non	Oui	Oui
Anomalies structurelles visibles en imagerie	Non	Oui	Oui	Oui	Oui
Anomalies fonctionnelles visibles en imagerie	Non	Oui	Oui	Oui	Oui
Anomalies métaboliques	Possibles	Possibles	Oui	Oui	Oui

Le **remodelage ventriculaire droit** peut être défini par les modifications structurelles et / ou fonctionnelles du ventricule droit soumis à un stimulus. Les stimuli peuvent être une surcharge de pression (augmentation de la post charge), une surcharge de volume (augmentation de la pré charge), de l'exercice, ou une anomalie génétique (altération intrinsèque du myocarde, baisse de la contractilité). Par analogie avec le ventricule gauche, ce remodelage peut être physiologique (adaptatif) ou délétère (mal adaptatif).

Dans le remodelage physiologique, la fonction ventriculaire droite reste adaptée à l'augmentation de la charge du ventricule. Le couplage ventriculo-artériel est normal. L'archétype du remodelage physiologique est l'hypertrophie myocardique observée chez les sportifs de haut niveau. Une dilatation des cavités droites, une amélioration de la fonction diastolique ventriculaire droite et une diminution de la fonction systolique du VD ont été observées chez des athlètes¹¹⁵⁻¹¹⁸. La signification sur le long terme de ces modifications adaptatives reste à définir. Dans le remodelage maladaptatif, la fonction ventriculaire n'est plus adaptée à la charge ventriculaire et il se produit un découplage ventriculo-artériel. Il survient lorsque le stimuli persiste dans le temps, comme dans l'hypertension pulmonaire chronique. Lorsque la charge ventriculaire est d'emblée trop importante, ou survient rapidement, le ventricule droit n'a pas le temps de se remodeler et devient d'emblée défaillant (embolie pulmonaire aigüe massive par exemple). Nous reviendrons sur les mécanismes du remodelage maladaptatif dans le prochain chapitre de cette thèse.

La **dysfonction ventriculaire droite** peut être définie comme une anomalie de la fonction ventriculaire droite détectée par un test diagnostique, avant ou après la survenue de symptômes. Généralement, la dysfonction est associée à un substratum histologique et moléculaire, avec hypertrophie des cardiomyocytes, dilatation des cavités ventriculaire et auriculaire en réponse à l'augmentation de la post charge et des contraintes pariétales.

L'insuffisance ou défaillance ventriculaire est un concept défini par l'incapacité du ventricule droit à assurer un débit sanguin adéquat dans la circulation, soit par défaut de remplissage, soit par défaut d'éjection¹³. Selon les lignes directrices européennes, la défaillance cardiaque est définie de manière strictement clinique, par la présence de signes cliniques de rétention liquidienne. En effet, la défaillance cardiaque est définie comme un syndrome caractérisé par des symptômes typiques mais non spécifiques. Ces symptômes peuvent être accompagnés par des signes cliniques (augmentation de la pression veineuse jugulaire, crépitements pulmonaires, œdèmes périphériques, ascite). Ces symptômes et ces signes cliniques sont causés par une anomalie cardiaque structurelle ou fonctionnelle, avec pour conséquence une réduction du débit cardiaque, et / ou une élévation des pressions dans les cavités cardiaques au repos et à l'effort¹³.

Le diagnostic de défaillance ventriculaire droite repose donc sur un faisceau d'arguments cliniques, biologiques et d'imagerie. Les principales définitions de la défaillance droites utilisées dans la littérature sont résumées dans le **Tableau 9**. Selon les études, les circonstances cliniques, et l'avancement des connaissances, la définition de la défaillance du VD varie significativement. Il n'existe d'ailleurs pas de définition consensuelle universelle. En effet, elle peut être définie par la nécessité d'une assistance circulatoire mécanique, par la présence de signes cliniques peu spécifiques comme des œdèmes périphériques ou de l'asthénie, ou encore par son retentissement sur les organes cibles : le foie et le rein. D'un point de vue hémodynamique, la défaillance cardiaque est définie par la baisse du débit cardiaque associée ou non à une augmentation des pressions de remplissage (pression veineuse centrale). Les signes cliniques sont peu spécifiques et peuvent être aigus ou chroniques. Le diagnostic de défaillance ventriculaire droite requiert un degré de suspicion clinique élevé. Son diagnostic précoce, avant la survenue des symptômes et du retentissement sur les organes cibles est un enjeu important pour l'amélioration du pronostic de ces patients. Il est également essentiel de reconnaître la cause de la dysfonction ventriculaire droite afin d'envisager un traitement efficace et d'établir un pronostic.

Tableau 9 : Définitions de la défaillance ventriculaire droite utilisées dans la littérature (par ordre chronologique).

Etudes	Contexte de l'étude	Définitions
1982 <i>Goldstein J et al.</i> ⁶	Infarctus du VD expérimental chez le chien	La défaillance droite était définie comme une baisse du débit cardiaque associée à une augmentation des pressions de remplissage et une dilatation des cavités droites.
2004 <i>Morgan J et al.</i> ¹¹⁹	Post assistance ventriculaire gauche	Support inotrope maximal : <ul style="list-style-type: none"> - <i>Dobutamine</i> > 7.5-15µg/kg/min - <i>Milrinone</i> > 0.75µg/kg/min Utilisation de NO ou prostaglandine Critères hémodynamiques : <ul style="list-style-type: none"> - <i>TVC élevée</i> - <i>PAP basse</i> - <i>Débit LVAD diminué <2.4</i> Critères échographiques : <ul style="list-style-type: none"> - Taille et fonction du VD Critère de défaillance multi organe
2006 <i>Dang NC et al.</i> ¹²⁰ (INTERMACS)	Post assistance ventriculaire gauche	Présence d'un des éléments suivants : <ul style="list-style-type: none"> - <i>Besoin d'un inotrope intraveineux pour une durée de plus de 14 jours.</i> - <i>Besoin de NO inhalé pour une durée de plus de 48h.</i> - <i>Besoin d'une assistance mécanique ventriculaire droite</i> Sortie de l'hôpital avec inotropes
2008 <i>Haddad F et al.</i> ³⁵	Tout contexte	Syndrome clinique complexe résultant d'une altération structurelle ou fonctionnelle du remplissage ou de l'éjection ventriculaire. Les manifestations cardinales de la défaillance ventriculaire (1) rétention hydrique, avec œdèmes périphériques, ascite et anasarque (2) diminution de la réserve systolique ou bas débit cardiaque avec limitation à l'effort ou fatigue, (3) ou arythmies auriculaire ou ventriculaire.
2011 <i>Kukucka M et al.</i> ¹²¹	Post assistance ventriculaire gauche	La présence de 2 ou plus des éléments suivants dans les 48h suivant l'implantation d'une assistance ventriculaire gauche: <ul style="list-style-type: none"> - <i>Pression artérielle moyenne < 55 mm Hg,</i> - <i>TVC > 16 mm Hg</i> - <i>SVO₂ < 55%</i> - <i>Index Cardiaque < 2.0L/min/m²</i> Support inotrope > 20 UI selon le score inotropique
2013 <i>Yancy C et al.</i> ¹²² (ACCF/AHA guidelines)	Insuffisance cardiaque gauche (pas de spécificité pour la défaillance droite)	Syndrome clinique complexe résultant d'une altération structurelle ou fonctionnelle du remplissage ou de l'éjection ventriculaire. Les manifestations cardinales sont dyspnée, fatigue, limitation à l'effort, rétention hydro-sodée, congestion splanchnique et œdèmes périphériques.
2016 http://www.uab.edu/medicine/intermacs/intermacs-documents	Post assistance ventriculaire gauche	Présence des 2 caractéristiques suivantes : 1. Documentation d'une augmentation de la pression veineuse centrale par : <ul style="list-style-type: none"> - <i>Mesure directe > 16 mm Hg.</i> <li style="text-align: center;">ou - <i>Veine cave inférieure dilatée et absence de variation respiratoire en échographie</i>

(INTERMACS)

- ou
 - Augmentation de la tension veineuse jugulaire au moins à mi-hauteur du cou.
2. Manifestations d'une pression veineuse centrale augmentée :
- Œdème périphérique $\geq 2+$
 - ou
 - Présence d'ascite, d'hépatomégalie palpable à l'examen physique ou sur l'imagerie,
 - ou
 - Dysfonction hépatique biologique (total bilirubine > 2.0 mg/dl) ou rénale (créatinine > 2.0 mg/dl).

2016 <i>Ponikowski P et al.</i> ¹³ (ESC guidelines)	Insuffisance cardiaque gauche (pas de spécificité pour la défaillance droite)	Syndrome clinique caractérisé par des symptômes typiques (dyspnée, asthénie, œdème des membres inférieurs) qui peuvent être accompagnés par des signes cliniques (augmentation de la pression veineuse jugulaire, crépitements pulmonaires, œdèmes périphériques, ascite) qui sont causés par une anomalie cardiaque structurelle ou fonctionnelle, avec pour conséquence une réduction du débit cardiaque, et / ou une élévation des pressions dans les cavités cardiaques au repos et à l'effort
2016 <i>Harjola et al.</i> ¹²³	Défaillance ventriculaire droite aigüe	Syndrome rapidement progressif de congestion systémique résultant de l'altération de remplissage et / ou de la réduction de l'éjection du ventricule droit. Il est le plus souvent associé à une augmentation de la post charge du VD, avec pour conséquence une dilatation et une régurgitation tricuspidiennne.
2017 <i>Hrymak C et al.</i> ¹²⁴	Défaillance ventriculaire droite aigüe aux soins intensifs	Syndrome clinique associant : <ul style="list-style-type: none">- Hypotension artérielle systémique- Pression pulmonaire pulsée basse- Pression veineuse centrale élevée Insuffisance d'organe abdominal (rein, foie, ascite)

2) Comment évaluer la fonction ventriculaire droite ?

L'imagerie est la pierre angulaire de l'évaluation de la fonction ventriculaire droite. Tel que discuté dans le précédent chapitre, fonction ventriculaire n'est pas synonyme de contractilité. Afin de considérer tous les aspects de la fonction ventriculaire droite, son évaluation doit prendre en compte des indices géométriques, des indices de fonction systolique, des indices de fonction diastolique, des indices de contractilité régionale et globale, des indices métaboliques et enfin des indices de couplage de la fonction du VD à sa charge de travail. Plusieurs articles et revues de la littérature publiées récemment couvrent l'ensemble de ces aspects^{35, 84, 86, 125, 126}. Les principales innovations concernant l'évaluation du VD en imagerie concernent probablement l'imagerie de la déformation myocardique, l'imagerie de 3D et 4D en échographie et IRM et l'imagerie moléculaire^{35, 84, 86, 125, 126}. Le **tableau 10** regroupe les différents indices cliniques et radiologiques, associés à une dysfonction ventriculaire droite.

Tableau 10 : Formules utilisées pour l'évaluation hémodynamique de la fonction ventriculaire droite (Tiré de¹²⁷).

Paramètre	Formule	Seuil pathologique
Pressions de remplissage	POD/PCAPB	>0,63 (après LVAD) ¹²⁸ > 0,83 (défaillance aigüe) ¹²⁹
Index de pulsativité de la PA	(PAPs-PAPd)/POD	<1,85 (après LVAD) ¹³⁰ < 1,0 (défaillance aigüe) ¹³¹
Résistances vasculaires pulmonaires	PAPm-PCAPB/DC	> 3,6 (après LVAD) ¹³²
Gradient transpulmonaire	PAPm-PCAPB	Indéterminé ¹³³
Gradient pulmonaire diastolique RV Stroke Work	PAPd-PACPB (PAPm-POD) x VES x 0,0136	Indéterminé <15 (après LVAD) ¹³² <10 (défaillance aigüe) ¹³⁴
RV Stroke Work Index	(PAPm-POD) x VES indexé à la SC	< 0,3-0,6 (après LVAD) ^{128, 131}
Compliance de l'AP	SV/(PAPs-PAPd)	< 2,5 (dans la défaillance cardiaque)
Elastance de l'AP (Ea)	PAPs/VES	Indéterminé
Couplage ventriculo-artériel	Ees/Ea	< 1

POD : pression dans l'oreillette droite ; PCAPB : pression capillaire dans l'artère pulmonaire bloquée ; PAPs : pression artérielle pulmonaire systolique ; PAPd : pression artérielle pulmonaire diastolique ; PAPm : pression artérielle pulmonaire moyenne ; DC : débit cardiaque ; VES : volume d'éjection systolique ; SC : surface corporelle ; AP : artère pulmonaire

a. Evaluation hémodynamique

L'évaluation hémodynamique du VD réalisée au chevet du patient est un aspect essentiel du management des patients avec dysfonction ventriculaire droite, notamment aux soins intensifs, en post chirurgie cardiaque ou chez les patients avec une HP^{35, 56, 124, 135}. Il faut cependant garder en tête que l'analyse isolée des pressions dans l'artère pulmonaire et dans l'oreillette droite ainsi que la mesure du débit cardiaque par thermodilution sont souvent pris en défaut, particulièrement après une chirurgie cardiaque. Trois indices hémodynamiques, ayant une meilleure corrélation avec la fonction ventriculaire droite ou la survenue de complications, peuvent être utilisés.

La diminution du ratio *pression artérielle moyenne systémique sur pression pulmonaire moyenne* est un indice hémodynamique simple associé à la survenue de complications hémodynamiques dans le contexte de chirurgie cardiaque¹³⁶.

Le monitoring continu et l'analyse de la forme de la courbe de pression du VD et de l'artère pulmonaire mesurés par un cathéter de Swan-Ganz avec Paceport est un outil simple et très

utile. Il permet le diagnostic de dysfonction systolique et diastolique ventriculaire droite. Une pente diastolique ou en forme de racine carrée (égalité des pressions télédiastoliques du VD et de l'AP) signe l'atteinte de la fonction ventriculaire droite.

Le troisième indice hémodynamique est l'index fonctionnel ventriculaire droit qui correspond au ratio de la pression systolique sur l'index cardiaque. Il permettrait d'évaluer l'adaptation du VD à sa charge de travail. L'augmentation de cet index serait le reflet d'une dysfonction ventriculaire droite. Il est associé à un excès de mortalité chez les patients avec une HP sévère aux soins intensifs ou après une chirurgie cardiaque^{136, 137}.

Enfin, l'analyse en échographie de surface des flux doppler de la veine cave inférieure, des veines sus-hépatiques et de la veine porte sont également utiles pour évaluer la volémie du patient et la précharge du VD. Un apport liquidien excessif jumelé à la dysfonction ventriculaire droite est associé à un excès de mortalité. Il se traduit par une atténuation puis une inversion du signal diastolique doppler dans les vaisseaux intra abdominaux¹³⁸.

La réserve contractile déterminée lors d'un effort ou d'un stress pharmacologique (dobutamine) semble un élément prometteur pour l'évaluation de l'adaptation du VD à ses conditions de postcharge^{139, 140}. Son principal inconvénient est qu'elle nécessite une évaluation invasive de la contractilité.

b. Evaluation échocardiographique

L'évaluation échographique de la structure et de la fonction du VD est bien standardisée. Elle fait l'objet de recommandations américaines et européennes (American Society of Echocardiography et l'European Association of Cardiovascular Imaging) publiées en 2015¹⁴¹. Nous ne ferons qu'énumérer les paramètres habituellement mesurés en échocardiographie pour l'évaluation du ventricule droit. Ils font l'objet d'un nombre extensif de publications et de revues de la littérature qui dépassent le cadre de cette thèse^{35, 86, 142-144}.

- Analyse de la structure : les surfaces et les volumes ventriculaires diastoliques et systoliques, le diamètre télédiastolique base, le diamètre de l'anneau tricuspide, la forme du septum interventriculaire, l'épaisseur de la paroi libre du VD en diastole, la surface de l'oreillette droite, la masse ventriculaire droite, ratio diamètre apex / base.

- Analyse de la fonction systolique : TAPSE (*tricuspid annular plane systolic excursion*)¹⁴⁵⁻¹⁴⁸ ; RVFAC (*right ventricular fractional area change*)¹⁴⁶ ; l'onde S' mesurée en doppler tissulaire à l'anneau tricuspide¹⁴⁹.
- Analyse de la contractilité : IVA (*isovolumic myocardial acceleration*)¹⁵⁰.
- Analyse de la fonction systolo-diastolique : index de Tei ou RVMPI (*right ventricular myocardial performance index*)^{151, 152}.
- Analyse de la tricuspide : doppler couleur, continu (gradient pulmonaire) et pulsé (ondes E et A).
- Analyse de l'interdépendance ventriculaire : index d'excentricité.

L'impact pronostique de chacun de ces paramètres est variable selon les études et les pathologies. La **figure 18** résume les principaux indices de fonction ventriculaire droite et leur signification pronostique¹⁵³. Il est important de noter qu'ils sont tous dépendants des conditions de charge du ventricule droit (à des degrés variables). Les indices de fonction systolique du VD ne sont pas le reflet de la contractilité mais sont le reflet de la fonction globale du VD⁸².

Figure 18 : Paramètres échocardiographiques corrélés à la mortalité dans l'hypertension pulmonaire¹⁵³ (Tiré de¹⁵³).

Table 2. Echocardiographic right ventricular parameters significantly correlated with mortality in pulmonary hypertension

Echocardiographic method	Echo view	Parameter indicating RV dysfunction	Prognosis
TAPSE	Apical 4-CH • M-mode of lateral tricuspid annulus	< 18 mm	TAPSE < 18 mm associated with increased RV dysfunction, increased 1- and 2-year mortality; HR, 5.7 ²⁶
Tei Index (also known as RV-MPI)	Apical 4-CH • Pulse Doppler of TR • Tissue Doppler of lateral tricuspid annulus	> 0.40 using pulse Doppler; > 0.55 Using tissue Doppler	5-Year survival (free of death or lung transplantation): Tei Index 5-Year survival
Peak systolic tricuspid lateral annular velocity	Pulse Doppler tissue imaging of the tricuspid annulus	< 9.7 cm/s	< 0.83 74% ≥ 0.83 4% HR, 1.3 for every 0.1 unit increase in Tei Index ²⁷
RV fractional area change (= [end-diastolic area] – [end-systolic area / end-diastolic area])	Apical 4-CH	< 35%	< 9.7 cm/s associated with abnormal RV contractility ²⁸ RVFAC significantly greater in 4-year survivors vs nonsurvivors (31% ± 9 vs 24% ± 10) ³⁸
Speckle tracking longitudinal peak systolic strain (RV LPSS)	Apical 4-CH	Less negative than -19%	Survival rates (%) Year > -19% (higher strain) ≤ -19% (lower strain)
			1 93 77 3 90 66 5 90 55 1% decrease (more negative) in LPSS = 13% increased risk of death ²⁹

4-CH, 4-chamber view; HR, hazard ratio; LPSS, longitudinal peak systolic strain; MPI, myocardial performance index; RV, right ventricle; RVFAC, right ventricular fractional area change; TAPSE, tricuspid annular plane systolic excursion; TR, tricuspid regurgitation.

Du fait de la forme complexe du VD, l'avènement de l'échographie 3D offre une meilleure évaluation des volumes ventriculaires droits et permet de palier à la limitation de l'échographie 2D. Les mesures échographiques 3D des volumes ventriculaires et de la fraction d'éjection du VD sont très bien corrélées avec celles réalisées en IRM (gold standard)¹⁵⁴. De plus, l'analyse du remodelage et de la déformation pariétale du VD en échographie 3D semblent corrélée avec l'évolution clinique de patients atteints d'HP¹⁵⁵.

L'étude de la déformation myocardique (strain longitudinal, radial ou circonférentiel et strain rate) est un autre champ d'investigation prometteur pour l'étude du VD¹⁵⁶.

L'adéquation de la fonction du ventricule droit avec sa charge de travail est matérialisée par le couplage ventriculo-artériel (cf. chapitre 1). Plusieurs travaux récents mettent l'accent sur l'importance de valider de nouveaux indices non invasifs échographiques pour quantifier cette adéquation^{87, 157-159}. Le premier indice d'adaptation du VD à sa charge correspond au ratio TAPSE/PAPs. Selon Guazzi et al., lorsque ce ratio est inférieur à 0,36 mm/mm Hg, il est associé à une augmentation de mortalité cardiovasculaire¹⁶⁰. Le second indice est appelé indice de Dandel et prend en compte le différentiel de pression entre le VD et l'OD, le volume télédiastolique et la longueur du ventricule télédiastolique. Cet indice semble être corrélé avec la récupération de la fonction ventriculaire droite après l'implantation d'une assistance gauche^{161, 162}. Dans une étude récemment publiée, Amsallem et al. ont montré que la surface télésystolique du VD indexée à la surface corporelle était corrélée à la survenue, soit d'un décès, soit d'une transplantation chez des patients atteints d'HP. Ils n'ont pas trouvé de corrélation clinique avec les indices combinés ou de proportionnalité¹⁵⁷.

c. Imagerie par résonance magnétique

L'imagerie par résonance magnétique (IRM) est devenue le gold standard pour l'évaluation anatomique et fonctionnelle du VD. La mesure des volumes des cavités cardiaques est plus fiable que celle réalisée en échocardiographie car moins sujette aux biais de mesure liés à la géométrie complexe du ventricule droit¹⁶³. De plus, la résonance magnétique cardiaque (RMC) est la technique permettant l'évaluation la plus exhaustive de la fonction ventriculaire droite. Outre les renseignements sur la structure et la géométrie du VD, elle permet de quantifier sa postcharge, avec l'évaluation de la compliance vasculaire pulmonaire,

de l'élasticité ou distensibilité et de la capacitance de la vascularisation pulmonaire^{36, 164}. Elle permet également d'étudier la fonction systolique du VD, sa contractilité et son adaptation aux conditions de charge. Kuehne et al. ont montré la faisabilité de la quantification du couplage ventriculo-artériel chez le porc et chez l'homme⁷⁸. Les pressions pulmonaires étaient mesurées en continu grâce à un cathéter IRM-compatible placé dans l'artère pulmonaire sous guidance IRM-fluoroscopique. Les flux ventriculaire droits étaient mesurés simultanément en IRM. Par cette technique, les auteurs ont montré que les patients atteints d'HTAP avaient une contractilité (Ees) augmentée, mais un couplage ventriculo-artériel diminué.

Les paramètres mesurés en routine en IRM comme les volumes auriculaire et ventriculaire, la masse du VD, le Stroke Index, la capacitance de la vascularisation pulmonaire sont associés à la survie à 1 an chez des patients atteints d'HTAP idiopathique¹⁶⁵. Les variations de mesures liées au sexe et à l'ethnie des patients ont été bien documentées à partir d'un registre de plus de 5000 participants¹⁶⁶.

L'un des gros avantages de la RMC est la possibilité d'effectuer une analyse du tissu myocardique (fibrose, infiltration adipeuse, œdème myocardique). L'étude du rehaussement tardif myocardique après une injection de Gadolinium permet une quantification de la fibrose myocardique. Plusieurs études ont montré que la présence de rehaussement tardif était associée à une maladie plus avancée (hypertrophie et dilatation ventriculaire droite, réduction de la fraction d'éjection du VD) et à un mauvais pronostic chez des patients atteints d'HP¹⁶⁷.

L'évaluation quantitative de la constante de relaxation longitudinale myocardique en séquence T1 (*T1-mapping*) permet de donner des informations sur les cardiomyocytes et l'interstitium myocardique sans injection de Gadolinium. Des données récentes montrent une association entre le signal en T1-mapping du ventricule droit et la performance ventriculaire droite chez des patients atteints d'HP¹⁶⁸.

L'étude des flux sanguins intra artériel et intra cardiaque est un des axes prometteurs de recherche. L'évaluation des flux en IRM est basée sur les séquences en contraste de phase appelées (VEC CMR). Récemment, des techniques de 4D IRM qui mesurent les vitesses des flux sanguins en 3D en ont été développées. La présence de phénomènes de vortex dans l'artère pulmonaire semble être associée à l'HP. Si la valeur pronostique de l'IRM 4D reste à définir, elle ouvre la porte de la possibilité d'obtenir une évaluation des pressions pulmonaires et ventriculaires droites de manière non invasive^{169, 170}.

d. CT scanner cardiaque

Le CT scan avec synchronisation sur la fréquence cardiaque permet d'obtenir des images de haute résolution avec des reconstruction 3D. Il permet également une évaluation de la vascularisation myocardique. Son utilisation reste pour l'instant dans le domaine de la recherche. Il peut être utile lorsque l'IRM est contre-indiquée à cause d'un dispositif implanté comme un défibrillateur, une assistance circulatoire mécanique. La mesure des dimensions, volume, épaisseur du VD n'est pas encore validée par cette technique.

e. Imagerie moléculaire

Certains changements métaboliques survenant lors du développement de la défaillance ventriculaire droite peuvent être étudiés en imagerie. Le shift glycolytique (passage de l'utilisation des acides gras vers l'utilisation du glucose et de la glycolyse) est probablement le changement métabolique le plus étudié en imagerie tomographique par émission de positron (PET scan). Il a été montré que la mesure du métabolisme du glucose dans le VD était faisable en utilisant le PET - ^{18}F -2-Désoxy-2-Glucose (^{18}FDG)¹⁷¹⁻¹⁷³. Une hausse du ratio de captation du glucose entre le VD et le VG serait associée à la sévérité de l'HP et de la dysfonction ventriculaire droite¹⁷⁴. Il n'a pas été démontré que cette hausse du ratio soit liée à une baisse de la captation du VG ou à une hausse de captation dans le VD. Bien que le concept de switch glycolytique ait été prouvé dans des études animales sur la défaillance du VD et du VG, les résultats concernant l'augmentation de la captation du glucose dans le VD défaillant sont controversés. Si ce phénomène a été bien décrit à partir d'études sur des modèles animaux de défaillance droite, certaines études réalisées chez l'homme ne retrouvent pas ce phénomène¹⁷⁵⁻¹⁷⁷. D'autres études sont donc nécessaires afin d'obtenir des réponses claires. La consommation en oxygène du myocarde ventriculaire droit peut être quantifiée en utilisant un PET et des traceurs spécifiques : ^{11}C -acétate, H_2^{15}O , $^{15}\text{O}_2$ et C^{15}O . Il a été montré chez des patients atteints d'HP que la fraction d'extraction en O_2 du VD était augmentée au repos. Ceci suggère que la réserve de la fraction d'extraction en O_2 est limitée et que les possibilités d'augmenter la consommation en oxygène reposent uniquement sur l'augmentation de l'apport en oxygène par le flux coronaire¹⁷⁸.

Tableau 11. Synthèse de principaux indices de fonction et de contractilité associés à la défaillance ventriculaire droite.

Signes cliniques	Paramètres hémodynamiques	Paramètres échocardiographiques	Paramètres en IRM	Marqueurs Biologiques
<p>Hypoxémie</p> <p><u>Signes de congestion systémique</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Distension jugulaire, - Reflux hépato-jugulaire, - Hépatomégalie, splénomégalie - Œdème périphérique, - Ascite, anasarque, - Épanchement péricardique, - Grande onde V jugulaire <p><u>Signes cardiaques</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - B3, - Souffle systolique de régurgitation tricuspидienne, - Pouls paradoxal <p><u>Signe de bas débit cardiaque</u></p> <p>Hypotension, tachycardie, extrémités froides, oligurie, troubles cognitifs, asterixis, delirium</p> <p><u>Electrocardiogramme :</u></p> <p>Bloc de branche droit</p> <p>Aspect S1 Q3</p> <p>Tachycardie ventriculaire</p>	<p>Hypotension artérielle</p> <p>Pression oreillette droite ou TVC > 15 mm Hg</p> <p>Index cardiaque < 2.0 L/min/m²</p> <p>Elastance ventriculaire Ees < 1.3 mm Hg /ml.</p> <p>Couplage ventriculo-artériel < 1.5</p> <p>RVSWI normal entre 7,9 et 9,7 (formule= SV x PAPm x 0.0144)</p>	<p><u>Structure du VD :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Hypertrophie de la paroi latérale du VD > 5 mm - DTDVD basal > 41-43 mm - Épanchement péricardique > 5 mm en diastole <p><u>Indices de contractilité :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - RVFAC < 35% - TAPSE < 17 mm - Onde S' à l'anneau tricuspide < 11.5 à 9.5 cm/s - Strain longitudinal de la paroi latérale du VD < 20% - FEVD < 45% mesuré en 3 D - Index de Tei ou RVMPI: RVMPI > 0.54 en doppler tissulaire - Isovolumic myocardial acceleration IVA = (vélocité maximale / temps d'accélération) < 1.4 m/s² <p><u>Interdépendance ventriculaire</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - déviation gauche du septum en diastole (surcharge de volume) ou diastole et systole (pression) - Indice d'excentricité > 1 - Augmentation des variations inspiratoires de flux tricuspидien et mitral : vélocité de l'onde E > 15% et 10% <p><u>Diastologie :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Veine cave inférieure dilatée > 2 cm, fixe ou avec diminution de moins de 50% lors de l'inspiration - Régurgitation tricuspидienne - Pic de vélocité de régurgitation tricuspидienne > 2.8 m/s 	<p>Fraction d'éjection VD < 45%</p> <p>Volume VD > 101 mL/m²</p> <p>Surface VD / surface VG > 2/3</p> <p>Interdépendance VD / VG Avec conformation en D du SIV</p> <p>Rehaussement tardif du Gadolinium suggérant de la fibrose myocardique</p> <p>Infiltration graisseuse myocardique</p> <p>Masse VD > 35 g/m²</p>	<p>Augmentation des lactates sériques</p> <p>Elévation du BNP ou NT-proBNP</p> <p>Elévation des enzymes cardiaques</p> <p>Cytolyse hépatique, cholestase</p> <p>Insuffisance rénale</p>

3) Importance de la défaillance ventriculaire droite : impact pronostique dans l'hypertension pulmonaire, la défaillance cardiaque et l'assistance mécanique ventriculaire gauche

Les causes de défaillance ventriculaire droite sont très nombreuses. La dysfonction ventriculaire droite peut être secondaire à une atteinte du myocarde (ischémique, toxique, génétique, immunologique), à une atteinte valvulaire, à une surcharge chronique de pression (hypertension pulmonaire) ou encore à une surcharge chronique de volume (cardiopathies congénitales, shunt gauche-droit intra cardiaques). Certaines cardiomyopathies atteignent spécifiquement le ventricule droit comme la dysplasie arythmogène du ventricule droit, dans laquelle le myocarde est remplacé par du tissu fibro-graisseux et entraîne des tachycardies ventriculaires dont le point de départ est l'infundibulum du ventricule droit.

La revue exhaustive des causes de défaillance droite n'étant pas l'objet de cette thèse, nous traiterons donc les situations cliniques les plus fréquemment associées à une défaillance ventriculaire droite, à savoir la défaillance cardiaque gauche, l'hypertension artérielle pulmonaire et l'assistance monoventriculaire gauche.

a. Hypertension artérielle pulmonaire

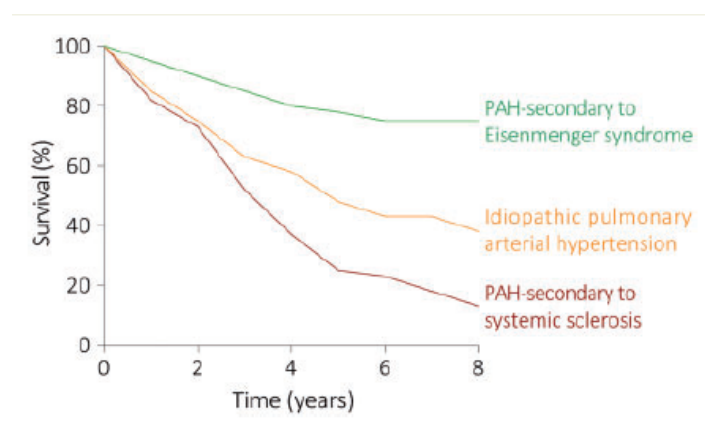
L'hypertension artérielle pulmonaire (HP) est définie par une augmentation de la pression artérielle pulmonaire moyenne supérieure à 25 mm Hg au repos. Cet état hémodynamique et physiopathologique est rencontré dans diverses situations cliniques. Les causes d'HP sont regroupées en 6 grandes classes physiopathologiques^{179, 180}. Si la défaillance cardiaque gauche représente la cause la plus fréquente, l'hypertension artérielle pulmonaire (HTAP) est une maladie de l'arbre vasculaire pulmonaire qui peut être primitive ou secondaire à une atteinte systémique. L'augmentation chronique de pression pulmonaire, l'augmentation des résistances, la perte d'élasticité, l'augmentation de l'impédance vasculaire pulmonaire entraînent une augmentation de la postcharge du ventricule droit qui doit se remodeler.

D'Alonzo et al, en 1991 ont été parmi les premiers à montrer le lien entre la mortalité des patients atteints d'HTAP et la fonction ventriculaire droite⁷. Cette étude de 194 patients atteints d'HTAP, réalisée avant l'ère des thérapeutiques ciblées de l'HP, estimait que la survie était de 68%, 48% et 34% à 1, 3 et 5 ans respectivement. Une pression dans l'oreillette droite

élevée et un débit cardiaque abaissé étaient associés à une diminution de la survie. Le développement des thérapies ciblées a permis une amélioration de la survie des patients atteints d'HP. En effet, une étude plus récente portant sur une cohorte de 354 patients atteints d'HTAP idiopathique, familiale ou secondaire à la prise d'anorexigènes (Registre français d'HTAP), Humbert M et al rapportait une survie de 85%, 69% et 54% à 1, 2 et 3 ans respectivement¹⁹. Un index cardiaque élevé était associé à une meilleure survie.

Si la survie des patients atteints d'HP dépend grandement de l'étiologie de l'HP et de la réponse aux traitements, la survenue de la défaillance ventriculaire droite est le dénominateur commun de la mortalité chez ces patients (**Figure 19**). Leur survie dépend donc de la « survie » de leur ventricule droit, ou du maintien de l'adaptation du VD à l'augmentation de sa postcharge. En effet, McLaughlin and coll. ont montré une survie à 3 ans de 77% chez les patients ayant une HP associée à une cardiopathie congénitale versus 35% chez les patients atteints d'hypertension artérielle postembolique (HPPE). L'hypothèse expliquant cette différence de survie serait une meilleure adaptation du VD à la surcharge de pression, particulièrement chez les patients atteints de syndrome d'Eisenmenger¹⁵.

Figure 19 : La survie des patients atteints d'HP dépend de l'étiologie. Les patients avec syndrome d'Eisenmenger semble avoir une meilleure survie que les patients atteints d'une HTAP idiopathique ou secondaire. Cette différence semble plus être liée à l'adaptation du ventricule droit qu'au niveau de pressions pulmonaires¹⁸¹.



Dans une étude récente comprenant l'analyse de 205 réhospitalisations chez 90 patients atteints d'HTAP idiopathique ou secondaire, Campo et al. ont montré que la cause principale

de ré-hospitalisation était la défaillance droite (56% des cas). La mortalité hospitalière globale était de 14%, atteignant 46% chez les patients sous inotropes et la mortalité globale était de 35% à 1 an¹⁴. Les auteurs rapportaient également que la défaillance ventriculaire droite était la cause principale de mortalité chez ces patients (81%). Les autres facteurs de risque de mortalité étaient une pression artérielle systolique < 100 mm Hg, une hyponatrémie < 136 mEq.L⁻¹ à l'admission, une insuffisance rénale et la présence de maladie des tissus conjonctifs. Des résultats similaires ont été rapportés par Haddad et al dans une étude sur 119 patients¹³⁵. La recherche de nouveaux biomarqueurs dans l'hypertension artérielle pulmonaire représente un axe de recherche majeur ces dernières années. Récemment, plusieurs indices échographiques géométriques et fonctionnels ont été développés afin de mieux prédire la survie des patients atteints d'HTAP. L'index de remodelage télésystolique, défini par le ratio entre la longueur télésystolique de la paroi libre du VD et la longueur septale (**Figure 20**), est associé à la nécessité d'une hospitalisation pour défaillance droite ou la survenue d'une transplantation⁸⁷. Le **tableau 12** résume les principales études pronostiques en HTAP.

Figure 20 : Mesure des dimensions ventriculaires droites en diastole et systole. L'index de remodelage télésystolique (RVESRI) est un indice simple associé à la survenue d'une hospitalisation pour défaillance droite ou d'une transplantation (Tiré de⁸⁷).

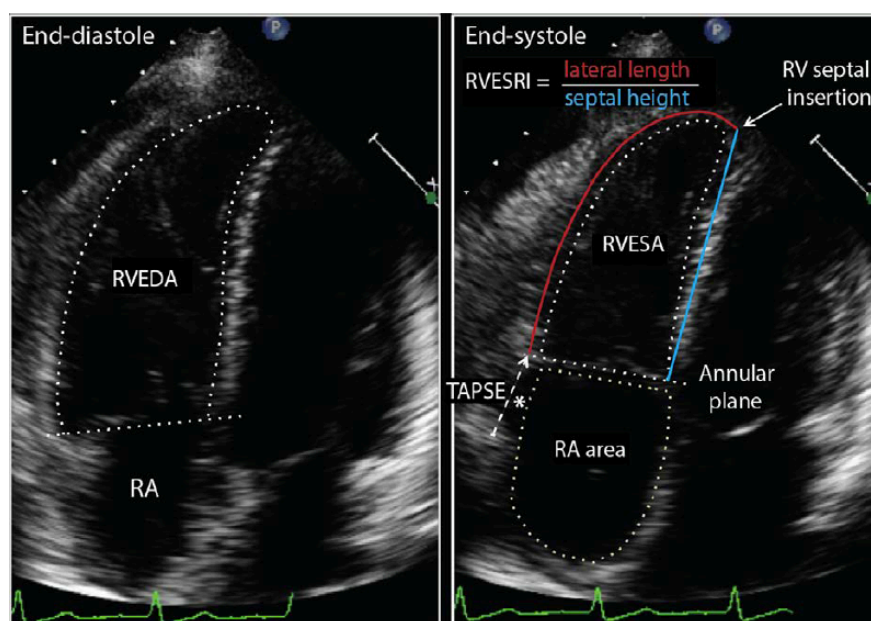


Tableau 12 : Principales études pronostiques dans l'HP (Inspiré de⁸⁶).

Etude	Population	N	Outcomes	Postcharge	Ventricule droit
D'Alonzo et al. ⁷ 1991 <i>Registre du NIH</i>	HTAP	194	Décès ou transplantation pendant le suivi (2.8 ans)	PAPm POD	Index cardiaque
Thenappan et al. ¹⁸² 2010 <i>Registre pulmonary hypertension connection</i>	HTAP	578	Décès pendant le suivi (3.9 ans)	PAPm POD	Index cardiaque
Humbert et al. ¹⁹ 2010 <i>Registre national français d'HTAP</i>	Idiopathique, familiale, secondaire toxique	354	Mortalité à 3 ans		Index cardiaque
Benza et al. ³⁶ 2010 <i>REVEAL registry</i>	Idiopathique, familiale, Cardiopathie congénitale, connectivite	2716	Mortalité à 1 an	RVP > 32 UW	Epanchement péricardique POD > 20 mm Hg
Lee et al. ¹⁸³ 2012 <i>UK registry</i>	Idiopathique, familiale, Cardiopathie congénitale, connectivite	182	Mortalité à 1 et 2 ans		POD
Haddad et al. ¹⁸⁴ 2015	Idiopathique, familiale, secondaire toxique	95 + 87	Mortalité ou transplantation à 5 ans		Dysfonction VD Dilatation OD PAS < 110 mm Hg
Mahapatra et al. ¹⁸⁵ 2006	Idiopathique	104	Mortalité à 4 ans	Capacitance	
Haddad et al. ¹³⁵ 2011	HP admise pour défaillance droite	119	Mortalité ou transplantation à 3 mois		Sévérité de l'insuffisance tricuspide
Fine et al. ¹⁸⁶ 2013	Groupe 1,3 et 4 vs. Pas d'HTAP	406 + 169	Mortalité à 18 mois		Strain longitudinal du VD, Épanchement péricardique
Amsallem et al. ¹⁵⁷ 2017	Groupe 1	228	Transplantation ou hospitalisation pour défaillance droite pendant le suivi (3.9 ans)		RVESRI

b. Défaillance ventriculaire gauche

Il est bien établi que la fonction ventriculaire droite est un prédicteur indépendant du statut fonctionnel et de la survie des patients atteints de défaillance cardiaque gauche chronique (**Tableau 13**). La corrélation étroite entre la fonction du VD et la mortalité par défaillance cardiaque a été démontrée pour les cardiopathies ischémiques et non ischémiques. Les mécanismes conduisant à la dysfonction ventriculaire droite en présence d'une cardiopathie gauche sont complexes. Ils associent (1) des modifications de postcharge avec

une augmentation des pressions de remplissage gauche, un remodelage des capillaires et artérioles pulmonaires, (2) des modifications de l'interdépendance ventriculaire avec une perte de la participation du SIV dans la contraction du VD, (3) une diminution de la perfusion coronarienne du VD par baisse du débit coronaire.

L'hypertension artérielle pulmonaire est une caractéristique commune de l'insuffisance cardiaque gauche avec FEVG préservée ou abaissée (groupe 2 de la classification Dana Point)¹⁸⁷⁻¹⁸⁹. Elle est également associée à une augmentation de la mortalité chez les patients insuffisants cardiaques, probablement à cause de son retentissement sur la fonction ventriculaire droite. Les patients insuffisants cardiaques ayant à la fois une dysfonction ventriculaire droite et une HP ont une survie très diminuée comparé à ceux présentant l'une ou l'autre. Au-delà de l'aspect pronostique, l'évaluation de la fonction ventriculaire droite chez les patients défailants cardiaques a un impact direct sur le choix du type d'assistance mécanique circulatoire : uni ou biventriculaire.

Tableau 13 : Principales études pronostiques dans la défaillance cardiaque gauche (Inspiré de⁸⁶).

Etude	Population	N	Outcomes	Postcharge	Ventricule droit
Ghio et al. ¹⁴⁸ 2000	Insuffisance cardiaque chronique FEVG<35%	140	Mortalité ou transplantation cardiaque urgente	-	TAPSE ≤ 14 mm
Meyer et al. ¹⁹⁰ 2010	Insuffisance cardiaque chronique FEVG<35%	2008	Mortalité à 2 ans	-	RVEF < 20%
Dupont et al. ¹⁹¹ 2012	Insuffisance cardiaque aigüe et chronique FEVG= 20%	724	Mortalité ou transplantation cardiaque pendant le suivi (3,2 ans)	Capacitance	Index cardiaque Fonction VD évaluée visuellement
Gutali et al. ¹⁶² 2013	Cardiomyopathie dilatée non ischémique	250		-	RVEF≤ 45% en IRM
Cameli et al. ¹⁵⁶ 2013	Insuffisance cardiaque chronique en pré transplantation	98	Endpoint composite (mortalité, transplantation, LVAD) pendant le suivi (1,5 ans)		Strain longitudinal et global de la paroi libre RVFAC
Aronson et al. ¹⁹² 2013	Insuffisance cardiaque aigüe FEVG préservée et abaissée	326	Mortalité à 1 an		RVFAC < 35%
Iacoviello et al. 2016	Insuffisance cardiaque chronique FEVG<45%	332	Mortalité pendant le suivi (3 ans)		Strain longitudinal et global de la paroi libre
Al-Naamani et al. ¹⁹³ 2015	FEVG > 50% avec HTAP	73	Mortalité pendant le suivi (3,6 ans)	Capacitance	

c. Défaillance droite post implantation d'une assistance circulatoire ventriculaire gauche.

L'évaluation de la fonction du VD et la prise en charge de sa défaillance dans les suites de l'implantation d'une assistance continue mono gauche (LVAD) sont des enjeux majeurs. L'incidence de la défaillance droite post LAVD varie entre 4% et 25% selon les études, les types d'assistance gauche (pulsatile versus flux continu), et la manière dont la défaillance droite est définie¹⁹⁴. La survie et la qualité de vie des patients sous assistance ventriculaire gauche sont étroitement liées à la fonction du ventricule droit après implantation de l'assistance. En effet, une dysfonction ventriculaire droite entraîne une diminution du débit sanguin transpulmonaire, une diminution du remplissage des cavités gauches et donc une baisse du débit systémique généré par la pompe.

La survenue d'une défaillance ventriculaire droite chez les patients assistés par une pompe monoventriculaire gauche augmente la mortalité jusqu'à 43%¹⁹⁵ et est associée à une plus grande morbidité et des durées d'hospitalisation plus longues^{128, 173}. La défaillance ventriculaire droite survient dans 5% à 15 % après l'implantation d'une assistance à flux continu type HeartMate II (HM II) ou HeartWare. Elle augmente le risque de défaillance rénale, hépatique, multiviscérale et a également un retentissement après la transplantation cardiaque des patients¹¹⁹. La physiopathologie complexe de la défaillance ventriculaire droite rend sa prédiction difficile. La majorité des scores prédictifs de défaillance VD post LVAD ont été établis à partir de séries de patients implantés avec une assistance gauche pulsatile^{196, 197}. Cependant, il a été montré que l'implantation d'un LVAD à flux continu a des effets bénéfiques sur l'hémodynamique cardiaque droite, en diminuant à la fois les résistances pulmonaires, la régurgitation tricuspide, la pression dans l'oreillette droite, et enfin le Stroke Work index du ventricule droit. Ces effets bénéfiques sont observés environ 1 mois après l'implantation de l'assistance gauche¹⁹⁸ et pourraient contribuer à une récupération de la fonction ventriculaire droite. La prédiction de la survenue d'une défaillance ventriculaire droite dans les suites de l'implantation d'un LAVD est essentielle dans le management de ces patients. Dans une revue systématique de la littérature, Bellavia et al. ont identifié les principaux facteurs prédictifs de survenue de défaillance droite : sexe féminin, besoin de ventilation mécanique, dialyse ou épuration extra rénale, INR élevé, NT-proBNP élevé, RVSWI bas, pression veineuse centrale élevée, dysfonction ventriculaire droite en échographie pré LVAD, ratio surface VD / VG élevé et le strain longitudinal de la paroi libre du VD¹⁹⁴.

Malgré l'amélioration de la prise en charge et le développement de nouveaux supports hémodynamiques pour le ventricule droit^{199, 200}, le management de la défaillance droite post implantation d'une AMVG reste délicat et ne repose sur aucune recommandation claire. Une assistance temporaire du VD peut être utilisée pour les patients implantés d'un HMII et dont la dysfonction ventriculaire droite est prédite comme transitoire. Chez ces patients, plusieurs types d'assistance du VD ont été décrits. L'assistance du VD peut être réalisée après canulation centrale entre l'oreillette droite et l'artère pulmonaire en utilisant une pompe centrifuge externe (ECMO centrale dite « droite-droite ») ou une assistance plus lourde type ventricule pneumatique para corporel (Thoratec, Corporation, Pleasanton, Calif). Elle peut également être réalisée de manière moins invasive, avec l'utilisation d'une pompe axiale centrale entre l'oreillette droite et l'artère pulmonaire (type Impella®), ou l'utilisation d'une ECLS périphérique veino-artérielle fémoro-fémorale (ECLS V-A) ou veino-artérielle entre la veine fémorale et l'artère pulmonaire via un tube en dacron tunnélisé sous la peau, dite « périphérique droite-droite » (ECMO D-D)^{201, 202}. Cette dernière possibilité possède l'avantage de pouvoir être retirée au lit du malade sans reprise chirurgicale.

4) Evidences du potentiel de réversibilité de la défaillance ventriculaire droite

Le traitement de la dysfonction ventriculaire droite consiste principalement à traiter la cause de la dysfonction. Ritchie et al. ont été parmi les premiers à décrire une amélioration de la fonction ventriculaire droite après transplantation pulmonaire²⁰³. Ils ont étudié le remodelage et la fonction ventriculaire droite en échographie avant et après transplantation pulmonaire chez 13 patients atteints d'HP. Ils retrouvaient une diminution précoce (dans les 3 mois) et durable (jusqu'à 2 ans) de la dilatation du VD, de l'hypertrophie et de la régurgitation tricuspидienne ainsi qu'une augmentation du RVFAC et de la fraction d'éjection du VD.

Le traitement de la forme proximale de l'hypertension artérielle postembolique chronique repose sur la thromboendartériectomie des artères pulmonaires (TEAP). La réduction de la postcharge ventriculaire droite secondaire à la désobstruction des artères pulmonaires est associée à un remodelage inverse du ventricule droit. Dans une étude incluant 17 patients, Reesink et al ont montré une restauration du remodelage ventriculaire droit après TEAP. La masse et le volume ventriculaires droits mesurés en IRM diminuaient après TEAP sans revenir

parfaitement à la normale. En revanche, ils notaient une disparition de l'aspect en *D shape* du SIV²⁰⁴.

Les patients insuffisants cardiaques amenés à la transplantation cardiaque ont tous un certain degré d'hypertension artérielle pulmonaire secondaire à leur cardiopathie gauche. Il a été bien montré que les résistances vasculaires pulmonaires diminuent rapidement dans les 2 premières semaines post transplantation. Cette diminution est durable. Le ventricule droit du receveur doit s'adapter dans les premières heures à une surcharge de pression. Bhatia et al retrouvaient une dilatation du VD et une fuite tricuspидienne 1 jour après la transplantation²⁰⁵. Un an après, la fuite tricuspидienne diminuait mais le ventricule droit restait dilaté. D'autres cas de remodelage du ventricule droit post transplantation cardiaque ont été rapportés depuis²⁰⁶. Les hypothèses physiopathologiques expliquant le potentiel de récupération de la fonction ventriculaire sont : (1) la dysfonction contractile du VD correspondrait à une forme d'hibernation des cardiomyocytes, réversible après la réduction de la charge de travail du VD et après le rétablissement de la balance apport/consommation en oxygène ; (2) la baisse de l'élastance artérielle permettrait de rétablir le couplage ventriculo-artériel et l'efficacité myocardique du VD.

Chapitre 3 : les mécanismes de défaillance ventriculaire droite

Dans l'hypertension pulmonaire, le VD se remodèle en s'hypertrophiant pour s'adapter à l'augmentation de sa postcharge. L'hypertrophie ventriculaire droite a plusieurs facettes. Pour un degré d'hypertrophie identique, le VD de certains patients atteints d'HP va rester adapté (hypertrophie adaptative) pendant de nombreuses années, tandis que pour d'autres, il va rapidement évoluer vers la défaillance (hypertrophie maladaptative). Ces deux formes d'hypertrophie ont un pronostic très différent, la forme maladaptative étant associée à une intolérance à l'effort, une réduction du débit cardiaque et à une mortalité élevée²⁰⁷. La distinction précoce de ces 2 formes est un enjeu majeur dans la prise en charge de ces patients. Cependant, les mécanismes impliqués dans la transition de la phase adaptée à la phase non adaptée de la fonction ventriculaire droite sont complexes et restent mal connus. Après avoir abordé les aspects physiologiques et après avoir évoqué les principaux aspects mécanistiques, nous détaillerons le rôle de l'ischémie myocardique et le rôle des modifications du métabolisme mitochondrial dans la survenue de la défaillance ventriculaire droite.

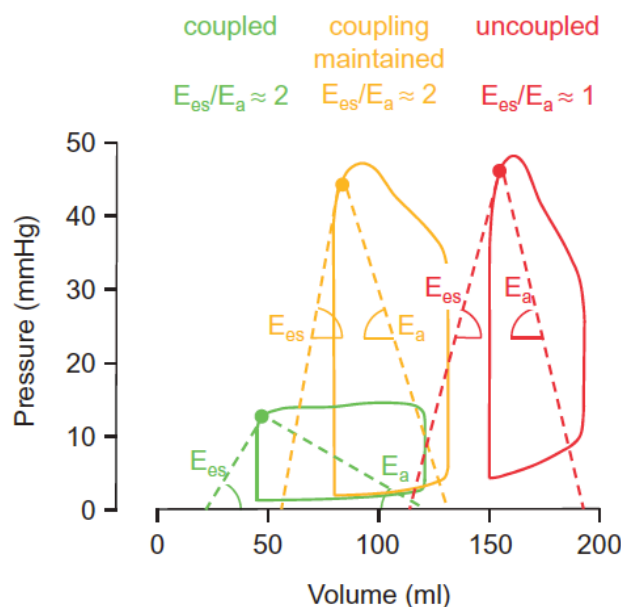
1. Du remodelage à la défaillance ventriculaire droite

a. Remodelages adaptatif et maladaptatif : aspects physiologiques

L'augmentation des résistances vasculaires pulmonaires (RVP) est étroitement corrélée à l'importance de l'obstruction et l'importance du remodelage artériel et veineux de la circulation pulmonaire⁶⁰. Dans l'HTAP, les RVP peuvent s'élever jusqu'à 500% de leur valeur de base, augmentant ainsi dramatiquement le stress pariétal du VD. A la phase adaptative initiale, en réponse à une augmentation progressive et prolongée de sa postcharge, le VD est capable de s'adapter et d'augmenter sa contractilité (élastance ventriculaire) jusqu'à 4 à 5 fois sa valeur de base. Ainsi, il est capable de coupler sa contractilité à une augmentation de sa charge de travail (élastance artérielle) et donc de maintenir une fonction et une efficacité mécanique adaptée¹⁵⁹ (**Figure 21**). Cette augmentation de contractilité est la conséquence de l'hypertrophie et de l'augmentation de l'inotropisme du VD. Dans un premier temps, l'hypertrophie a un effet bénéfique de par la réduction du stress pariétal qu'elle entraîne (Loi de Laplace)¹⁵⁹. Mais au cours du temps, l'hypertrophie ne suffit plus, le volume d'éjection ventriculaire droit diminue et le VD doit se dilater pour maintenir un débit adapté (**Figure 22**).

La fréquence ventriculaire augmente, avec pour conséquence une augmentation de l'élastance artérielle pulmonaire et un découplage ventriculo-artériel. Nous avons vu précédemment que le couplage ventriculo-artériel reflète l'efficacité mécanique ventriculaire droite, qui est définie comme le ratio entre la puissance externe mécanique et la consommation en oxygène du VD. L'efficacité mécanique ventriculaire droite peut être calculée à partir de la mesure isotopique (acétate ou oxygène marqué) de la consommation en oxygène et des valeurs de pressions pulmonaires et de débit cardiaque mesurés en cathétérisme cardiaque^{177, 208}. Mais du fait de la complexité de sa mesure, l'efficacité mécanique n'est pas utilisée en pratique clinique mais peut être remplacée par des indices de couplage ventriculo-artériel.

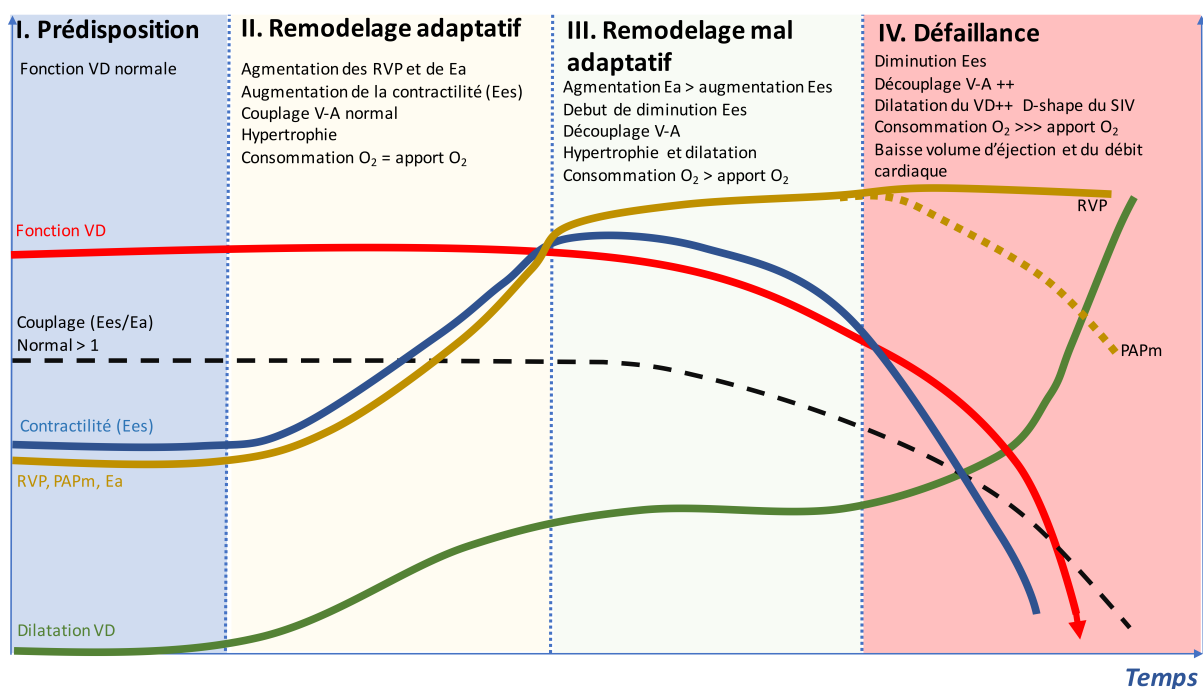
Figure 21 : Illustration de la fonction ventriculaire droite et de sa charge par les boucles pression-volume (Tiré de²⁰⁹). Lorsque la postcharge du VD (E_a) augmente progressivement, il s'adapte en s'hypertrophiant et en augmentant sa contractilité (E_{es}). Le couplage ventriculo-artériel est préservé (jaune), c'est la phase adaptative. Lorsque l'hypertension artérielle persiste, le VD ne peut plus s'hypertrophier de manière infinie et il commence à se dilater entraînant l'augmentation de tension pariétale ventriculaire. Les besoins et la consommation en oxygène deviennent supérieurs aux apports ce qui induit une baisse de contractilité et le début de la défaillance. La fonction ventriculaire devient découplée de sa charge (rouge), c'est la phase maladaptative.



Les conséquences de l'adaptation volumétrique du VD (augmentation du volume télédiastolique, télésystolique, baisse du volume d'éjection) sont délétères à la fois pour le VD et le VG. Lorsque le VD se dilate, la tension pariétale augmente à nouveau avec pour

conséquence une augmentation de la consommation en oxygène du VD et une perte de l'efficacité mécanique. De plus, l'augmentation du volume et de la pression télédiastoliques va modifier l'interaction interventriculaire en déviant le SIV vers la gauche. Le remplissage du VG est alors compromis, le volume d'éjection systémique diminue ainsi que le débit cardiaque. Enfin, l'hypertrophie ventriculaire droite entraîne une dysfonction diastolique et une augmentation des pressions de remplissage. En résumé, la défaillance droite correspond à une baisse de la performance cardiaque, elle-même causée par la modification de ses principaux déterminants : (1) une augmentation de la postcharge, (2) une baisse de la contractilité, (3) une modification des interactions interventriculaires, (4) une surcharge volémique ou dilatation et enfin (5) une perte du couplage ventriculo-artériel.

Figure 22 : Aspects physiologiques de la transition entre la phase adaptative et maladaptative du remodelage ventriculaire droit dans l'hypertension artérielle pulmonaire^{35, 54, 159}.

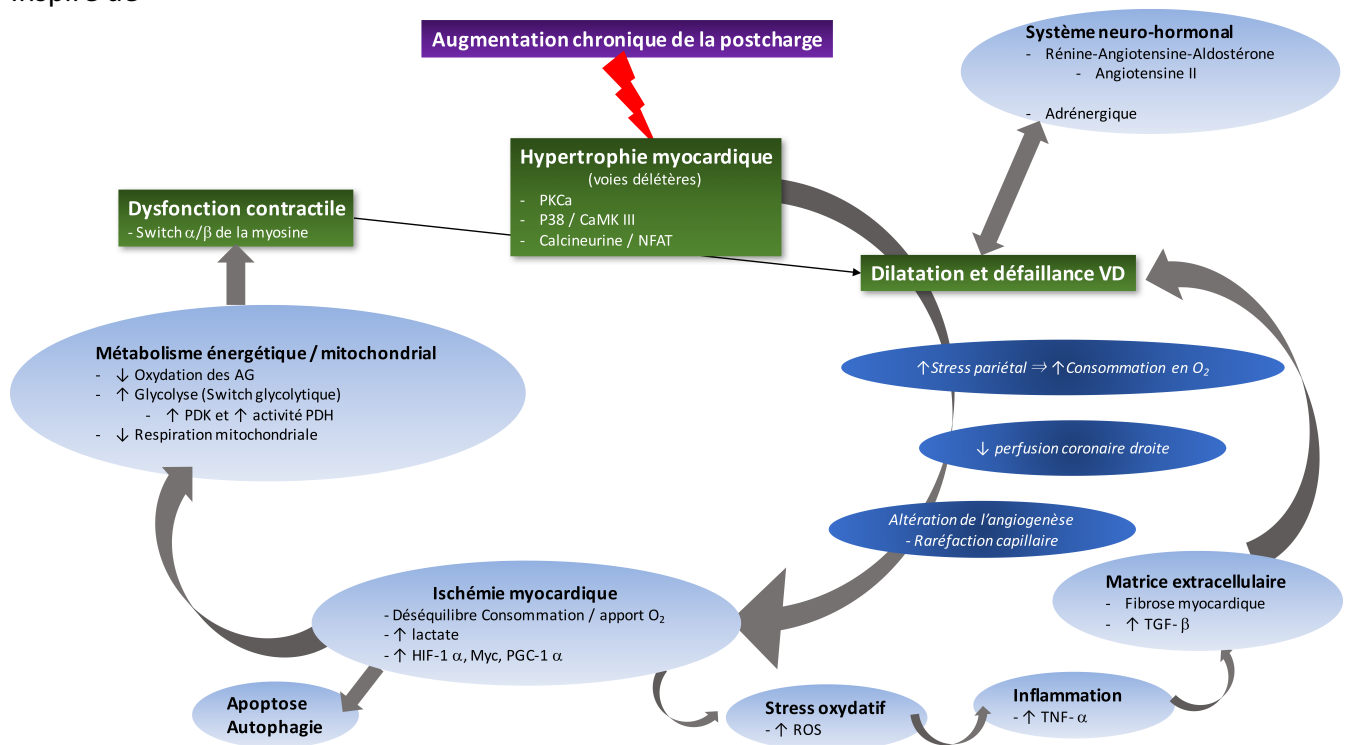


b. Remodelages adaptatif et maladaptatif : aspects mécanistiques

La transition de la phase compensée (adaptative) de l'hypertrophie myocardique à la phase de dysfonction (maladaptative) implique de nombreux mécanismes dont certains sont communs avec le ventricule gauche. Les modifications de la matrice extracellulaire (fibrose), la nécrose et l'apoptose des cardiomyocytes, les changements d'expression génique des cardiomyocytes, l'altération du métabolisme mitochondrial, les perturbations du métabolisme

énergétique (shift métabolique), l'implication des facteurs neuro-hormonaux (système nerveux sympathique et système rénine-angiotensine et aldostérone) et l'ischémie myocardique sont autant de mécanismes potentiellement impliqués dans la transition entre l'état compensé et décompensé de l'hypertrophie ventriculaire droite^{9, 10, 21, 73, 210-213} (**Figure 23**) Pour revue, voir Poels et al.^{153, 214, 215}.

Figure 23 : Mécanismes hypothétiques impliqués dans la défaillance ventriculaire droite. Inspiré de^{10, 21, 73, 208-211}



Système neuro-hormonal

La baisse de perfusion rénale liée à la dysfonction ventriculaire droite entraîne une sécrétion de rénine. Par analogie avec la dysfonction ventriculaire gauche, ce mécanisme initialement compensateur a un effet délétère sur le remodelage ventriculaire droit. Le degré d'activation du système rénine-angiotensine-aldostérone semble être associé à une maladie évolutive et à un mauvais pronostic chez des patients atteints d'HP secondaire à une cardiopathie congénitale²¹⁶⁻²¹⁸. Un taux élevé d'angiotensine II est associé à une augmentation de l'hypertrophie et une dysfonction contractile sur des modèles animaux d'HP²¹⁹.

L'administration d'inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine permet une amélioration de la contractilité dans un modèle d'hypertrophie ventriculaire droite secondaire à un banding de l'artère pulmonaire chez le lapin²¹⁹. L'inhibition du récepteur de type 1 de l'angiotensine II a également un effet bénéfique sur un modèle d'HP induite par la monocrotaline avec une restauration du couplage ventriculo-artériel, une diminution de la dilatation et de la dysfonction diastolique ventriculaire droite²²⁰. Si les effets de l'angiotensine II sur la vascularisation pulmonaire ont été bien démontrés, il n'est pas démontré clairement que celle-ci ait une action directe sur le myocarde.

L'augmentation de l'activité du système adrénergique est associée à une réduction de la réponse chronotrope à l'exercice, et à une augmentation de la mortalité chez les patients atteints d'HP²²¹. Aussi bien chez les patients que sur des modèles animaux, l'expression myocardique des récepteurs adrénergiques β_1 et β_2 est diminuée dans l'HTAP⁹. Ceci a pour conséquence une réduction de phosphorylation des protéines clés de la régulation de calcium intracellulaire (PKA médiées), une augmentation de la fibrose myocardique et une dysfonction diastolique. L'administration de bêtabloqueurs entraîne un bénéfice de survie et une amélioration de la fonction systolique sur des modèles murins de défaillance droite induite par la monocrotaline²²².

Retour vers le phénotype fœtal – modification de l'expression génique des cardiomyocytes

L'expression de gènes fœtaux est un des marqueurs classiques de la défaillance cardiaque droite et gauche. Le phénotype fœtal se manifeste par la réactivation et l'augmentation de l'expression de gènes normalement prédominants pendant le développement fœtal du cœur. La résurgence de l'expression myocardique de Nkx2-5, un facteur de transcription présent uniquement dans le cœur fœtal, a été observée en réponse à un banding de l'artère pulmonaire chez le chat²²³. S'il est la preuve de la réactivation du phénotype fœtal dans la défaillance cardiaque, le rôle de ce facteur de transcription reste à définir. Rappelons que le cœur fœtal fonctionne dans un environnement pauvre en oxygène et pauvre en acides gras. L'ensemble du métabolisme des cardiomyocytes fœtaux doit donc privilégier des mécanismes peu consommateurs en oxygène et en énergie. Ces mécanismes sont cependant moins efficaces que ceux utilisés à l'âge adulte. Les deux principaux mécanismes concernés sont le switch α/β des chaînes lourdes de la myosine et le shift

glycolytique. Ce dernier sera détaillé plus loin. La régulation négative de l'expression de la chaîne α de la myoglobine observée au cours de la défaillance cardiaque, entraîne l'inversion de la proportion des sous-types α et β des chaînes lourdes de la myosine²²⁴. Les chaînes β ont une activité ATPasique plus basse que les chaînes α et donc une cinétique contractile plus lente. Si la prédominance des sous-unités β permet au myocarde défaillant d'obtenir une contraction à bas coût énergétique, elle a pour conséquence une diminution de la contractilité myocardique. Ce phénomène compensatoire maladaptatif a été retrouvé dans plusieurs modèles animaux de défaillance droite⁸¹. Les mécanismes initiateurs de ce switch des chaînes lourdes de la myosine restent encore mal connus.

Changement de la matrice extracellulaire

Lorsque la surcharge de pression persiste, des changements de la matrice extracellulaire myocardique sont associés à la survenue d'une dysfonction ventriculaire. La fibrose myocardique en est l'exemple le plus connu. L'augmentation du taux de fibrose myocardique est associée à la dysfonction ventriculaire droite chez l'homme et en expérimentation animale^{85, 181, 211, 220}. L'augmentation de la synthèse de collagène induite par des facteurs de transcription (TGF- β), semble survenir précocement en réponse à la surcharge de pression²²⁵. L'inflammation semble également avoir un rôle important dans la physiopathologie de la défaillance ventriculaire droite^{73, 181}.

Si la surcharge chronique de pression a un rôle central dans le déclenchement des mécanismes conduisant à la dysfonction ventriculaire droite, elle seule ne suffit probablement pas à induire cette dysfonction. Ceci a été suggéré par Bogaard et al. En comparant un modèle de banding de l'artère pulmonaire (hypertrophie adaptée) à un modèle d'HTAP induit par la monocrotaline (hypertrophie maladaptative). Dans le premier, le VD était remodelé et gardait une fonction adaptée malgré l'élévation de la postcharge, tandis que dans le modèle monocrotaline, la fonction VD était altérée^{211, 220}. Les auteurs émettaient l'hypothèse que l'ischémie myocardique et l'augmentation du stress oxydatif contribueraient probablement à la dysfonction ventriculaire droite. Ils suggéraient également qu'un médiateur provenant du poumon pathologique serait impliqué dans la baisse du pouvoir antioxydant des cardiomyocytes. Des données récentes suggèrent que des facteurs circulants (cytokines,

miARN, cellules inflammatoires, progéniteurs endothéliaux) sécrétés par la vascularisation pulmonaire, pourraient avoir un effet délétère sur le myocarde²²⁶.

2. L'hypothèse de l'ischémie myocardique

Le métabolisme énergétique aérobie du cœur est très lié à sa consommation en oxygène⁸⁹. Il semble que le VD ait des propriétés qui le rendent plus résistant à l'ischémie que le VG. Premièrement, la vascularisation ventriculaire droite est systolo-diastolique. Elle est entièrement assurée par la coronaire droite chez environ 80% des patients. Contrairement au ventricule gauche, en raison de la basse tension pariétale, le flux sanguin coronarien droit est présent aussi bien en diastole qu'en systole (**Figure 24**). Deuxièmement, la réserve coronarienne est plus grande. Au repos, la consommation en oxygène, l'extraction de l'oxygène et le flux coronaire droit sont plus bas dans le VD que dans le VG^{35, 54, 208, 227}. Lors de l'exercice ou d'un stress, le tonus vasomoteur coronarien droit permet une augmentation du flux coronaire droit. Enfin, l'extraction ventriculaire droite en oxygène peut augmenter en cas de stress³⁵. Cependant, dans des conditions pathologiques (surcharge de pression, hypertrophie ventriculaire droite) les propriétés décrites ci-dessus sont mises en défaut, conduisant à un déséquilibre entre la consommation et les apports en oxygène. La consommation d'oxygène est directement proportionnelle à la masse myocardique, à la tension ou stress pariétal et à la fréquence cardiaque. Chez les patients avec une hypertrophie et une dilatation ventriculaire droite, les besoins et la consommation en oxygène sont très augmentés. Or, l'apport en oxygène dans le VD de ces patients peut être compromis par plusieurs facteurs, entraînant de l'ischémie myocardique. Nous détaillerons dans les paragraphes suivants que l'ischémie ventriculaire droite associée à une élévation de postcharge du VD serait liée d'une à part l'altération de la perfusion coronarienne, et d'autre part à une altération de la micro vascularisation.

a. Mise en évidence du déséquilibre entre apport et consommation en O₂ dans le VD défaillant de patients atteints d'HTAP.

Il a été bien rapporté que, malgré des coronaires saines, les patients atteints d'hypertension pulmonaire peuvent présenter des douleurs thoraciques angineuses en rapport avec de l'ischémie myocardique. Gomez et al ont montré pour la première fois

l'association entre ischémie myocardique et dysfonction du ventricule droit chez des patients atteints d'HTAP²²⁸. Dans cette étude prospective de 23 patients, 9 ont développé un déficit de perfusion myocardique ventriculaire droite mesurée par scintigraphie par émission de photo (SPECT) au ^{99m}Tc-Sestamibi. Les patients avec de l'ischémie avaient des pressions télédiastoliques ventriculaires droites plus élevées, une pression auriculaire droite augmentée et une capacité fonctionnelle NYHA diminuée. La diminution du débit cardiaque chez les patients les plus sévères augmente l'ischémie myocardique. Lorsque la pression de perfusion coronarienne droite devient inférieure à 50 mm Hg, la fonction myocardique est altérée.

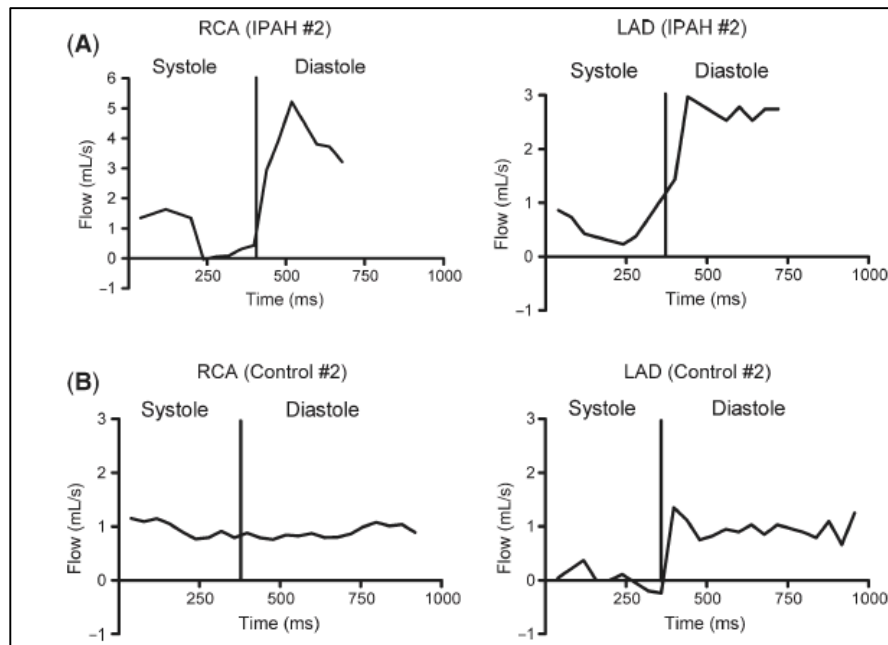
Wong et al. ont montré que la dysfonction ventriculaire droite chez 16 patients atteints d'HTAP idiopathique était associée à une diminution du rendement de la consommation myocardique en oxygène²⁰⁸. Après avoir mesuré la fraction d'extraction en oxygène (FEO) du ventricule droit (PET-scan marqueur ¹⁵O₂ et C¹⁵O), les auteurs ont évalué la perfusion ventriculaire droite, matérialisée par le flux sanguin myocardique (traceur marqué au H₂¹⁵O). Ces deux paramètres permettaient de calculer la consommation en oxygène (MVO₂) du ventricule droit. La puissance générée par le ventricule droit était calculée selon la formule suivante : FC x PAPm x VES x 2,22.10⁻⁶ = puissance VD (en J/s). Le VES était mesuré en IRM et la PAPm en cathétérisme droit. Le rendement mécanique du ventricule droit était alors calculé comme le ratio entre la puissance mécanique ventriculaire et la consommation en oxygène. Les auteurs ont ainsi observé que les patients avec une classe fonctionnelle détériorée (NYHA III) avaient un rendement mécanique plus bas que les patients avec une meilleure classe fonctionnelle (NYHA II). Le rendement mécanique de la fonction ventriculaire droite était étroitement corrélé à la fraction d'éjection ventriculaire droite.

b. Altération de la perfusion ventriculaire droite

Dans les conditions physiologiques le flux sanguin dans la coronaire droite est quasiment continu, en systole et diastole. Au repos, le pouvoir d'extraction du VD est seulement de 50% et le débit coronaire droit est plus faible que dans le réseau coronaire gauche. La perfusion du VD est sensible à l'augmentation de pression pulmonaire. En effet, l'augmentation de la tension pariétale et l'hypertrophie ventriculaire entraînent une augmentation des résistances coronaires droites et une diminution du flux coronaire en systole (**Figure 24**). La perfusion myocardique du ventricule droit est donc diminuée. Or dans ces

mêmes conditions, les besoins et la consommation en oxygène du VD et le travail du VD ou Strokework (SW) sont augmentés. Il existe donc un déséquilibre entre la consommation et l'apport en oxygène, responsable d'une hypoxie myocardique.

Figure 24 : Flux sanguin dans la coronaire droite (gauche) et l'IVA (droite) mesurés en IRM chez un patient avec HTAP (A) et chez un sujet sain (B) (Tiré de²²⁹).



Ces concepts sont supportés par plusieurs études réalisées chez l'animal. Les capacités de compensation de la fonction ventriculaire droite semblent limitées par la pression de perfusion et le flux sanguin dans la coronaire droite^{230, 231}. Dans un modèle de cœur isolé chez le chien, Klima et al. ont montré que le flux sanguin coronarien droit augmentait avec l'augmentation de pression systémique mais diminuait significativement lorsque la défaillance ventriculaire droite survenait²³². Une pression de perfusion coronarienne droite inférieure à 50 mm Hg induit une dysfonction ventriculaire droite.

Une des études princeps sur la perfusion du ventricule droit soumise à une augmentation aiguë de postcharge a été réalisée par Anton Guyton et al. en 1954. Cette étude chez le chien a établi 4 principes fondamentaux toujours d'actualité. L'adaptation du ventricule droit à une obstruction progressive de l'artère pulmonaire est déterminée par: (1) l'augmentation de la force de contraction avec la progression de la distension ventriculaire ; (2) l'adéquation de la perfusion coronaire droite qui détermine fortement le degré d'augmentation de la post charge

maximale tolérable avant la survenue de la défaillance ; (3) les phénomènes de compensation réflexe ont un rôle dans la compensation de la fonction ventriculaire droite ; (4) plus le volume ventriculaire est grand, plus la limite de compensation avant la défaillance est grande²³³.

Ces observations ont été confirmées en 2008 par Van Wolferen et al chez l'humain²²⁹. Après avoir mesuré et comparé le flux coronarien droit mesuré en IRM chez 14 patients atteints d'HTAP et 11 sujets contrôles, les auteurs ont mis en évidence que le ratio flux systolique / flux diastolique était inversement proportionnel à la masse du VD. De plus, les patients avec une hypertrophie ventriculaire droite sévère avait un flux sanguin coronarien droit globalement diminué.

c. Atteinte microvasculaire: le concept de mismatch entre la densité capillaire et l'hypertrophie myocardique

Si l'ischémie ventriculaire droite est en partie expliquée par des anomalies de perfusion coronarienne, l'atteinte de la microcirculation myocardique (raréfaction capillaire et la perte de son intégrité) est un élément central dans le développement de la défaillance ventriculaire droite. La perte de l'adéquation entre l'hypertrophie myocardique et l'angiogenèse contribue à la transition vers l'insuffisance cardiaque²³⁴. En effet, de nombreux travaux expérimentaux ont montré que la raréfaction microvasculaire est un des mécanismes clé dans le développement de la défaillance cardiaque gauche²³⁵⁻²³⁸.

Si la majorité des données sur le VD proviennent d'études animales, une des premières études sur la vascularisation ventriculaire droite fut réalisée chez l'humain. Dès les années 1950, le VD des patients atteints de syndrome d'Eisenmenger était étudié pour ses particularités structurelles et fonctionnelles. Dans une étude angiographique post-mortem, Zimmerman H et al. ont montré une augmentation du nombre d'artéριοles coronaires dans les VD de patients atteints de syndrome d'Eisenmenger, comparé à des patients décédés d'autre cause de défaillance droite. Ils ont observé que la macro vascularisation ventriculaire droite était presque identique à celle du ventricule gauche chez ces patients, permettant une vascularisation adaptée à l'hypertrophie, limitant ainsi l'ischémie myocardique²³⁹.

Depuis, plusieurs études ont montré que le VD des patients ayant un syndrome d'Eisenmenger possède des capacités exceptionnelles d'adaptation à un régime de haute pression^{240, 241}, avec pour conséquence une meilleure survie comparé à des patients avec une HTAP d'autre

étiologie et moins sévère^{17, 242}. Une des hypothèses mécanistiques de ce phénomène serait que le VD des patients Eisenmenger conserve son phénotype fœtal, très proche de celui du ventricule gauche, avec une hypertrophie importante et une vascularisation adaptée d'emblée.

L'altération fonctionnelle de la microcirculation myocardique a également été mise en évidence dans un modèle de cerclage chronique de l'artère pulmonaire chez le chien. Murray et al ont observé une altération des capacités maximales de vasodilatation traduite par une diminution du ratio perfusion endocardique / épicaudique au repos et après vasodilatation maximale à l'adénosine²⁴³. Dans ce modèle d'hypertrophie ventriculaire droite, la réponse et la réserve du flux coronarien en réponse à l'occlusion de la coronaire droite et à l'adénosine étaient abaissées. En conclusion, les auteurs suggéraient que l'augmentation de la masse ventriculaire droite en réponse à une augmentation de post charge n'était pas compensée par une augmentation de la micro vascularisation coronarienne, introduisant le concept de *mismatch* entre l'angiogenèse (densité capillaire) et l'hypertrophie ventriculaire droite. Lorsque l'hypertrophie est associée à une augmentation de la microcirculation compensatrice, la distance inter-capillaire est préservée et la diffusion en oxygène est maintenue entre les cardiomyocytes et les capillaires. Dans ces conditions, l'apport en oxygène reste adapté aux besoins. Malheureusement, aucune étude de la densité capillaire n'a été réalisée dans cette publication.

Quelques années plus tôt, Archie JP et al. ont montré une adaptation du flux coronarien dans le ventricule droit hypertrophié, avec une réserve coronarienne préservée dans un modèle de cerclage de l'artère pulmonaire chez la jeune brebis (2 jours de vie)²⁴⁴. Ils concluaient que l'augmentation de la microvascularisation myocardique était appropriée et que le VD hypertrophié ne présentait pas d'ischémie. Pris ensemble, les résultats contradictoires de ces deux études suggèrent qu'une même surcharge de pression sur le ventricule droit (cerclage de l'artère pulmonaire) entraîne des conséquences différentes sur le ventricule droit en fonction de l'âge des animaux. L'hypertrophie ventriculaire droite chez les animaux nouveau-nés semble s'accompagner d'une microvascularisation adaptée à la masse myocardique, tandis que sur des animaux plus âgés, l'hypertrophie est associée à un déficit de perfusion myocardique. Ces données confortent l'hypothèse que lorsque la surcharge de pression survient sur un ventricule droit ayant encore son phénotype fœtal, le développement de l'hypertrophie est associé à une vascularisation myocardique appropriée.

L'atteinte microvasculaire par raréfaction capillaire dans le ventricule droit défaillant a été mise en évidence sur des modèles murins d'hypertension pulmonaire. Bogaard et al ont montré en comparant 2 modèles différents d'HP que l'élévation de la post charge n'induisait pas à elle seule une défaillance ventriculaire droite²²⁰. Ils ont observé que la défaillance ventriculaire droite survenait uniquement dans le modèle maladaptatif d'hypertrophie ventriculaire droite induite par la combinaison d'un blocage du récepteur du VEGF (SU5416) et de l'hypoxie. L'augmentation de la post charge par un banding de l'artère pulmonaire entraînait un remodelage adaptatif du ventricule droit, sans survenue de défaillance droite. Ils ont également montré que la défaillance droite était associée à une augmentation de la fibrose myocardique et une raréfaction capillaire. La diminution de la densité capillaire était associée à un dysfonctionnement de la voie de signalisation HIF-1 α / VEGF. En effet, l'expression du VEGF (micro ARN), VEGFR1 et VEGFR2 était diminuée malgré une augmentation de son facteur HIF-1 α dans le modèle SU5416 associé à la défaillance ventriculaire droite.

Enfin, dans une étude sur un modèle de souris HTAP induite par la monocrotaline, Sutendra et al. ont montré que l'altération de l'angiogenèse et la baisse de la densité capillaire étaient associées à la transition de l'état compensé à décompensé de la défaillance ventriculaire droite¹⁷⁶.

Ces données mettent donc en évidence le rôle de l'ischémie causée par un mismatch entre la densité capillaire et l'augmentation du diamètre des cardiomyocytes. De manière intéressante, ce phénomène semble potentiellement réversible²⁴⁵. Une étude réalisée chez 15 patients implantés avec une assistance circulatoire de longue durée a montré une augmentation de 33% de la densité capillaire du ventricule gauche après décharge du ventricule gauche. Cette augmentation était associée à une activation des cellules endothéliales. Selon nos connaissances, aucune étude n'a rapporté ce phénomène de réversibilité de l'angiogenèse sur le ventricule droit. Les mécanismes entraînant l'altération de l'angiogenèse myocardique sont encore mal connus. Trois mécanismes ont été incriminés : (1) La baisse du VEGF induirait l'apoptose des cellules endothéliales capillaires²⁴⁶, (2) la transformation mésenchymateuse des cellules endothéliales²⁴⁷ et (3) l'altération de l'angiogenèse médiée par HIF-1 α ²²⁰ que nous allons détailler dans le prochain paragraphe.

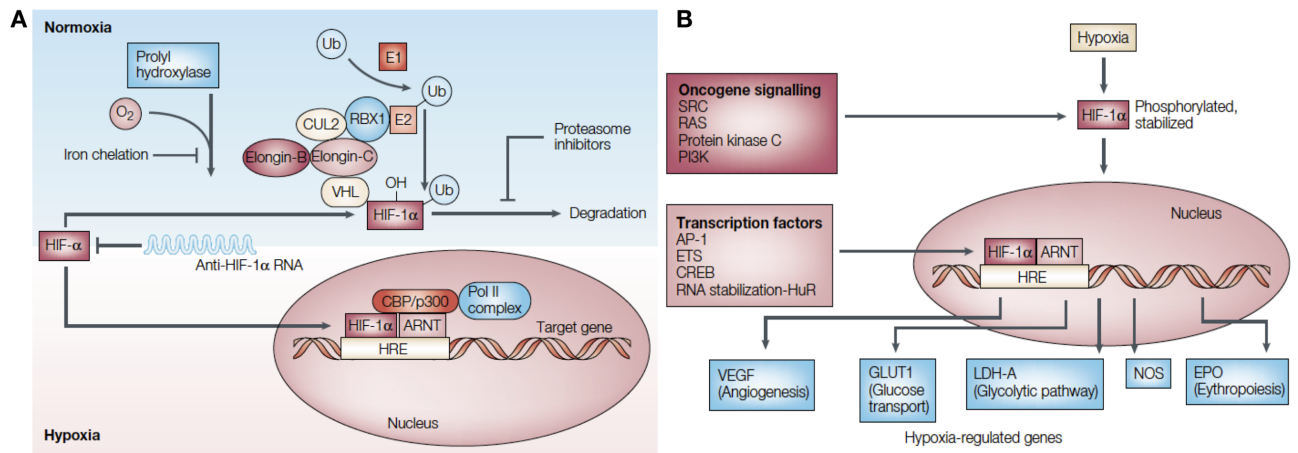
d. Altération des voies de l'angiogenèse dans l'insuffisance cardiaque

La coordination entre la croissance myocardique (hypertrophie) et l'angiogenèse est essentielle pour distinguer l'hypertrophie adaptative ou physiologique de l'hypertrophie maladaptative ou pathologique. Si la raréfaction capillaire est la signature d'une dysfonction myocardique, les mécanismes aboutissant à cette observation restent mal connus.

L'angiogenèse est définie par la croissance de nouveaux capillaires à partir des veinules post-capillaires, ayant pour finalité de former des collatérales entre les vaisseaux déjà existants. Les voies moléculaires impliquées dans la formation de néovaisseaux sont nombreuses et complexes. Plusieurs revues résument les connaissances actuelles sur les mécanismes de l'angiogenèse myocardique²⁴⁸⁻²⁵². Nous développerons ici la voie moléculaire connue pour être potentiellement impliquée dans le développement de la défaillance ventriculaire droite à savoir celle du facteur *Hypoxia Inducible Factor* (HIF-1 α) et du *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF).

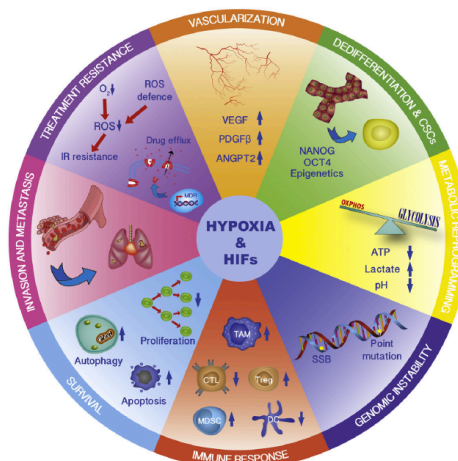
Le facteur de transcription HIF-1 α est un hétérodimère $\alpha\beta$ découvert en 1991, capable d'induire l'expression de plus de 100 gènes impliqués dans la régulation et la délivrance de l'oxygène, dans le transport et le métabolisme du glucose, et dans l'angiogenèse^{253, 254}. Il est une cible thérapeutique importante en cancérologie car il régule de nombreuses voies de signalisation favorisant l'adaptation et le développement des cellules néoplasiques²⁵⁵. La protéine HIF-1 α est régulée à plusieurs niveaux (**Figure 25**). Au niveau transcriptionnel, HIF-1 α est transcrit puis synthétisé continuellement dans la cellule, sous l'influence de nombreux facteurs de croissance²⁵⁶. Dans les conditions d'oxygénation physiologiques normales, la protéine HIF-1 α est dégradée continuellement et sa durée de vie est de 5 minutes. Au niveau post-transcriptionnel, le mécanisme de régulation est oxygène-dépendant et implique 2 voies différentes : l'une implique le gène suppresseur de tumeur Von Hippel-Lindau (VHL) et aboutit à une stabilisation de HIF-1 α et l'autre est indépendante de VHL et régule la transactivation de HIF-1 α . En présence d'oxygène, l'enzyme prolyl-hydroxylase modifie la protéine HIF-1 α qui peut alors interagir avec la protéine VHL. Cette interaction a pour conséquence une ubiquitylation de HIF-1 α qui peut être reconnu et dégradé par le protéasome²⁵⁷.

Figure 25 : (A) Régulation de HIF-1 α en présence ou non d'ischémie. (B) Voies moléculaires impliquant HIF-1 α (Tiré de²⁵⁶).



Lorsque la distance entre les capillaires est plus grande que la distance de diffusion tissulaire de l'oxygène, la concentration en oxygène diminue dans les cellules. L'hypoxie cellulaire a pour conséquence une stabilisation et une accumulation de HIF-1 α qui n'est plus reconnu par le protéasome. Après son passage intranucléaire, HIF-1 α se dimérise et active les régions promotrices HRE (*Hypoxia Response Element*) d'une centaine de gènes impliqués dans le contrôle de nombreuses voies moléculaires intervenant dans le maintien de l'homéostasie comme le métabolisme du glucose, l'apport en oxygène (angiogénèse, érythropoïèse) entre autres. La **figure 26** résume l'ensemble des domaines dans lesquels HIF-1 α est impliqué en cancérogenèse²⁵⁵.

Figure 26 : Représentation schématique des différentes voies impliquant HIF-1 α en cancérogenèse (Tiré de²⁵⁵).



La régulation HIF dépendante de la prolifération des cellules endothéliales et de la formation de néovaisseaux a été bien étudiée. HIF-1 α active de manière importante la transcription des gènes de la famille du (VEGF) et l'un de ses récepteurs VEGFR-1, de la forme inductible de l'oxyde nitrique inductible (iNOS), et des angiopoïétines entre autres. VEGF-A est un facteur angiogénique majeur ayant un rôle central dans la formation, la maintenance des néovaisseaux et dans la coordination entre le développement de l'hypertrophie et de l'angiogenèse. Deux excellentes revues sur la biologie du VEGF ont été publiées ces dernières années^{258, 259}. La famille du VEGF comprend 5 gènes codant pour des protéines proches VEGF-A, -B, -C, -D et P1GF (placental growth factor). Il existe également de nombreuses isoformes de chaque protéine. La régulation de l'expression des gènes du VEGF est médiée par plusieurs facteurs autres que HIF-1 α , comme VHL, TGF- α , TGF- β , *insulin-like growth factor* (IGFR), *platelet-derived growth factor* (PDGF), les interleukines, Akt, 1 et la protéine en doigt de zinc GATA4. L'altération de l'expression du VEGF est associée à la transition de la phase compensée à décompensée de l'hypertrophie ventriculaire gauche induite par une surcharge de pression²³⁶. Choi et al. ont montré sur un modèle de constriction aortique chez le lapin nouveau-né que la réponse angiogénique physiologique secondaire à l'hypoxie était absente dans un ventricule hypertrophié^{260, 261}. Au niveau moléculaire, la réponse découplée de l'hypertrophie et de l'angiogenèse semblerait provenir d'un découplage de la voie HIF et VEGF²²⁰.

Mais le rôle de HIF-1 α dans la transition de la phase compensée à décompensée de l'hypertrophie ventriculaire droite dans l'HTAP reste débattu et il n'est pas prouvé que HIF ait un effet protecteur ou délétère. Dans un modèle d'hypertrophie ventriculaire droite chez des rats ayant une HTAP monocrotaline-induit, Suntendra et al. montraient une activation de l'activité de HIF et de ses voies moléculaires d'aval à la phase compensée¹⁷⁶. L'augmentation de HIF a pour conséquences (1) une activation des voies de l'angiogenèse avec augmentation du VEGF, (2) une activation de la PDK qui inhibe la PDH ce qui contribue au switch glycolytique et (3) une augmentation de l'utilisation du glucose avec l'augmentation de la transcription de GLUT 1. La transition vers la phase décompensée était marquée par une diminution de HIF-1 α . Ces résultats sont contradictoires avec ceux de Drake et al. et Bogaard et al. qui retrouvaient une expression de HIF préservée dans le VD défailants de modèles murins d'HTAP induit par un blocage du récepteur au VEGF (**Tableau 14**)^{220, 262}.

3. Altération du métabolisme énergétique et mitochondrial

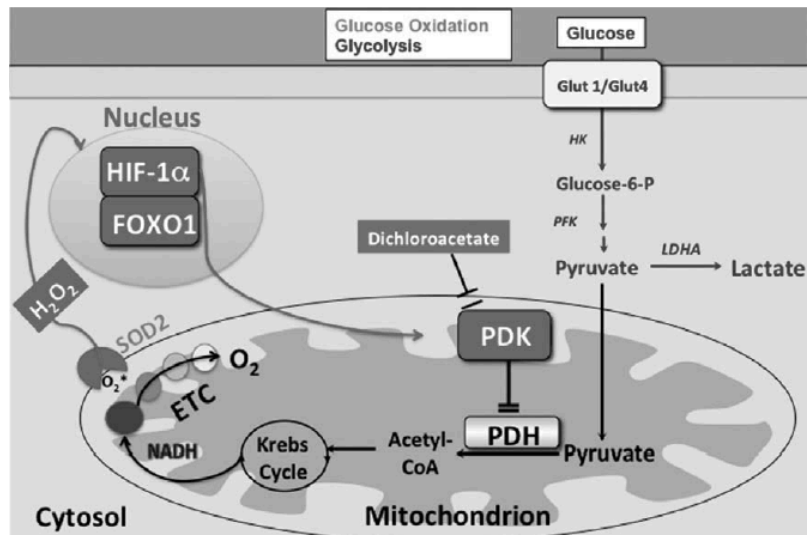
L'étude de la bioénergétique et du métabolisme du VD dans l'HTAP a connu un essor important ces 10 dernières années. L'équipe de Stephen Archer (Université de Kingston, Ontario, Canada) a été l'une des premières à mettre en avant le métabolisme « cancer-like » dans la physiopathologie de l'HTAP et la défaillance ventriculaire droite^{20, 21, 111, 153, 175, 212, 214, 215, 263}.

a. La théorie du shift métabolique : de l'oxydation du glucose vers la glycolyse

Décrit initialement dans des cellules cancéreuses dans les années 1950, le phénomène de Warburg, encore appelé *shift glycolytique*, correspond à l'augmentation de l'utilisation du glucose vers la glycolyse au détriment des voies oxydatives²⁶⁴. Il survient lorsque les cellules sont privées d'oxygène. Dans ces conditions d'hypoxie, les cellules reprennent un phénotype fœtal, avec une augmentation de l'expression des transporteurs du glucose (GLUT 1) et des enzymes de la voie de la glycolyse. En présence d'hypoxie, HIF-1 α est stabilisé et va stimuler la pyruvate déshydrogénase kinase (PDK). La PDK a un rôle central dans le shift glycolytique car elle inhibe la pyruvate déshydrogénase qui ne peut plus transformer le pyruvate en acétyl-CoA pour alimenter le cycle de Krebs. Le pyruvate, en excès dans la cellule, est transformé en lactate dont l'accumulation entraîne une acidose cellulaire (**Figure 27**). La glycolyse produit seulement 2 ATP par molécule de glucose. Ainsi, la cellule doit en consommer une très grande quantité afin de maintenir une production énergétique adaptée. Ceci se traduit par une augmentation de la captation du ¹⁸FDG au PET scan.

Dans les conditions aérobies normales, la PDH n'est pas inhibée par la PDK et peut assurer la transformation du pyruvate en Acétyl-CoA qui est le substrat principal du cycle de Krebs. Les donneurs d'électrons produits par ce cycle vont passer dans la chaîne respiratoire mitochondriale et entraîner la formation d'ion H⁺ qui vont s'accumuler dans l'espace intermembranaire de la mitochondrie. Ces ions H⁺ néoformés vont être à l'origine d'un gradient transmembranaire de H⁺, véritable moteur de l'ATP synthétase. Les anions superoxyde formés par la chaîne respiratoire mitochondriale vont être transformés par la superoxyde dismutase (SOD) en H₂O₂. Celui-ci a le rôle de redox-Messenger témoin de la normoxie et empêche la stabilisation du HIF-1 α qui sera dégradé par le protéasome.

Figure 27 : Schématisation du shift glycolytique. En réponse à l'hypoxie, l'activation de la PDK par HIF entraîne l'inhibition de la PDH qui ne métabolise plus le pyruvate. L'oxydation du glucose est diminuée au profit de la glycolyse. La diminution de la production de l'ion superoxyde (H_2O_2) par la superoxyde dismutase 2 (SOD2) entraîne à son tour l'activation de HIF (Tiré de²¹⁵).



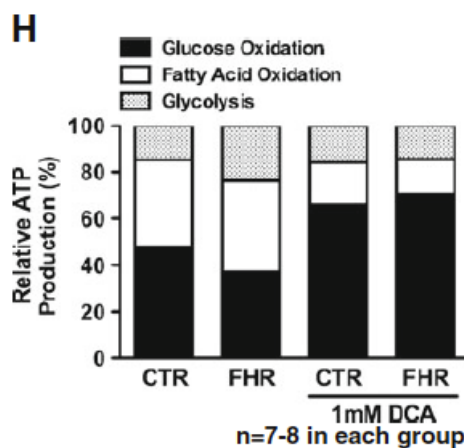
Le shift métabolique a été mis en évidence dans de nombreuses études sur la défaillance ventriculaire gauche, les cardiopathies ischémiques et chez les patients diabétiques²³⁵. L'augmentation de l'activité de PDK4 et de GLUT1 dans un ventricule droit défaillant de patients atteints d'HTAP a également été décrite, suggérant le rôle du shift glycolytique dans la dysfonction ventriculaire droite²⁰⁷.

Il semble que l'ischémie myocardique dans le VD soit le facteur déclenchant des mécanismes impliqués dans le shift glycolytique. Ils ont fait l'objet de plusieurs études expérimentales récentes dont les principaux résultats sont résumés dans le **tableau 14**.

La famille des PDK comporte 4 isoformes ayant chacune leur particularité. Elles sont réparties différemment selon les espèces et les tissus. L'activité de la PDK est induite par plusieurs facteurs de transcription comme HIF et Forkead Box protein 1 (FOXO1)^{21, 263, 265}. Une fois activée, elle peut phosphoryler la sous-unité E1 de la PDH qui devient inactive. L'acidose cellulaire induite par l'accumulation de lactate produit par la glycolyse et la diminution de l'efficacité énergétique induisent une dysfonction contractile des cardiomyocytes.

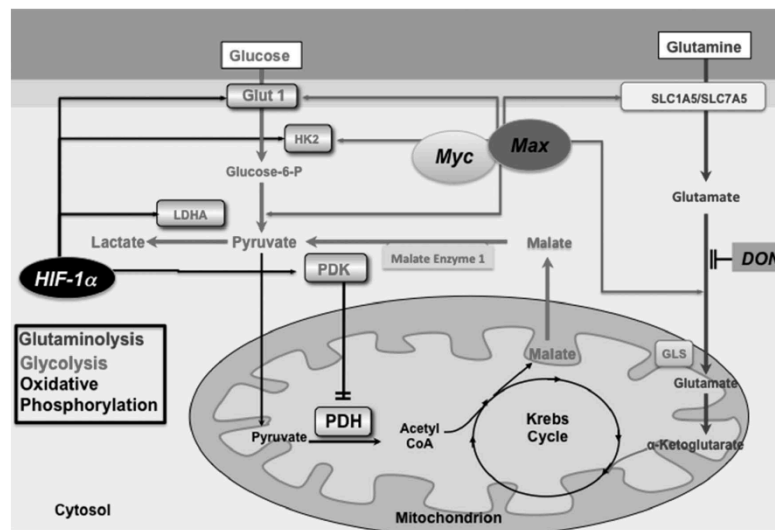
Une baisse de l'oxydation du glucose entraîne également l'augmentation de la glycolyse (**Figure 28**). Il n'a cependant pas été clairement démontré que la réduction ou l'augmentation de l'oxydation des acides a un rôle bénéfique ou délétère dans la défaillance droite. Piao et al. ont montré les changements de proportion d'utilisation des substrats dans des conditions normales, dans l'hypertrophie ventriculaire droite décompensée et après administration de dichloroacétate¹⁷⁵.

Figure 28 : Variation de l'utilisation de la glycolyse, l'oxydation du glucose et des acides gras sur des rats témoins (CTR), rats atteints d'HTAP (FHR) avec et sans dichloroacétate (DCA)²⁶³ (Tiré de Piao 2013 FOXO). Le DCA inhibe la PDK et rétablit l'utilisation des voies oxydatives du glucose, ce qui entraîne une amélioration de la fonction ventriculaire droite.



Le métabolisme d'un acide aminé, la glutamine, semble également être impliqué dans les changements métaboliques du VD hypertrophié. La glutaminolyse consiste à transformer la glutamine en α -Kétoglutarate qui servira de substrat pour le cycle de Krebs. Elle serait activée par les facteurs de transcription cMyc et Max en réponse à l'ischémie myocardique. Le malate produit du cycle de Krebs est alors transformé en pyruvate puis lactate. L'augmentation de la glutaminolyse entraîne également une réduction de l'oxydation du glucose. Les facteurs de transcription HIF, cMyc/Max augmentent la transcription des acteurs de la glycolyse : GLUT1, et l'hexokinase. (**Figure 29**)

Figure 29 : Implication de la glutaminolyse dans la réduction de l'oxydation du glucose^{153, 215}.
(Tiré de²¹⁵)



b. Altération des voies oxydatives mitochondriales

L'altération des réactions de phosphorylations oxydatives (cycle de Krebs, oxydation des acides gras, chaîne respiratoire mitochondriale) a été bien décrite dans la défaillance ventriculaire gauche expérimentale et humaine⁹⁰. Dans le myocarde défaillant, les mitochondries sont caractérisées par des anomalies membranaires, une déplétion de leur matrice, par une baisse de leur capacité respiratoire en réponse à différents substrats, par des altérations des complexes de la chaîne respiratoire et par une diminution des capacités oxydatives^{95, 266}. Les capacités maximales oxydatives mitochondriales sont déterminées par la masse mitochondriale et leur activité intrinsèque. S'il a été bien démontré qu'elles sont altérées dans l'insuffisance cardiaque gauche, seulement quelques études animales montrent une diminution globale des capacités oxydatives mitochondriales dans la défaillance ventriculaire droite^{175, 267}. Leur implication dans la transition de la phase adaptée à la phase maladaptée de l'hypertrophie du VD est donc mal connue.

Daicho T et al. ont montré que la défaillance droite dans un modèle murin d'HTAP monocrotaline-induite était associée à une diminution du taux de consommation en oxygène mesuré par la technique des fibres perméabilisées²⁶⁷. Les capacités respiratoires maximales étaient corrélées à la fonction ventriculaire droite. Les auteurs montraient également une altération de la fonction des complexes I et IV de la chaîne respiratoire mitochondriale au cours

du temps, suggérant que ce mécanisme pourrait être incriminé dans la transition vers la défaillance ventriculaire.

Dans le VG, la réduction des capacités oxydatives et des activités enzymatiques mitochondriales était associée à une diminution de l'expression des sous-unités du complexe IV sans altération de la réplication de l'ADN mitochondrial. Ces observations étaient associées à une régulation négative de l'expression des facteurs de transcription mitochondriaux PGC-1 α , Nrf2 et Tfam. Ce lien ne semble pas avoir été exploré dans la défaillance droite jusqu'à présent.

Tableau 14 : Caractéristiques de l'angiogenèse et du métabolisme énergétique dans l'hypertrophie adaptative et maladaptative. Données expérimentales.

Etudes	Modèles d'hypertrophie VD	Hypertrophie adaptative	Hypertrophie maladaptative
Piao L et al. ^{212, 263} 2010 J Mol Med	Hypertrophie (non spécifiée) : -Rat +Monocrotaline -Rat + banding de l'AP <i>NB : Etude de l'effet du DCA</i>	\uparrow glycolyse et \downarrow oxydation du glucose \uparrow activité PDK \uparrow PDH phosphorylation (= \downarrow activité) \uparrow GLUT1, \uparrow captation ¹⁸ FDG \downarrow MVO ₂ \downarrow capacités oxydatives Remodelage électrique (anomalies de fonction des canaux ioniques Kv1.2, Kv1.5, Kv4.2)	<u>Effets métaboliques :</u> <u>Effets sur l'angiogenèse :</u> Non étudié
Piao L et al. ^{21, 263} 2013 J Mol Med	Hypertrophie (non spécifiée) : -Fawn-Hooded rats -VD patients HTAP <i>NB : Etude de l'effet du DCA</i>	\uparrow Glycolyse \uparrow PDK2, 4, aldolase B, Acyl CoA oxydase \uparrow Forkhead box protein O1 (FOXO1) \downarrow activité PDH \downarrow Oxydation du glucose \downarrow Oxydation des acides gras \downarrow Cycle de Krebs	<u>Effets métaboliques :</u> <u>Effets sur l'angiogenèse :</u> HIF-1 α inchangé
Sutendra G et al. ¹⁷⁶ 2013 J Mol Med	Hypertrophie : Rat + Monocrotaline -Stade adapté -Stade maladapté	<u>Effets métaboliques :</u> Faible production de mROS Hyperpolarisation mitochondriale \uparrow GLUT1 \uparrow Captation ¹⁸ FDG <u>Effets sur l'angiogenèse :</u> Activation de HIF-1 α	<u>Effets métaboliques :</u> \uparrow Production de mROS Hyperpolarisation mitochondriale \downarrow Activité PDK \downarrow Captation ¹⁸ FDG <u>Effets sur l'angiogenèse :</u>

↑ Angiogenèse
 ↑ VEGF
 ↑ SDF-1

Inhibition de HIF-1 α
 ↓ Angiogenèse
 ↑ Activation de p53
 ↓ VEGF
 ↓ SDF-1

Drake J et al. 2011 ²⁶² Am J Respir Cell Mol Biol	Hypertrophie adaptée : -Rat + PAB + hypoxie Hypertrophie maladaptée : -Rat + Sugén + hypoxie -Rat + PAB + diète pauvre en Cu ⁺ <i>NB : Etude de l'effet du carvedilol</i>		<u>Effets métaboliques :</u> ↑ Glycolyse <u>Effets sur l'angiogenèse :</u> Raréfaction capillaire Fibrose ↓ Angiogenèse ↓ VEGF, IGFR, apelin, angiopoïétine-like1 ↓ Akt
Rich S et al. 2010 ²⁰⁷ CHEST	Case report : patient avec HTAP traité pendant 18 ans par epoprostenol avec fonction VD préservée	<u>Effets métaboliques :</u> ↑ GLUT1 ↑ PDK 4 (Comparaison avec le VG)	<u>Effets métaboliques :</u> ↑↑ GLUT1 ↑↑ PDK 4
Bogaard H et al. ²²⁰ 2009 Circ	Hypertrophie adaptée : -Rats + PAB Hypertrophie maladaptée : -Rats + SU5416 + hypoxie -Rat + PAB + diète pauvre en Cu ⁺	<u>Effets sur l'angiogenèse :</u> Densité capillaire = témoin = VEGF, VEGFR1, VEGFR2 = HIF-1 α Défences anti-oxydantes = ≈↑ Fibrose ↑ Ostéopontine-1	<u>Effets sur l'angiogenèse :</u> Raréfaction capillaire ↓ Angiogenèse ↓ VEGF, VEGFR1, VEGFR2 = HIF-1 α (découplage HIF / VEGF) ↓ Défences anti-oxydantes ↑↑ Fibrose ↑ Ostéopontine-1 ↑ Nrf2, Heme-oxygenase-1 (OH-1)

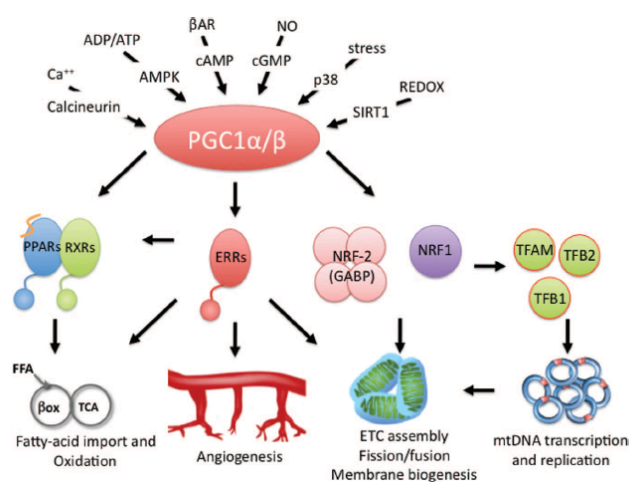
4. Co-régulation de la biogenèse mitochondriale et de l'angiogénèse : rôle central du PGC

Le *peroxisome proliferator-activated receptor γ* (PPAR- γ) *coactivator-1* (PGC-1) est un facteur de transcription essentiel dans la régulation de la biogénèse mitochondriale, qui suscite un intérêt croissant depuis sa découverte en 1998 et qui fait l'objet de plusieurs revues récentes très complètes²⁶⁸⁻²⁷⁰. Nous résumerons dans les paragraphes suivants quelques-unes de ses principales caractéristiques.

a. PGC-1 α

Les coactivateurs sont des protéines capables de se lier à des récepteurs nucléaires ou d'autres facteurs d'activation nucléaires. La liaison à leur cible entraîne une augmentation des capacités transcriptionnelles de celles-ci. PGC-1 α est le plus connu et le plus étudié de la famille de coactivateurs PGC composée également de PGC-1 β et PGC-1 *related coactivator* (PRC). La protéine PGC-1 α est ubiquitaire, a une demi-vie d'environ 20 min, et est dégradée par le protéasome. PGC-1 α module l'expression de centaines de gènes via le facteur respiratoire nucléaire (NRF-1 et NRF-2) et les récepteurs apparentés aux œstrogènes (ERR) (**Figure 30**). L'expression du gène PGC-1 α est très sensible à de nombreux signaux extracellulaires et physiologiques intégrant des états métaboliques et neuro-hormonaux variés. Plusieurs études sur des modèles murins d'hypertrophie ventriculaire (constriction de l'aorte ascendante) ou de défaillance cardiaque ont mis en évidence une diminution de PGC-1 α , suggérant que son altération est une signature commune de cardiopathie.

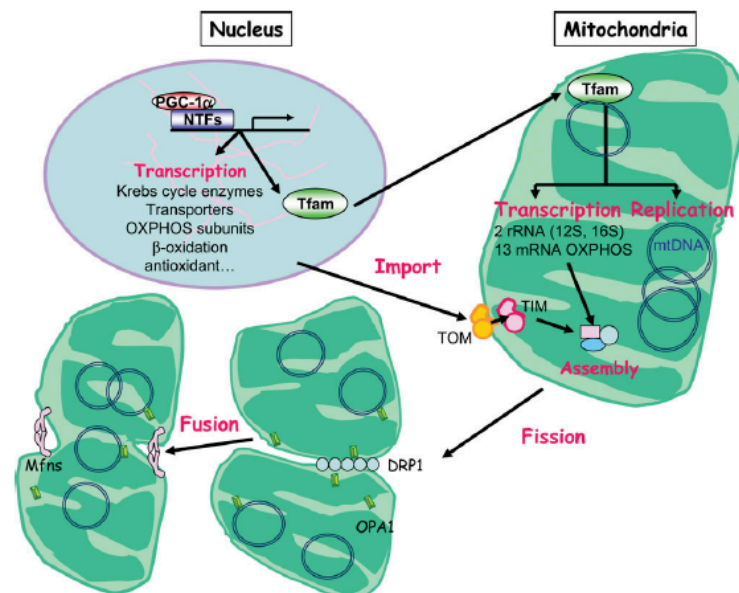
Figure 30 : Réseau transcriptionnel et régulation de PGC-1 α (Tiré de²⁷⁰).



b. Rôle de PGC-1 α dans la biogenèse mitochondriale et le métabolisme énergétique

Environ 98% des 1500 gènes qui codent pour des protéines mitochondriales sont codés dans le noyau. Le génome mitochondrial ne contient que 37 gènes dont 13 codent pour des protéines des sous-unités des complexes I et III, IV et V de la chaîne respiratoire. PGC-1 α module de manière indirecte le génome mitochondrial et stimule l'expression des sous-unités de la chaîne respiratoire mitochondriale (CoX IV, ATP synthétase) via l'induction de *nuclear transcription factors* (NFTs) et TFAM. TFAM transloque du noyau vers les mitochondries et active indirectement la transcription et la réplication de l'ADN mitochondrial^{269, 271} (**Figure 31**). Il a été montré que l'altération ciblée de TFAM dans le muscle cardiaque entraîne une diminution des capacités de transport d'électrons et une défaillance cardiaque. A l'opposé, la surexpression de TFAM induit une protection des cardiomyocytes contre l'ischémie.

Figure 31 : Représentation schématique de la biogenèse mitochondriale. PGC-1 α active les NFTs qui vont induire la transcription de TFAM. TFAM va induire la réplication de l'ADN mitochondrial (Tiré de²⁷¹).



La surexpression de PGC-1 α dans les cardiomyocytes induit des centaines de gènes d'enzymes clés impliquées dans toutes les voies métaboliques nécessaires à la production d'ATP. Plus de

70% des sous-unités de la chaîne respiratoire mitochondriale et du complexe ATPase sont induites par PGC-1 α , tout comme les 8 enzymes du cycle de Krebs. Les enzymes impliquées dans la β -oxydation des acides gras et dans leur transport sont également induites par PGC-1 α . In fine, la surexpression de PGC1- α augmente de manière significative les capacités oxydatives mitochondriales, particulièrement celles des acides gras. L'oxydation du glucose diminue suite à l'inhibition des acides gras et des cétones sur la pyruvate déshydrogénase (PDH) et suite à l'induction de l'activité de la pyruvate déshydrogénase kinase 4 (PDK4)²⁷². Dans un cœur normal, la surexpression de PGC1- α induit la biogénèse mitochondriale de manière extrême, voire délétère, avec remplacement des myofibrilles myocardiques par des mitochondries. Dans des conditions de stress, cette surexpression a un rôle bénéfique, permettant de maintenir une masse mitochondriale appropriée.

c. Rôle de PGC-1 α dans l'angiogénèse.

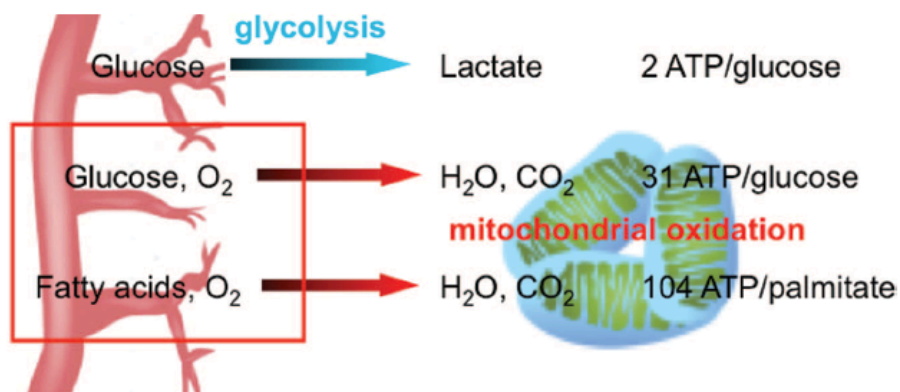
L'hypoxie tissulaire stimule la formation de néo-vaisseaux via l'expression de nombreux facteurs angiogéniques. En général, l'angiogénèse est dépendante de l'accumulation de HIF qui active l'expression de nombreux gènes, dont celui du VEGF. En 2008, Arany et al. ont mis en évidence une nouvelle voie de régulation du VEGF indépendante du facteur de transcription HIF²⁷³. A partir de cultures de cellules musculaires de souris, les auteurs ont montré que PGC-1 α et ERR- α étaient induits par l'hypoxémie et régulaient l'expression de VEGF et l'angiogénèse indépendamment de HIF.

L'implication de PGC-1 α dans l'angiogénèse myocardique a été confirmée dans une étude sur la cardiopathie du post partum chez la souris²⁷⁴. L'absence d'expression de PGC-1 α chez des souris femelles KO entraînait une dilatation et une insuffisance ventriculaire gauche après une ou deux gestations. Les auteurs ont observé chez ces souris une diminution de 50% de l'expression des gènes de facteurs angiogéniques (*vegfa*, *Pdgfd*), une diminution de 30% de la protéine VEGFA et une baisse de 15% de la densité capillaire myocardique. L'administration de VEGF ne renversait que partiellement les effets de l'absence de PGC-1 α , suggérant l'implication d'autres voies importantes pour l'angiogénèse myocardique. De manière intéressante, l'expression élevée d'un inhibiteur soluble du VEGF (FLT1) induisait une altération de l'angiogénèse myocardique conduisant à une dilatation ventriculaire et à une cardiomyopathie sévère. PGC-1 α semble également avoir un rôle important dans la paroi

vasculaire elle-même. Il régule directement les voies anti oxydantes, contrebalançant l'augmentation de production de ROS associée à la biogenèse mitochondriale. La surexpression de PGC-1 α dans les cellules endothéliales réduit le taux de ROS et leur toxicité sur les mitochondries et la cellule elle-même via l'induction de l'expression de nettoyeurs de ROS tels que MnSOD, catalase et Prx3.

En conclusion, PGC-1 est un véritable « chef d'orchestre » qui intervient dans la régulation de nombreuses voies métaboliques majeures comme l'angiogenèse, la biogenèse mitochondriale, l'oxydation et le transport des acides gras, la transcription et la réplication de l'ADN mitochondrial et la régulation de la masse mitochondriale. Il se trouve donc au carrefour des deux axes principaux de recherche de cette thèse, la micro vascularisation myocardique et les capacités respiratoires mitochondriales dans le ventricule droit soumis à une élévation chronique de pression (**Figure 32**). Les mécanismes en amont de la régulation de PGC-1 dans l'ischémie restent cependant mal connus, comme son implication dans la défaillance ventriculaire droite.

Figure 32 : Corégulation de l'angiogenèse et de la mithogenèse.



Chapitre 4 : les thérapeutiques actuelles de la défaillance ventriculaire droite dans l'HTAP.

L'augmentation chronique de la postcharge dans l'HTAP induit un excès de stress pariétal induisant la défaillance droite. Le traitement de la dysfonction ventriculaire droite consiste donc à réduire ce stress pariétal et à traiter ses conséquences sur le ventricule droit. La prise en charge de la défaillance ventriculaire droite comprend classiquement 4 volets : (1) traitement de la cause, (2) optimisation de la précharge, (3) réduction de la postcharge et (4) augmentation de la contractilité.

Si la cause principale de décès chez les patients atteints d'HTAP est la défaillance droite, le développement des thérapies ciblées sur le ventricule droit n'a émergé que ces dernières années. En effet, jusqu'à aujourd'hui, le traitement consiste quasi exclusivement à faire baisser les résistances pulmonaires en ciblant uniquement le lit vasculaire pulmonaire. Le traitement de l'HTAP sort du cadre de cette thèse et a fait l'objet de guidelines et de plusieurs revues de la littérature publiées récemment^{159, 180, 189, 275}. Si les thérapeutiques actuelles ont montré un certain bénéfice sur la survie, elles ne sont pas suffisantes pour améliorer la prise en charge des patients présentant une défaillance ventriculaire droite. En effet, une méta-analyse récente²⁷⁶ a montré que, malgré la baisse des pressions pulmonaires induite par les thérapies ciblées sur l'HTAP, les patients avec une défaillance droite gardent un mauvais pronostic du fait de la progression de la défaillance. Ainsi, la recherche et le développement des thérapeutiques ciblées sur le ventricule droit est un enjeu majeur pour ces patients.

1) Thérapeutiques actuelles de la défaillance ventriculaire droite

a. Contrôle de la précharge

Le contrôle de la volémie est un des aspects du management de la défaillance ventriculaire droite chronique, quel que soit son étiologie. Une surcharge de volume entraîne une élévation de la pression veineuse centrale, une congestion rénale, hépatique, cérébrale et splanchnique. A l'opposé, l'hypovolémie entraîne une insuffisance rénale par hypoperfusion. L'objectif est donc de garder les patients « euvolémiques », soit en administrant du volume, soit en donnant des diurétiques (diurétiques de l'anse ou antagonistes de l'aldostérone). Le monitoring de la volémie comprend une surveillance clinique (poids, signes congestifs), biologique (créatininémie, fonction hépatique), et échographique (dilatation veine cave

inférieure, flux doppler hépatique et rénal). Du fait de sa meilleure biodisponibilité par voie orale, le bumétanide semble avoir une meilleure efficacité que le furosémide en présence de congestion splanchnique^{54, 277}.

b. Réduction de la postcharge : agents pharmacologiques du traitement de l'HTAP et leurs effets sur le VD

Les inhibiteurs calciques, les analogues des prostacyclines, les antagonistes des récepteurs de l'angiotensine 1 et les inhibiteurs de la phosphodiesterase ont montré un bénéfice chez les patients atteints d'hypertension artérielle^{159, 180, 189, 275, 278, 279}. Si la réduction de la postcharge par vasodilatation pulmonaire est associée à une amélioration de la fonction et du remodelage ventriculaire droit, la cible de ces thérapeutiques est principalement la vascularisation pulmonaire. Il semble que l'association de plusieurs molécules soit plus efficace qu'une monothérapie²⁸⁰. Leur effet intrinsèque sur le ventricule droit est encore controversé (**Tableau 15**). En effet, l'amélioration du couplage ventriculo-artériel peut être secondaire soit à une réduction de la postcharge ventriculaire, soit à une augmentation de la contractilité. Une molécule ayant un effet inotrope négatif peut quand même avoir un effet bénéfique si la réduction de la postcharge qu'elle entraîne contrebalance la baisse de contractilité. De plus, l'augmentation de la contractilité par un effet inotrope positif entraîne une augmentation chronique de la consommation en oxygène ce qui est possiblement délétère à long terme²⁸¹.

i. Bloqueurs des canaux calciques (nifédipine, amlodipine)

L'utilisation des bloqueurs des canaux calciques chez les patients atteints d'HTAP a un effet bénéfique sur la survie²⁸². Leurs effets sur le VD sont encore peu connus.

ii. Analogue des prostacyclines (epoprostenol)

Pendant de nombreuses années, les prostacyclines de synthèse (PG2) ont été le gold standard pour le traitement de l'HTAP. Si la vasodilatation qu'elles induisent semble avoir un effet bénéfique sur la postcharge, il n'est pas établi qu'elles empêchent le remodelage vasculaire du lit pulmonaire²⁸³. Chez l'homme, l'administration d'epoprostenol est associée à une augmentation du débit cardiaque et à une baisse des pressions de remplissage chez des patients insuffisants cardiaques²⁸⁴. Une augmentation du Stroke Work du VD a également été

rapportée chez des patients atteints d'HTAP²⁸⁵. Cependant, le bénéfice de l'époprostenol à long terme reste controversé. Dans un essai randomisé (étude Beraprost), le bénéfice sur les capacités fonctionnelles observé après 12 semaines de traitement disparaissait après 1 an²⁸⁶. En effet, l'amélioration de la fonction ventriculaire droite pourrait être bénéfique à court terme mais devenir délétère à long terme du fait de l'augmentation de consommation en oxygène qu'elle entraîne²⁸¹. L'étude expérimentale de l'effet myocardique direct des analogues des prostacyclines a montré un bénéfice potentiel pour le VD avec une réduction de la fibrose myocardique et une augmentation de l'angiogenèse^{287, 288}.

iii. Bloqueurs des récepteurs de l'endothéline 1

L'expression de endothéline 1 est augmentée chez les patients atteints d'HTAP et de défaillance cardiaque. Non seulement l'endothéline 1 augmente le tonus vasculaire pulmonaire par son action vasoconstrictrice, mais elle entraîne également une augmentation de la contractilité myocardique par un effet inotrope positif sur le VD. L'effet du blocage de ses récepteurs entraîne un effet ambivalent sur le VD. D'une part il entraîne une réduction de la postcharge ventriculaire droite, et d'autre part une diminution de sa contractilité et une augmentation de l'apoptose des cardiomyocytes. Globalement leur effet semble délétère pour la fonction ventriculaire droite^{289, 290}.

iv. Inhibiteurs de la phosphodiesterase 5

La guanosine monophosphate cyclique (GMPc) est un messager secondaire impliqué dans la vasodilatation pulmonaire et l'augmentation de la contractilité myocardique. Il est dégradé par la phosphodiesterase 5 qui s'exprime lorsque le VD s'hypertrophie. Son inhibition entraînerait donc une augmentation de la contractilité du VD hypertrophié. L'utilisation du sildénafil semble associée à une réduction de la masse ventriculaire droite, à l'augmentation de l'index cardiaque et des capacités fonctionnelles et une amélioration de la fonction diastolique chez des patients insuffisants cardiaques. Les effets à long terme sur le VD dans l'HTAP restent inconnus. Les études précliniques réalisées chez l'animal semblent prometteuses. L'administration de sildénafil semble associée à une augmentation de la contractilité, une amélioration du couplage ventriculo-artériel, une réduction de l'apoptose myocardique et une amélioration de la fonction mitochondriale.

Tableau 15 : Récapitulatif de l'effet des traitements pharmacologiques sur le remodelage et la fonction ventriculaire droite.

Traitements	Effets sur le remodelage et sur la fonction ventriculaire droite	Impact sur le VD	Etudes et modèles
Thérapies ciblées dans l'HTAP			
Analogues des prostacyclines <i>Iloprost, epoprostenol, aspirine, tolafentrine</i>	↑ Angiogenèse ↓ Fibrose	Positif	Schermuly 2004 (rat MCT) ²⁸⁷ Van Albada 2006 (rat) ²⁸⁸
Bloqueur des récepteurs de l'endothéline Bosentan	Inotrope négatif ↑ Apoptose des cardiomyocytes ↑ Couplage ventriculo-artériel	Négatif	Nagendran 2007 (patients) ²⁹¹ Yuyama 2004 (rat) ²⁹²
Inhibiteurs PDE5 <i>Sildénafil, tadalafil</i>	↓ Apoptose des cardiomyocytes ↑ Myorelaxation ↓ Dilatation ↑ Contractilité ↑ Couplage ventriculo-artériel ↑ Fonction mitochondriale ↑ Densité capillaire ↓ Consommation en oxygène	Positif	Borgdorff 2012 (rat) ²⁹³ Mouchaers 2009 (rat MCT) ²⁹⁴ Nagendran 2007 (rat) ²⁹¹ Schafer 2009 (rat MCT) ²⁹⁵
Inhibiteur de la Rho-Kinase <i>Fusadil</i>	↓ Apoptose ↓ Inflammation ↓ Contractilité Réduction hypertrophie	Positif Négatif	Mouchaers 2009 (rat MCT) ²⁹⁴
Thérapies utilisées dans la défaillance gauche			
Statines <i>Rosuvastatine + sildenafil</i>	↓ Production de ROS ↓ Inflammation ↑ Production de NO	Positif	Jasinska-Stroschein 2014 ²⁹⁶
Béta bloqueurs <i>Carvédilol, bisoprolol</i>	↑ Angiogenèse ↓ Fibrose ↓ Fréquence cardiaque	Positif	Bogaard 2010 (rat) ^{220, 222} De Man 2012 ²¹⁷
Inhibiteur de l'enzyme de conversion <i>Ramipril</i>	↓ Remodelage de la MEC ↓ Fibrose	Positif	Rouleau JL, 2001 ²¹⁹ (lapin)
Antioxydants <i>Protandim, BH4</i>	↓ Fibrose ↓ Apoptose ↓ Production de ROS	Positif	Redout 2010 (rat MCT) ²⁹⁷

c. Réduction de la postcharge dans l'HTAP postembolique : thrombo-endarterectomie et angioplastie des artères pulmonaires.

Lorsque la forme est opérable, le traitement curatif de l'HPPE est le traitement chirurgical²⁹⁸⁻³⁰⁴. L'endarterectomie des artères pulmonaires, décrite pour la première fois

dans les années 1980, est réalisée sous circulation extracorporelle et permet de désobstruer chaque AP (gauche et droite) ainsi que ses branches lobaires, segmentaires et sous-segmentaires oblitérées par un séquestre. Cette technique permet d'obtenir une diminution immédiate d'au moins 50% des résistances vasculaires pulmonaires. En rétablissant une circulation pulmonaire normale, elle permet la normalisation de l'hémodynamique cardiaque et la disparition des signes fonctionnels liés à l'insuffisance cardiaque³⁰⁵. Un traitement anticoagulant au long cours est toujours associé³⁰⁶. Les deux principales complications opératoires sont les hémorragies et les oedèmes de reperfusion et la mortalité est d'environ 4% à 10% dans les centres experts^{204, 298, 307-311}. La sélection des patients est cruciale, le pronostic étant de plus en plus sombre avec la distalité de l'obstruction du lit vasculaire pulmonaire. Une classification a été établie en 2002 par Jamieson et al.³¹². Quatre types de séquestres chirurgicaux ont été décrits. Le type 1 correspond à la présence de thrombus frais dans les artères lobaires. Le type 2 correspond à un épaissement intimal fibreux proximal. Le type 3 correspond à une atteinte intimale fibreuse distale. Le type 4 correspond à une artériolite distale sans séquestre thrombo-embolique visible. Les formes proximales, type 1 et 2, sont corrélées à de meilleurs résultats hémodynamiques post-opératoires en comparaison des formes distales, types 3 et 4³¹².

Malheureusement seuls 60% de ces patients ont une forme opérable, laissant aux patients inopérables un pronostic sombre^{313, 314}. Les équipes japonaises ont proposé une technique percutanée de désobstruction par angioplastie au ballon sur les lésions segmentaires et sous-segmentaires pour ces patients atteints de formes distales inopérables³¹⁴. L'angioplastie pulmonaire est une technique récente dans le traitement des patients souffrant d'une HPPE. Elle est destinée aux patients ne pouvant être opérés car leurs lésions sont trop distales ou dues à l'existence de comorbidités, ou alors aux patients ayant une HPPE symptomatique persistante après avoir subi une endartériectomie des artères pulmonaires³¹⁵. Cette procédure est réalisée en plusieurs séances sous anesthésie locale par un radiologue interventionnel spécialisé. Elle cible principalement les artères pulmonaires segmentaires et sous-segmentaires qui sont le siège de lésions sténosantes locales. Selon différentes équipes, ce traitement permettrait une amélioration de la fonction et de l'hémodynamique de façon rapide et prolongée et avec une diminution de 60% des résistances pulmonaires. La principale

complication de ces procédures est l'œdème pulmonaire. Cette technique est encore en cours d'évaluation et les résultats sur le long terme sont attendus^{316, 317}.

2) Un nouvel essor : les thérapies ciblées du ventricule droit

Aucune des thérapies suivantes n'est utilisée en pratique clinique courante pour le traitement de la défaillance ventriculaire droite chronique. Elles font l'objet pour la plupart d'études précliniques ou d'étude de phase 1 pour d'autres.

a. Modulation du métabolisme neuro-hormonal

i. Les bêtabloqueurs

La défaillance cardiaque est associée à une hyperactivation du système adrénergique et une régulation négative des récepteurs β -adrénergique ce qui entraîne une augmentation de la mortalité. Le blocage des récepteurs adrénergiques entraîne une vasodilatation périphérique, une baisse de la fréquence et de la contractilité cardiaque et une réduction de la consommation en oxygène. Deux molécules, le carvedilol et le bisoprolol, ont montré un effet bénéfique important sur la fonction ventriculaire droite dans des modèles murins d'HTAP^{217, 222}. Dans une étude préclinique chez le rat, l'administration de bisoprolol était associée à une augmentation de la densité capillaire, une amélioration du couplage ventriculo-artériel, une augmentation de la tolérance à l'effort et une amélioration de la survie. Il a également été montré que le blocage des récepteurs β -adrénergiques dans la défaillance droite induisait une diminution de l'expression de gènes impliqués dans le remodelage. Le traitement au carvedilol de rats HTAP (SuHX et monocrotaline) a montré une régression du remodelage du VD et une amélioration de la fonction ventriculaire droite. Un essai clinique randomisé est actuellement en cours (<http://www.clinicaltrials.gov> NCT01246037) afin d'évaluer la sécurité et l'efficacité de l'administration de bisoprolol chez les patients HTAP.

ii. Les inhibiteurs du système rénine-angiotensine-aldostérone

L'effet bénéfique du blocage du système rénine-angiotensine-aldostérone sur le remodelage ventriculaire gauche a été bien démontré. Le rôle des inhibiteurs de l'angiotensine chez les patients avec une défaillance ventriculaire droite induite par l'HTAP reste inconnu. Dans une première étude chez 4 patients atteints d'HTAP, un traitement de 4 jours de captopril

était associé à la baisse des pressions pulmonaires et une augmentation de la fraction d'éjection ventriculaire droite chez 3 patients³¹⁸. Une seconde étude sur le captopril ne retrouvait pas d'amélioration de la tolérance à l'effort après 12 semaines de traitement³¹⁹. Les résultats provenant d'études expérimentales sont également controversés. Si l'administration de ramipril était associée à une amélioration de la fonction systolique dans un modèle de banding de l'AP chez le lapin, aucun effet n'a été observé dans plusieurs autres études^{218, 219}.

b. Modulation du métabolisme énergétique

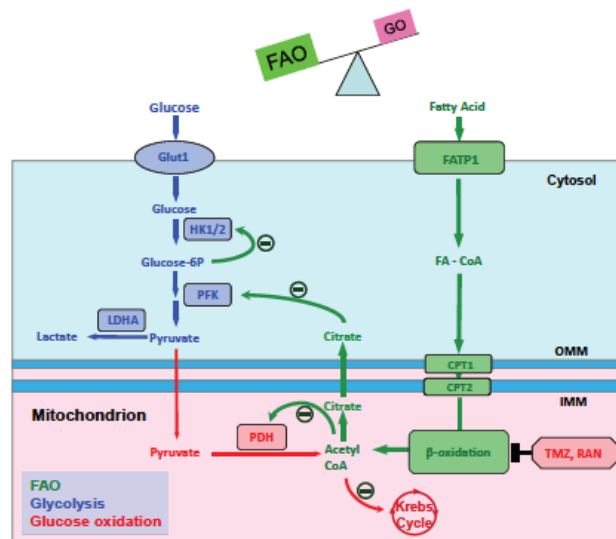
i. Réversibilité du shift glycolytique : Le dichloroacétate

Le dichloroacétate (DCA) est une molécule de petite taille analogue du pyruvate. Elle inhibe les 4 isoformes de la PDK par liaison allostérique sur son site N terminal¹⁷³. Dans les conditions normales la PDK n'est pas activée et le DCA n'a aucun effet métabolique. Dans les conditions pathologiques, en présence de shift glycolytique, le DCA va inhiber la PDK qui est suractivée. Ceci va restaurer l'activité de la PDH et permettre au pyruvate d'être utilisé par le cycle de Krebs. Ainsi, le DCA « redirige » le métabolisme du glucose vers les voies oxydatives. Le DCA était initialement étudié pour son potentiel anti néoplasique (glioblastome) et chez les enfants atteints d'acidose lactique congénitale secondaire à une maladie mitochondriale^{320, 321}. Après la découverte du profil « cancer-like » des cardiomyocytes du VD dans l'HTAP, le DCA a logiquement été étudié dans la défaillance ventriculaire droite. De nombreux travaux sur des modèles HTAP monocrotaline-induite chez le rat ont montré que l'administration orale de DCA est associée à une régression de l'HTAP et une amélioration de la fonction ventriculaire droite^{175, 291, 322, 323}. Entre 2010 et 2014, le DCA fait l'objet d'un essai clinique bicentrique de phase I chez 15 patients atteints d'HTAP avec une classe fonctionnelle WHO III et IV (<http://www.clinicaltrials.gov> NCT01083524). L'objectif primaire de cet essai est d'évaluer la tolérance et la sécurité de l'administration orale de DCA pendant 16 semaines DCA chez ces patients. Les objectifs secondaires consisteront à évaluer l'effet du DCA sur la fonction ventriculaire droite et les résistances pulmonaires. Les essais sur le DCA en oncologie rapportaient peu d'effet secondaire du DCA. Quelques cas de neuropathie réversible ont été rapportés chez les patients recevant des hautes doses de DCA.

ii. Inhibition de la β -oxydation des acides gras : Ranolazine et trimétazine

Dans le ventricule gauche et en conditions ischémiques, la β -oxydation des AG semble la voie privilégiée pour la production d'ATP. Ceci a pour conséquence une augmentation de la consommation en oxygène du fait de la moins bonne rentabilité de cette voie. De plus, l'augmentation de la β -oxydation des AG entraîne une diminution de l'utilisation des voies oxydatives du glucose ; ce phénomène est appelé cycle de Randle (**Figure 33**). Certaines données expérimentales suggèrent que ce mécanisme est impliqué dans le développement de la défaillance ventriculaire droite^{212, 324}. La ranolazine et la trimétazine sont des molécules anciennes utilisées dans le traitement de l'angor chez les patients atteints de cardiopathie ischémique. En inhibant partiellement la β -oxydation des acides gras, elles permettent une restauration de l'utilisation des voies oxydatives du glucose. Bien que peu de données existent sur l'oxydation des acides gras dans la défaillance ventriculaire droite chez les patients atteints d'HTAP, il semble que son inhibition ait un bénéfice potentiel sur des modèles animaux. L'administration orale de ranolazine est associée à une augmentation de la production d'ATP, une amélioration de la tolérance à l'effort, une augmentation de la consommation en oxygène, une diminution des radicaux oxydatifs et une augmentation du débit cardiaque chez un modèle de rat avec banding de l'AP^{212, 324}. Son bénéfice chez les patients atteints d'HTAP reste à prouver. La ranolazine fait actuellement l'objet d'un essai clinique de phase 1 (<http://www.clinicaltrials.gov> NCT01757808).

Figure 33 : Relation entre la β -oxydation des acides gras et les voies glycolytiques et oxydatives du glucose. En inhibant partiellement la β -oxydation des AG, la trimetazine et la ranolazine restaurent le métabolisme oxydatif du glucose³²⁵.



iii. Dynamique mitochondriale

L'ischémie ventriculaire droite est associée à des lésions mitochondriales dont les mécanismes sont multiples : dépolarisation membranaire, ouverture du pore de transition mitochondrial, fission, œdème mitochondrial et altération de la cristae. Parmi ces mécanismes, la fission mitochondriale semble jouer un rôle important dans la survenue de la défaillance ventriculaire. La dynamin-related protein 1 (Drp1) est une protéine qui, une fois activée et liée à la fission protein 1 (Fis1), est capable d'induire le phénomène de fission mitochondriale¹¹¹. Il semble que Drp1 soit augmenté dans le ventricule droit ischémié et soit associé à une dysfonction diastolique. Tian et al ont montré récemment que l'inhibition de l'action de Drp1 par deux mécanismes différents (inhibition directe par une protéine Mdivi1, et inhibition de l'interaction Drp1 et de Fis1 par un peptide P110), améliorait la fonction diastolique ventriculaire droite dans un modèle d'ischémie-reperfusion ventriculaire droit sur des rats HTAP (monocrotaline)³²⁶.

3) Assistance circulatoire mécanique de longue durée du ventricule droit défaillant

Lorsque la défaillance cardiaque droite devient trop sévère et que le traitement médical ne suffit plus, il devient nécessaire de supporter le ventricule droit avec une pompe mécanique. Lors de la survenue d'une défaillance aigüe, des assistances circulatoires de courte durée sont en générale utilisées. Elles peuvent être mise en place chirurgicalement ou de manière percutanée. L'ECMO (Extracorporeal membrane oxygénation) veino-artérielle, l'Impella RD, le TendemHeart sont celles les plus utilisées dans le cadre de l'assistance circulatoire aigüe. Une revue très complète sur l'assistance circulatoire mécanique de la défaillance ventriculaire droite aigüe a récemment été publiée par Kapur et al¹²⁷. Nous aborderons brièvement quelques particularités de l'assistance circulatoire au long court du VD défaillant.

L'objectif de l'assistance circulatoire droite est de décharger les cavités droites en prenant du sang directement dans l'oreillette droite ou le ventricule droit et de le réinjecter dans la circulation pulmonaire (via l'artère pulmonaire ; assistance droite-droite) ou l'oreillette gauche. La mise en place d'une assistance droite est toujours réalisée soit dans l'attente d'une récupération de la fonction du VD, soit en attente de transplantation. Aucun dispositif n'est encore disponible pour une assistance définitive du cœur droit. Seuls deux dispositifs sont approuvés pour une assistance temporaire du VD : (1) la pompe pneumatique pulsatile Thoratec PVAD (paracorporeal ventricular assist device), utilisée en assistance de moyenne durée en attente de transplantation et (2) la pompe centrifuge CentriMag (Thoratec), utilisée pour un support de plus courte durée (30 jours) en attente de récupération, de transplantation ou d'assistance de plus longue durée (uni ou biventriculaire).

La plupart des dispositifs d'assistance circulatoire de longue durée ont été élaborés pour supporter le cœur gauche et sont implantés chirurgicalement. Quelques cas ont été rapportés avec l'utilisation du HVAD (HeartWare Inc), du HeartMate II (Thoratec Corporation) et du Jarvik.

Il est important de prendre en considération les particularités physiologiques et techniques de l'assistance du VD comparé à celle du VG. Le débit ou flux sanguin (Q) généré par une pompe à flux continu (axiale ou centrifuge) est dépendant de 3 paramètres : la précharge, la postcharge de la pompe et le nombre de tours par minute. La précharge et la postcharge

correspondent à la pression dans la cavité dans laquelle la canule d'admission et d'éjection sont insérées, respectivement. Le gradient de pression postcharge – précharge détermine l'index H. Le flux sanguin dans la pompe est inversement proportionnel à H : plus H est petit, plus le flux sera important. Ainsi, à gauche, le flux dans la pompe est maximal en diastole, lorsque la pression intraventriculaire est basse. A droite, en l'absence d'HTAP, le gradient de pression entre l'OD et l'AP est faible, l'index H est donc bas ce qui permet à la pompe de générer un flux élevé. En présence d'HTAP, la différence de pression augmente réduisant ainsi le flux dans la pompe à flux continu. En résumé, en présence d'HTAP, les pompes centrifuges et axiales à débit continu ne fonctionnent pas de manière optimale. Le fait que les machines soient élaborées pour l'assistance du VG, avec un régime à haute pression et haute résistance engendre des complications potentielles lors de leur utilisation pour supporter la circulation droite (à basse pression et faibles résistances). L'une de ces complications sont les phénomènes de succion de la canule d'admission. Ils sont limités par l'utilisation de rehausseur de canule d'admission afin que celle-ci ne fasse pas protrusion dans la cavité droite. La postcharge de la machine peut être augmentée en réduisant de 50% le diamètre de la canule d'éjection, ce qui augmente les résistances à un niveau proche de celui de la circulation gauche.

Tableau 16 : Récapitulatif des différentes thérapeutiques dans la défaillance ventriculaire droite.

Aspects de la défaillance droite	Principes et Traitements
<i>Augmentation du stress pariétal</i>	
Excès de postcharge (HTAP)	<p><i>Médical</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Bloqueurs des canaux calciques Inhibiteurs de la PDE 5 Antagonistes de l'endothéline 1 Analogues des prostacyclines NO <p><i>Chirurgical</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Endartériectomie des artères pulmonaires Angioplastie des artères pulmonaires Transplantation pulmonaire
Excès ou défaut de précharge	<ul style="list-style-type: none"> Diurétiques Optimisation volémique Septostomie atriale (Rashkind)
<i>Déséquilibre consommation / apport O₂ ou ischémie myocardique</i>	
Augmentation de la consommation en O₂	<ul style="list-style-type: none"> Bétabloquants (Bisoprolol, carvédilol) Réduction de la tension pariétale

Baisse de la perfusion coronarienne droite	Maintien de pression de perfusion > 50 mm Hg Vasopresseurs Réduction de l'hypertrophie ventriculaire droite Traitement des lésions athéromateuses (angioplastie, stents)
Raréfaction capillaire	Stimulation de l'angiogenèse Micro RNA-126 Apport en fer (diffusion de la myoglobine) ↑ expression de PGC-1 α
<i>Anomalie mitochondriale</i>	
Shift métabolique	Augmentation de l'oxydation du glucose -Dichloroacétate Réduction de la β -oxydation des AG -Ranolazine, trimétazine
Anomalie de la biogénèse Fission-fusion	Amélioration de la biogénèse mitochondriale (Ventura clavier, 2008 targeted) Inhibiteur de Dynamin-related protein 1 Mdivi-1 et P110 ↑ expression de PGC-1 α
<i>Baisse de contractilité myocardique</i>	
Asynchronisme	Resynchronisation cardiaque
Fibrose	IEC, bêtabloquants, analogue des prostacyclines
Défaillance terminale	Assistance mécanique, Grefe cardiaque ou cœur poumon
<i>Activation du système neuro-hormonal</i>	
Système rénine-angiotensine-aldostérone	Inhibiteur de l'enzyme de conversion
Hyper adrénergisme	Bêtabloquants
<i>Inflammation</i>	
Augmentation des ROS	Chélateur de radicaux libres (SS31) (Dai 2011 peptide)
↑ TNF-α, IL-6	Resveratrol (Csiszar 2009, Resveratrol)

HYPOTHESES ET OBJECTIFS DE RECHERCHE

Hypothèses et objectifs de recherche

Objectifs généraux :

L'objectif général de cette thèse était d'étudier les mécanismes de défaillance du ventricule droit dans l'HTAP, en nous focalisant sur les causes et les conséquences mitochondriales de l'ischémie myocardique. Nous avons mené une étude translationnelle du ventricule droit soumis à une surcharge chronique de pression afin de mieux comprendre les mécanismes de la transition de la phase adaptée à la phase non adaptée. Le premier axe de recherche concernait le rôle de la raréfaction capillaire dans la défaillance ventriculaire droite et sa relation avec la charge ventriculaire. Dans un deuxième temps, nous avons analysé la densité capillaire sur le ventricule droit défaillant de patients atteints d'HTAP et de syndrome d'Eisenmenger traités par transplantation cœur-poumon. Enfin, nous nous sommes focalisés sur l'étude des capacités respiratoires mitochondriales au cours de l'installation de la défaillance ventriculaire droite grâce à la technique de mesure in situ des capacités respiratoires mitochondriales sur fibres perméabilisées. Ainsi, nous avons analysé l'utilisation de différents substrats énergétiques par les mitochondries.

La première partie de ce travail a été effectuée sur deux modèles porcins d'HP différents. La deuxième partie a été réalisée sur des tissus humains de cœur explantés lors des transplantations cœur-poumon pour HTAP dans le service de chirurgie thoracique de Marie Lannelongue. Le Laboratoire de Recherche Chirurgicale est situé au sein du Centre Chirurgical Marie Lannelongue qui est actuellement le seul centre français et un des plus importants au niveau mondial pour le traitement chirurgical de l'hypertension pulmonaire post-embolique. L'équipe du laboratoire est composée en grande partie de chirurgiens et travaille en étroite collaboration avec les cliniciens. Le laboratoire a donc la possibilité de travailler sur des prélèvements tissulaires humains de patients atteints d'HTAP.

Enfin, dans la troisième partie de cette thèse, nous avons utilisé le modèle d'HPPE mis au point dans le laboratoire afin d'étudier les capacités respiratoires mitochondriales au cours de remodelage ventriculaire droit induit par une surcharge chronique de pression.

Les objectifs spécifiques de chaque étude seront rappelés dans la partie résultats.

MATERIEL ET METHODES

Matériel et méthodes

Dans cette section, nous détaillerons les différentes méthodes et techniques utilisées au cours de ce travail de thèse. Le design expérimental de chaque étude sera expliqué séparément dans chaque article.

I. Modèles porcins d'hypertension pulmonaire chronique étudiés

a. Justification et réglementation sur l'expérimentation

Un des objectifs de cette thèse était de reproduire le plus fidèlement possible la physiologie humaine de la dysfonction ventriculaire droite secondaire à une surcharge chronique de pression afin de pouvoir en étudier tous ses aspects. L'étude avancée de la fonction ventriculaire droite, de la microvascularisation du VD et du métabolisme mitochondrial du VD nécessitent de réaliser des examens invasifs et des prélèvements biologiques et tissulaires qui ne sont pas réalisables chez l'humain dans le cadre de la recherche (exemple : mesures des courbes pression-volume, réalisation de biopsies myocardiques répétées). L'ensemble des expérimentations rapportées dans cette thèse a respecté les règles d'expérimentation décrites dans les recommandations internationales (*Guidelines for the Care and Use of Laboratory Animals* » développées par le *National Institutes of Health*), ainsi que les principes de soins des animaux de laboratoire (*National Society for Medical Research*). Les protocoles de recherche sur l'animal ont été validés par le comité scientifique de notre institution (Hôpital Marie Lannelongue). Tout au long de ces travaux, nous nous sommes attachés à respecter la règle des 3R (réduire, raffiner, remplacer).

Les animaux utilisés étaient des porcelets de l'espèce Large White âgés de 2 mois environ, sevrés du lait maternel, de sexe masculin exclusivement et pesant en moyenne 20 Kg. Ils ont été conservés au sein de l'animalerie du laboratoire de recherche pendant toute la durée des protocoles

b. Généralités sur les modèles animaux d'hypertension pulmonaire et de remodelage ventriculaire droit

Plusieurs modèles expérimentaux de surcharge de pression du ventricule droit ont été rapportés et ont fait l'objet de revues de la littérature récentes^{73, 327}. Brièvement, nous

pouvons distinguer les modèles dont la surcharge de pression est induite pharmacologiquement, suite à une intervention chirurgicale, ou de manière transgénique. Les mécanismes causals du remodelage et de la dysfonction ventriculaire droite varient grandement selon les modèles et il est primordial de prendre en compte ces différences dans l'interprétation et la synthèse des données issues de ces modèles. En effet, l'induction d'une HP par ischémie ou par des molécules pharmacologiques utilisées chez le petit animal, dont la monocrotaline en chef de file, induisent également une toxicité myocardique intrinsèque, indépendamment des conditions de charge du ventricule droit. A l'opposé, un cerclage isolé de l'artère pulmonaire entraîne une surcharge de pression « pure » pour le ventricule droit si l'on fait abstraction du stress chirurgical. Parallèlement au mécanisme d'induction (ischémique, inflammatoire, toxique, hypoxique ou mécanique), il faut également prendre en compte la vitesse d'installation de la surcharge de pression (aigüe versus chronique), sa sévérité, l'âge et le sexe de l'animal³²⁸. Globalement, il semble que l'atteinte primitive de la vascularisation pulmonaire soit associée à un remodelage plus volontiers maladaptatif et certaines données suggèrent qu'une élévation isolée de la post charge du VD ne suffirait pas à elle seule à induire sa défaillance²²⁰.

Dans ce travail de thèse, nous nous sommes focalisés sur les mécanismes impliqués dans le développement de la dysfonction ventriculaire droite lorsqu'il est soumis à une surcharge chronique de pression. Pour cela, nous avons utilisé deux modèles porcins différents d'hypertension pulmonaire chronique induite de manière chirurgicale. Ces deux modèles ont pour avantage de reproduire fidèlement la physiopathologie humaine sans induire de toxicité myocardique intrinsèque. Le premier est un modèle d'hypertension artérielle post-embolique (modèle CTEPH), le second est un modèle de shunt systémique-pulmonaire (modèle SHUNT).

c. Prise en charge anesthésique et soins post opératoires des animaux

Toutes les procédures ont été réalisées sous anesthésie générale balancée (animaux sédaturés, analgésifiés et curarisés). La prémédication fut administrée par injection intramusculaire Kétamine (20 mg/kg, Ketamine® 1000 Vibrac) et Xylazine (2mg/kg Rompun). L'induction de l'anesthésie générale et la prévention des infections du site opératoire furent réalisées comme suit : injection intraveineuse de Propofol (3 mg/kg, PROPOVET® 10mg/ml) Cisatracurium IV (0,3 mg/kg NIMBEX®, 2mg/ml) et de sufentanil (10 microg/kg/h) ; rasage et

lavage chirurgical des zones chirurgicales ; antibioprophylaxie intramusculaire per opératoire par une injection de 4000UI/kg de gentamycine (VETRIGEN, SEVA Santé animale). L'entretien de l'anesthésie a été réalisé avec du Sevoflurtane inhalé 2% (SEVORANE®) et renouvellement des injections de cisatracurium (0,3 mg/kg) et de sufentanil (0,2mg/kg), toutes les 2 et 4 heures respectivement. Les conditions d'asepsie chirurgicales-ont été respectées et le matériel utilisé était stérilisé avant chaque procédure. Pour la surveillance per opératoire, les pertes sanguines lors de l'intervention ont été compensées par injection d'un volume équivalent de Ringer lactate. Les animaux étaient placés sur un matelas chauffant durant toute la période d'anesthésie. La prise en charge de la douleur post opératoire comprenait des antalgiques par injections intra-musculaires de 0,02 mg/kg de buprenorphine (3 fois par jour pendant 5 jours) et de ketoprofen 2mg/kg pendant 3 jours et une antibioprophylaxie Gentamycine 4000 UI/Kg/jour en IM pendant 5 jours. La surveillance post-opératoire était réalisée en salle de réveil, les animaux étaient isolés pendant 24 à 48 heures après chaque procédure, et des lampes chauffantes étaient mises en œuvre. Une surveillance biquotidienne était instaurée par les techniciens animaliers du laboratoire pendant toute la durée de l'expérimentation afin de détecter la survenue d'un éventuel point limite. Les animaux ont été pesés de manière hebdomadaire et à la moindre suspicion de perte de poids.

d. Modèle porcin d'hypertension artérielle post-embolique : le modèle CTEPH

L'objectif de ce modèle est de reproduire l'HPPE chronique afin d'obtenir un remodelage et une dysfonction ventriculaire droite après 5 semaines environ. Sa réalisation consiste à réduire progressivement le lit vasculaire pulmonaire, d'abord par une ligature de l'artère pulmonaire gauche puis par une série d'embolisations de l'artère pulmonaire inférieure droite (**Figure 34**).

Ce modèle a été élaboré au sein du Laboratoire de Recherche Chirurgicale de l'Hôpital Marie Lannelongue par Mercier O et al. Il reproduit fidèlement la physiopathologie de l'HPPE, en associant sur le même animal des territoires vasculaires pulmonaires obstrués et des territoires non obstrués, sièges d'une vasculopathie d'hyperdébit^{329, 330} (**Figure 35**). Il est à noter que dans nos études, nous avons modifié l'approche chirurgicale de la ligature de l'artère pulmonaire gauche, initialement décrite par sternotomie médiane. Nous avons privilégié une

thoracotomie gauche afin de préserver l'intégrité du sac péricardique et de conserver ainsi l'interdépendance VD – péricarde.

Le premier temps consistait donc à lier le tronc de l'artère pulmonaire (AP) gauche dans sa portion extra péricardique à l'aide d'un lac en tissu non résorbable (Surgical Loop, 75cm, 4mm, B-Braun, Tuttlingen, Allemagne). Une thoracotomie gauche dans le 5ème espace inter costal était réalisée comme voie d'abord. La veine azygos était préservée afin de ne pas créer de thrombose et d'embolie pulmonaire. Une fois le geste réalisé, le thorax était refermé plan par plan à l'aide de fils tressés à résorption lente (Vicryl®). Un drain thoracique était laissé en place jusqu'à l'extubation du cochon. De manière intéressante, la ligature seule de l'artère pulmonaire gauche est bien tolérée au niveau hémodynamique et respiratoire et n'induit pas à elle seule une hypertension artérielle pulmonaire³³¹, justifiant donc le deuxième temps de la création du modèle.

Dans un second temps, l'induction progressive d'une HP nécessitait l'embolisation des artères segmentaires du lobe inférieur droit. Une colle tissulaire à polymérisation rapide fut employée (Histoacryl®, B-Braun, Tuttlingen, Allemagne). Ce monomère composé de n-butyl-2-cyanoacrylate polymérise en présence de liquide biologique (plasma) pour former une substance solide capable d'occlure les lumières vasculaires. L'Histoacryl® doit préalablement être mélangé à un corps gras, le lipiodol, dont le pouvoir de saponification prévient la coagulation accidentelle du matériel d'embolisation à chaque injection du produit. Le lipiodol est une huile iodée qui permet, en plus de sa fonction de vecteur, d'opacifier les territoires artériels obstrués à chaque injection (**Figures 34 et 35**). Le contrôle radioscopique instantané en salle d'opération permettait d'observer la topographie des territoires ainsi embolisés. Cinq séances d'embolisation furent réalisées à raison d'une séance par semaine. Le cathétérisme sélectif de l'artère lobaire inférieure droite du cochon était effectué par ponction percutanée de la veine cave supérieure (VCS) (**Figure 34**). Celle-ci était ponctionnée à l'aide d'un cathlon vert de 18 gauges puis cathétérisée selon la technique de Seldinger pour la mise en place d'un introducteur de 8 French à usage unique (Radiofocus Introducer II, Terumo®). Nous piquions à 4 cm au-dessus de la fourchette sternale, selon une direction oblique vers la région caudale de 45° par rapport à la verticale. Une sonde type vertébrale 7 Fr. (Angiographic cathéter Radiofocus®, Terumo, Cottontail Lane) était ensuite placée dans les cavités droites en se guidant par les variations de pression intra cavitaire. L'extrémité du cathéter était placée dans l'artère pulmonaire droite sous contrôle radioscopique. La valeur de 20 mm Hg constituait le

premier palier de PAPm à atteindre dans notre protocole lors de la première embolisation. Les doses à administrer étaient variables selon l'animal mais le plus souvent 0,2 à 0,4 ml d'un mélange équimolaire d'Histoacryl® et de lipiodol suffisait pour atteindre ce premier seuil en fin de procédure. L'effet occlusif résiduel n'était apprécié que la semaine suivante lors de la prise des mesures hémodynamiques précédant la nouvelle embolisation. Chaque injection doit se faire en surveillant la tolérance hémodynamique, rythmique et respiratoire de l'animal car une variation brutale des résistances vasculaires pulmonaires peut être mal supportée par un ventricule droit non entraîné. C'est la raison pour laquelle des paliers de pression artérielle pulmonaire progressivement croissants ont été fixés de façon à laisser le temps au muscle cardiaque de s'adapter à l'augmentation de sa postcharge puis évoluer en cœur pulmonaire chronique en quelques semaines. Le protocole détaillé de la création du modèle et son évaluation multimodale a fait l'objet d'une publication reliée à cette thèse (ANNEXE).

Figure 34 : Modélisation de l’hypertension artérielle post-embolique chez le porcelet. (a) La réduction du lit vasculaire pulmonaire est réalisée en 2 temps (d) : ligature de l’artère pulmonaire gauche par thoracotomie (c) : vue intra opératoire) suivie de 5 embolisations de l’artère pulmonaire inférieure droite (b) : matériel radio opaque composé d’un mélange de lipiodol et d’Histoacryl dans l’AP inférieure droite en scopie). L’ensemble des cathéters ont été insérés de manière percutanée sous guidance échographique selon la méthode de Seldinger (e) : Swang-Ganz (*étoile*) et cathéter de mesure invasive de pression artérielle ; (f) : cathéter de PiCCO et cathéter du ballon d’occlusion de la veine cave inférieure (*étoile*)).

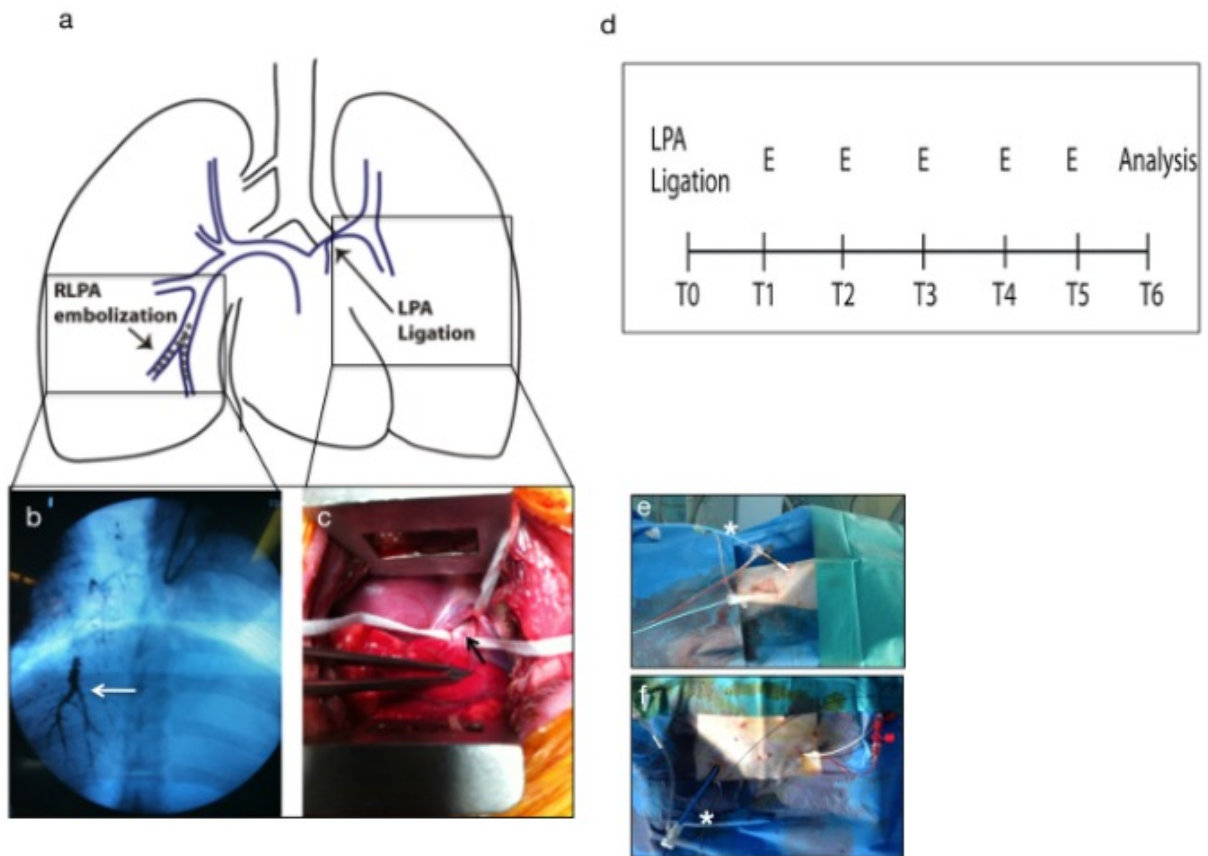
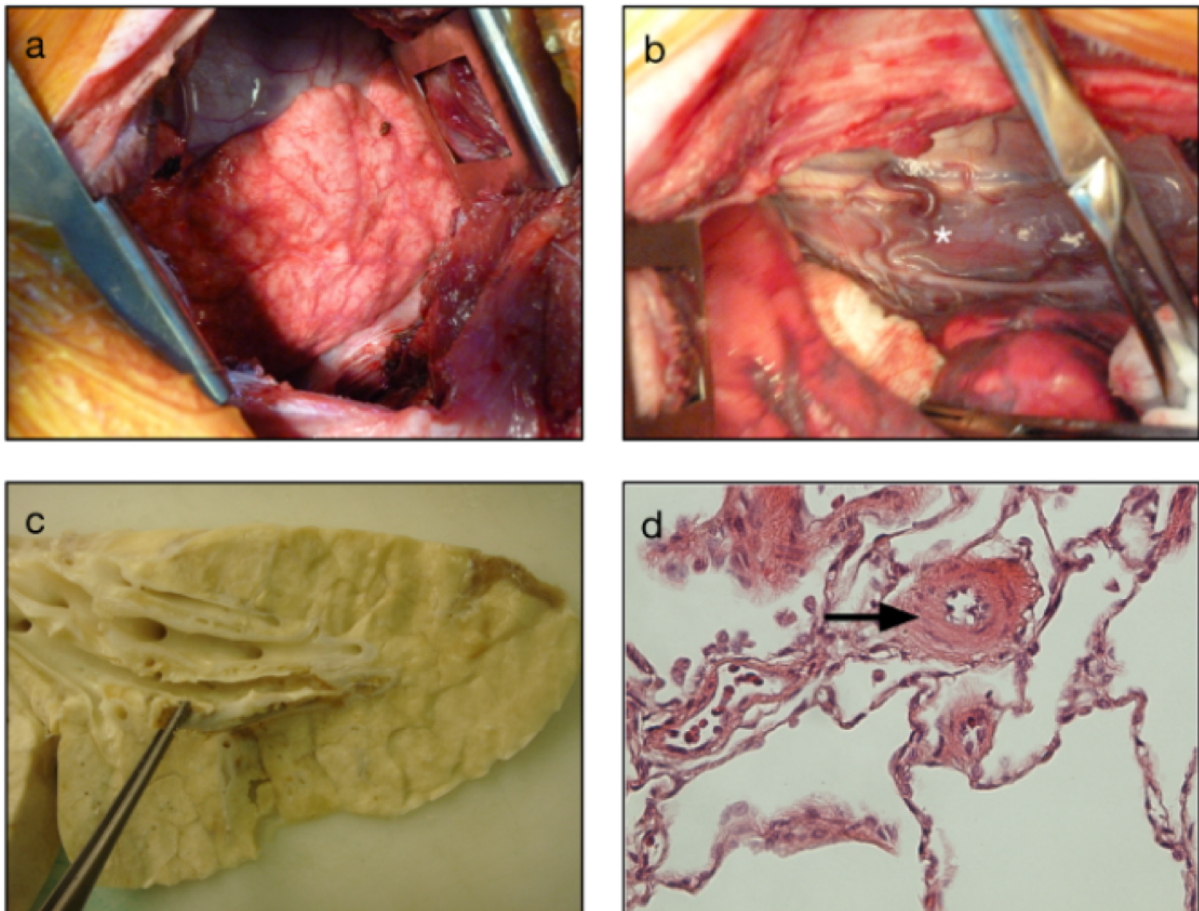


Figure 35 : Reproduction de la physiopathologie de l'HPPE dans le modèle CTEPH. (a et b) L'obstruction chronique de l'AP gauche entraîne une néo vascularisation pleurale et bronchique bien visible macroscopiquement sur ces vues opératoires. (C) Le séquestre intra vasculaire est composé d'Histoacryl et de thrombus organisé dans l'AP inférieure droite. Le lit vasculaire pulmonaire non obstrué est le siège d'une vasculopathie d'hyperdébit avec épaissement de la média des artérioles (*flèche*) (d).

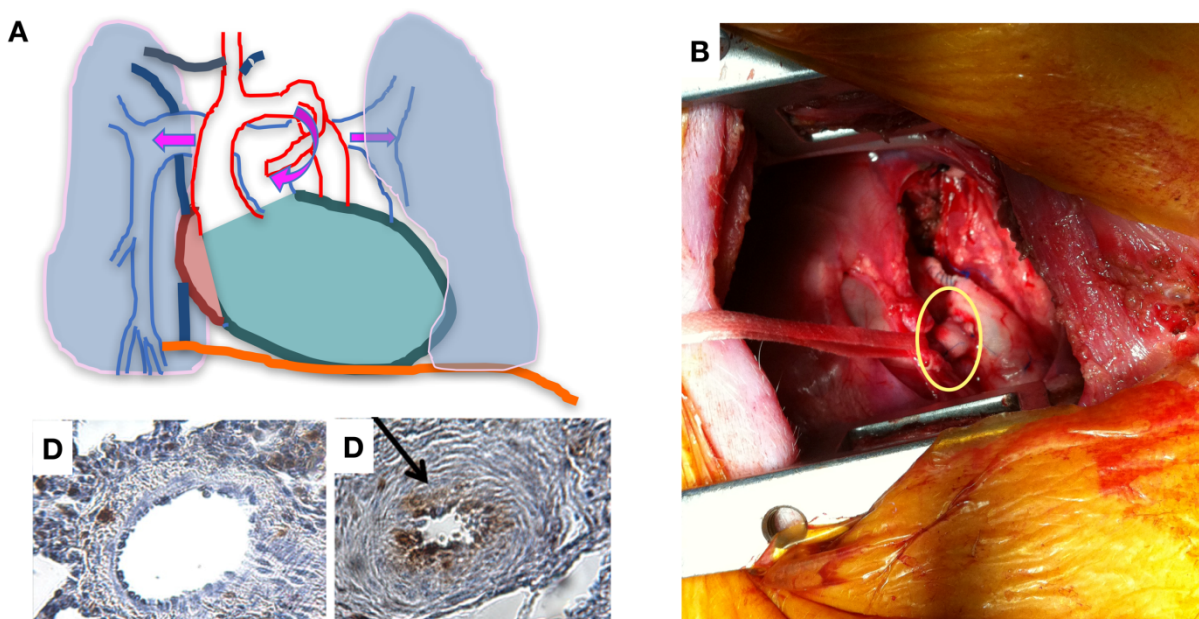


e. Le modèle de shunt systémique-pulmonaire : le modèle SHUNT

L'objectif de ce modèle est d'induire un hyperdébit vasculaire pulmonaire qui entraîne un remodelage des artérioles pulmonaires, une augmentation progressive des résistances pulmonaires et une dysfonction ventriculaire droite. Le shunt gauche-droit ou systémique-pulmonaire réalisé entre l'aorte thoracique et le tronc de l'AP reproduit la physiologie d'un canal artériel persistant de gros diamètre. Le débit intra shunt doit être suffisant afin d'entraîner une HP secondaire au remodelage des vaisseaux pulmonaires. La survenue de la défaillance droite dans le modèle de shunt par réimplantation de l'artère sous-clavière gauche dans l'artère pulmonaire utilisé par Rondelet et collègues³³²⁻³³⁵ est tardive (plus de 3 mois).

C'est pourquoi nous avons pris le parti de réaliser un shunt gauche-droit en effectuant un pontage entre l'aorte thoracique et l'AP afin d'accélérer le processus de remodelage vasculaire (**Figure 36**). C'est un modèle dit adaptatif, avec survenue d'une dysfonction et d'une défaillance après plusieurs mois.

Figure 36 : (a) Modélisation de l'HP par hyperdébit pulmonaire secondaire à un shunt gauche-droit entre l'aorte thoracique et le tronc de l'AP. (b) Vue intra opératoire après réalisation du pontage entre l'aorte thoracique et l'AP (*cercle*). (c et d) L'augmentation de débit chronique induit une vasculopathie avec épaissement de la média et réduction de la lumière des artérioles pulmonaires.

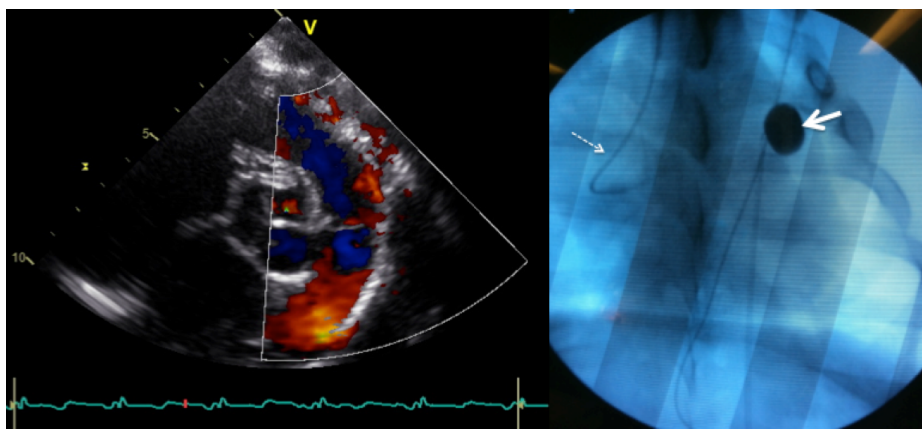


L'intervention chirurgicale consistait à prélever le tronc artériel supra aortique gauche du cochon et à faire un pontage entre la crosse aortique et le tronc de l'AP en extra péricardique. La procédure chirurgicale est une variante de la technique décrite par Helen Taussig et Alfred Blalock décrite dans les années 1940³³⁶. Après une thoracotomie latérale gauche dans le 5ème espace intercostal, nous disséquons et contrôlions la crosse et l'aorte thoracique descendante. La veine azygos était mise sur lac et conservée. Le tronc artériel supra aortique gauche était disséqué jusqu'à sa trifurcation en distalité et les nerfs phrénique et vague gauches étaient respectés. L'artère pulmonaire gauche était disséquée dans sa portion intra et extra péricardique. Après injection d'un bolus intraveineux d'héparine sodique (0,5mg/Kg), la crosse aortique était clampée latéralement, au pied du TAG qui fut lié en distalité

au vicryl 2/0 renforcé d'un clip sur le moignon distal. Le tronc artériel supra aortique gauche était sectionné et prélevé. L'ostium de celui-ci était fermé par un surjet aller-retour au prolène 4/0 aiguille 17mm. Le greffon avait une longueur de 1 cm environ pour un diamètre de 6 à 8 mm selon les animaux. Après le repérage du site d'implantation du pontage, l'aorte thoracique était clampée latéralement 1 cm juste avant l'isthme aortique, en dessous de la naissance du tronc artériel gauche. Après une aortotomie au bistouri lame n°11 et complétée à l'Aortic-punch 4mm, nous obtenions un orifice de 10mm de diamètre sur l'aorte. L'anastomose latéro-terminale était réalisée avec un prolène 7/0.

On se portait ensuite sur l'artère pulmonaire qui était clampée latéralement. Après vérification de la bonne tolérance hémodynamique, une artériotomie identique à celle de l'aorte était réalisée. L'anastomose termino-latérale était effectuée avec un prolène 7/0. La brèche péricardique était refermée par un court surjet de vicryl 3/0. La thoracotomie était fermée plan par plan sur un redon retiré après extubation. La perméabilité du shunt était confirmée par la présence d'un thrill palpable et audible au stéthoscope. Son débit était mesuré directement en per opératoire par une sonde de flux (Transonic® system Inc) et indirectement par la méthode de Fick. La perméabilité du shunt était également évaluée en fin d'expérimentation par échographie et par angiographie (**Figure 37**).

Figure 37 : La perméabilité du shunt pouvait être évaluée en échographie transthoracique par la visualisation d'un jet systolo-diastolique dans le tronc de l'AP et dirigé vers la valve pulmonaire qui est étanche (a). Afin d'éviter le biais de mesure lié à la présence du shunt gauche droit lors de la mesure des courbes pression-volume et des débits cardiaques, le pontage était occlus par un ballon d'occlusion percutané (b).



II. Etude du remodelage anatomique et fonctionnel du ventricule droit

a. Etude hémodynamique par cathétérisme cardiaque droit

Lors de chaque procédure, un introducteur de 8 French était mis en place dans la VCS (Radiofocus Introducer II, Terumo.) selon la technique de Seldinger. Une sonde de Swan-Ganz de 7,5 French (Edwards Lifesciences., Irvine, USA) était introduite dans les cavités droites et son extrémité était placée dans l'artère pulmonaire sous contrôle radioscopique. La pression veineuse centrale (PVC) ou pression auriculaire droite (POD), la PAP systolique (PAPs), diastolique (PAPd) et moyenne (PAPm) étaient relevées en télé-expiration sous FiO₂ 21%. Le débit cardiaque (DC) était obtenu par la méthode de thermodilution directe (Vigilance Monitor VGS2V, Edwards Lifesciences., Irvine, Etats Unis d'Amérique), avec injection de 10 ml de sérum physiologique glacé à 4°C. La valeur du DC retenue était la moyenne de 3 mesures successives. Les pressions artérielles systémiques systoliques (PAS), diastolique (PAD) et moyenne (PAM) étaient monitorées en continu durant chaque intervention par cathétérisme de l'artère fémorale superficielle installé sous guidance échocardiographique. La PAPm chez un cochon sain est environ 12 mm Hg. Nous avons gardé la définition utilisée en clinique humaine pour diagnostiquer l'HP. La pression artérielle pulmonaire occlusive (PAPO) ou pression capillaire pulmonaire bloquée était mesurée uniquement à T0 (baseline) avant la chirurgie car elle n'est pas fiable dans notre modèle HYPPE. En effet, l'HTAP est forcément pré capillaire dans nos modèles et la sonde de Swan-Ganz est difficile à insérer en distalité à cause de l'obstruction endoluminale. La pression dans l'oreillette gauche (POG) est mesurée directement par cathéter avant sacrifice de l'animal. La résistance pulmonaire totale (RPT) était calculée selon la formule présentée dans le **tableau 1**. Une valeur supérieure à 300 dynes était considérée comme pathologique. A partir de ces données, nous avons calculé l'index cardiaque (IC) et les RPT indexées (RPTI). La SpO₂, la fréquence cardiaque et la capnie étaient mesurées en continu.

Concernant le groupe SHUNT, la mesure du débit cardiaque par les méthodes de thermodilution classique n'est pas fiable à cause de la présence d'un shunt systémique-pulmonaire³³⁷. La méthode de Fick a été utilisée pour calculer l'importance du shunt : après ventilation du cochon en FiO₂ 21%, la saturation en oxygène a été mesurée en simultanément dans l'aorte, le ventricule droit et l'artère pulmonaire en aval du shunt.

Tableau 17 : Paramètres hémodynamiques mesurés et calculés en cathétérisme cardiaque droit.

Paramètres	Formule	Abréviations / unités
Surface corporelle (SC) (m ²)	$(\text{Poids})^{2/3} \times 0,0009$	Poids : gramme
Index Cardiaque (IC) (L/min/ m ²)	DC/ SC	DC : débit cardiaque (L/min)
Résistances Pulmonaires Totales (RPT) (dynes.s.cm ⁻⁵)	$(\text{PAPm} \times 80) / \text{DC}$	PAPm : pression artérielle pulmonaire moyenne (mm Hg) DC : débit cardiaque (L/min)
Résistances Pulmonaires Totales indexées (RPTi) (dynes.s.cm ⁻⁵ .m ⁻²)	$(\text{PAPm} \times 80) / \text{IC}$	IC : Index cardiaque (L/min/m ²)
Importance du shunt gauche-droit	$\frac{Q_p/Q_s}{=}$ $\frac{(\text{SaO}_2 - \text{SvO}_2)}{(\text{SaO}_2 - \text{SpO}_2)}$	SaO ₂ : saturation artérielle en O ₂ SvO ₂ : saturation veineuse en O ₂ SpO ₂ : saturation artérielle pulmonaire en O ₂ Qp : débit pulmonaire Qs : débit systémique

b. Etude échocardiographique

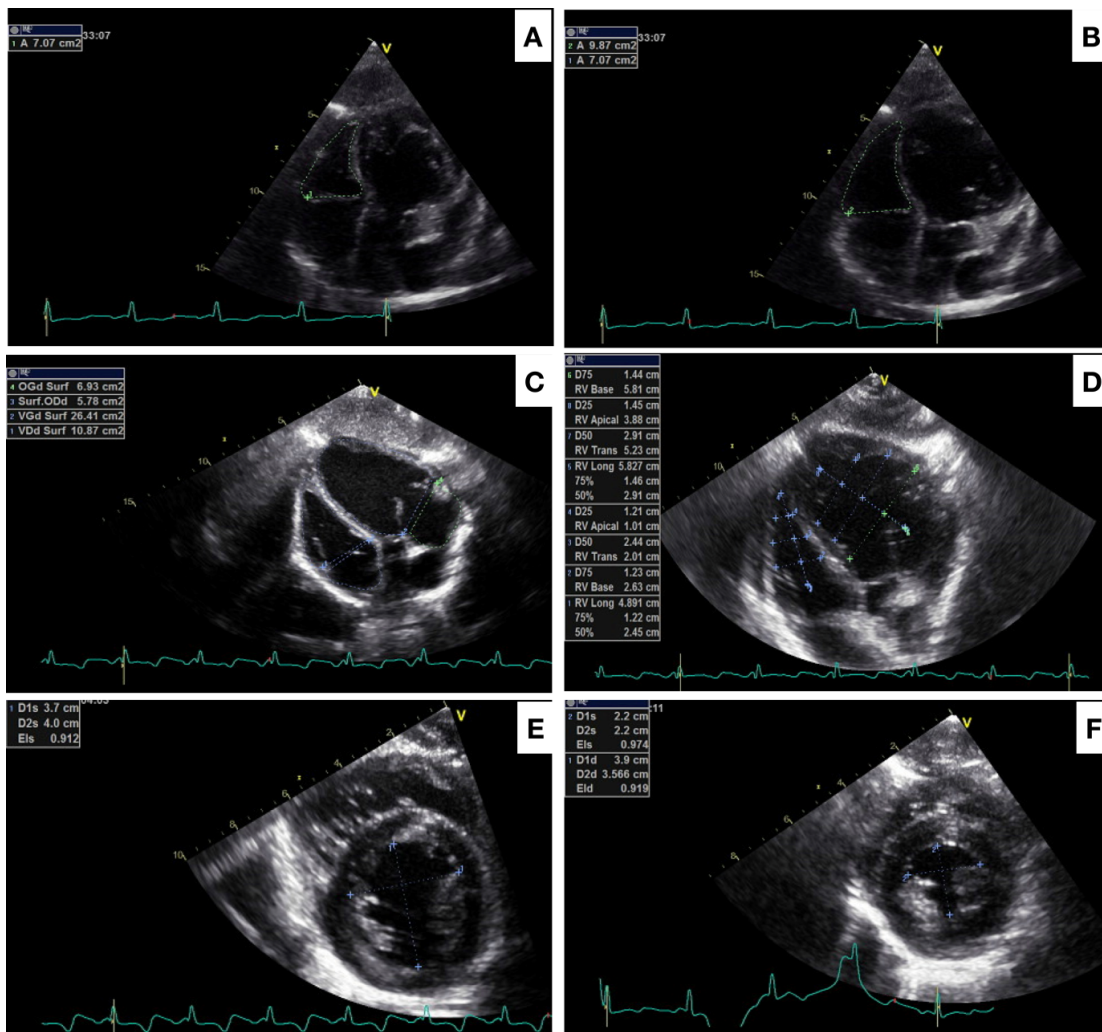
i. Acquisition des images

Nous avons réalisé une évaluation échocardiographique transthoracique de tous les animaux à l'aide d'un échographe Vivid E9® (General Electric Medical System, Milwaukee, WI). L'acquisition des boucles échographiques comprenait au moins 5 battements cardiaques et a été réalisée dans les mêmes conditions pour tous les animaux et à tous les temps : sous anesthésie générale, après curarisation et stabilisation hémodynamique, en pose ventilatoire en télé-expiration. Les modes 2D, et doppler tissulaire ont été utilisés pour les incidences apicale sous-xyphoïdienne (4 ou 5 cavités) et parasternale droite grand et petit axe. Un enregistrement en mode doppler couleur et pulsé des valves tricuspide et pulmonaire a également été effectué selon les mêmes incidences. L'interprétation des boucles échographiques a été réalisée avec un logiciel dédié (EchoPAC® clinical software GE), à distance des acquisitions. Afin de limiter les biais d'interprétation, les images ont été interprétées 2 fois, un intervalle de 1 mois étant observé entre les 2 interprétations. L'analyse du ventricule droit, effectuée selon les recommandations utilisées en clinique humaine reposait sur l'étude de la morphologie du VD, de l'interaction VD-VG et de l'étude de la fonction systolique du VD.

ii. Evaluation du remodelage morphologique en échocardiographie

L'évaluation du remodelage morphologique du ventricule droit comprenait la mesure de l'épaisseur de la paroi libre du ventricule droit en télédiastole. Les surfaces télédiastoliques du VD (STDVD) et du VG (STDVG) ont été mesurées en incidence apicale 4 cavités et le rapport des deux surfaces était calculé. Le diamètre télésystolique basal du VD a également été utilisé comme indice de remodelage structurel. Enfin, la déformation du septum interventriculaire a été évaluée par la mesure de l'indice d'excentricité du ventricule gauche, calculé à partir des diamètres antéro-postérieur et latéro-médian du VG mesurés en fenêtre parasternale court axe (**Figure 38**).

Figure 38 : Evaluation du remodelage morphologique du VD en échocardiographie. Mesure des surfaces télédiastolique (STDVD) et télésystolique du VD (STSVD) (A et B), mesure du rapport de surface VD et VG (c), mesure des diamètres ventriculaires (d) mesure de la déviation septale en systole et en diastole par l'index d'excentricité du VG (e et f).



iii. Evaluation du remodelage fonctionnel en échocardiographie

L'évaluation du remodelage fonctionnel du VD comprenait plusieurs indices utilisés en pratique clinique humaine comme détaillé dans le *chapitre II.3* de l'introduction de cette thèse. A partir de la mesure des surfaces du VD, nous avons calculé le RVFAC selon la formule : (STDVD – surface télésystolique) / STDVD. Il s'agit d'un indice de fonction systolique reproductible et corrélé à la survie des patients atteints d'HP³⁰⁸. Le TAPSE a été mesuré en mode TM au niveau de la paroi latérale de l'anneau tricuspide (**Figure 39**). C'est également un indice courant de dysfonction systolique du VD avec une valeur pronostique démontrée¹⁴⁵. Bien que très utiles, ces deux paramètres ont l'inconvénient d'être influencés par la géométrie et les conditions de charge du ventricule droit. Nous avons mesuré l'indice de performance myocardique du VD (IPMVD) qui est un indice de fonction ventriculaire droite globale ayant pour avantage d'être indépendant des conditions de charges du VD³³⁸ (**Figure 39**). Des travaux récents sur le modèle CTEPH réalisés au sein du laboratoire ont d'ailleurs montré une bonne corrélation entre ces indices (RVFA, RVMPI et TAPSE) avec le couplage ventriculo-artériel⁸².

Enfin, nous avons estimé la fonction ventriculaire gauche par la mesure de sa fraction d'éjection (FEVG) selon la méthode de Teicholz. L'ensemble des paramètres mesurés en échocardiographie est regroupé dans le **tableau 18**.

Figure 39 : Etude échocardiographique du remodelage fonctionnel du VD en échocardiographie.

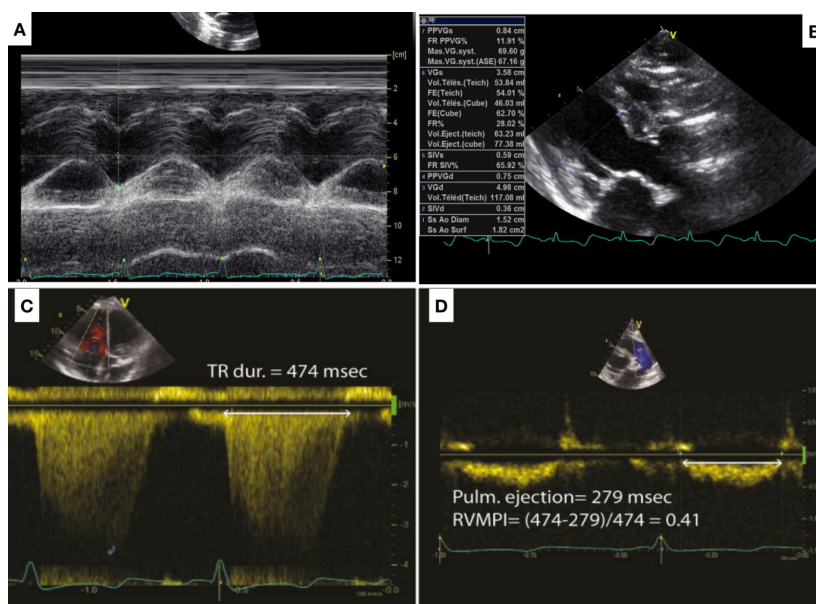


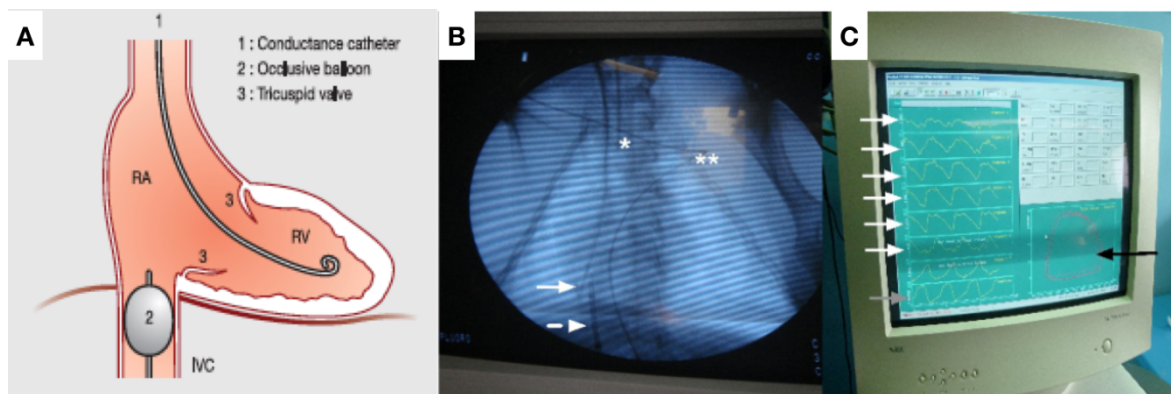
Tableau 18 : Paramètres échographiques mesurés et leurs modalités d'acquisition.

	Paramètres	Incidence et coupe	Mode d'acquisition	Seuil pathologique (<i>chez l'homme</i>)
Analyse morphologique	diamètres basals du VD	Sous xyphoïdienne 4 cavités	2-D	non
	Surfaces VD	Sous xiphoïdienne 4 cavités Parasternal droit Incidence infundibulaire	2-D	non
	Epaisseur VD paroi libre	Parasternal droit Incidence infundibulaire et petit axe	2-D et TM	> 5 mm
Analyse de l'interaction VD-VG	Index d'excentricité VG	Parasternal droit Petit axe	2-D	< 0,95
	Fraction d'éjection VG par méthode de Teicholz (FEVG)	Parasternal droit grand axe	2-D	< 60%
Analyse fonctionnelle systolique	Right ventricular fractional area change (RVFAC)	Sous xyphoïdienne 4 cavités	2-D	< 46%
	Tricuspid Annular plane excursion (TAPSE) latéral	Sous xyphoïdienne 4 cavités	M-mode	< 15 mm
	Index de performance myocardique du VD (IPMVD ou index de Tei)	Parasternal droit Petit axe Incidence infundibulaire	Doppler continu sur valve tricuspide + Doppler pulsé sur valve pulmonaire	> 0,32

c. Mesure des courbes pression-volume par méthode de conductance

Un cathéter de conductance de 4 Fr ou 7 Fr (CD Leycom, Zoetermeer, Pays-Bas) était placé dans le VD par l'intermédiaire de l'introducteur veineux de la VCS. Après vérification de son bon positionnement en scopie, il était connecté à une interface de pression (Sentron pressure interface) et à un module de transmission du signal électrique pour l'analyse des volumes (**Figure 40**).

Figure 40 : Représentation schématique de la position du cathéter de conductance dans le ventricule droit pour l'enregistrement des boucles de pression-volume. (a) Un ballonnet d'occlusion était introduit dans la veine cave inférieure via la veine fémorale afin de stopper le retour veineux et d'abaisser la précharge ventriculaire droite. (b) La vérification du bon positionnement des cathéters était réalisée sous contrôle scopique. (c) Le signal était enregistré sur une console (Conduct NT, CD Leycom, Zoetermeer, Pays-Bas) puis analysé dans un second temps.



Les données étaient recueillies en temps réel grâce à un logiciel dédié (Conduct NT, CD Leycom, Zoetermeer, Pays-Bas). La calibration du cathéter était nécessaire puisque la méthode est basée sur le concept de proportionnalité entre la conductance électrique sanguine et les volumes intra cardiaques. Le cathéter permet un enregistrement continu électrocardiographique endocavitaire et la pression intra-ventriculaire était mesurée par un capteur barométrique ultrasensible de type MILLAR[®]. La conversion de la conductance endocavitaire en signal de volume tenait compte de la distance entre chaque électrode de la sonde, de la résistivité du sang, de la conductance des structures extra cardiaques et du facteur de correction alpha. La résistivité du sang était mesurée à partir d'un échantillon sanguin de 5 ml non hépariné prélevé au niveau de la veine fémorale. La distance entre chaque électrode est de 6 ou 10 mm pour les cathéters de 4 Fr, et de 8 ou 10 mm pour les cathéters de 7 Fr. La mesure du volume de conductance extra cardiaque, appelé volume parallèle (VC), était obtenue après injection d'un bolus de 10 ml de sérum salé hypertonique à 5%. Après correction de la conductance parallèle, le volume mesuré par le cathéter de conductance est proportionnel au volume ventriculaire réel. Cependant la méthode de conductance sous-estime le volume endocavitaire selon un pourcentage variable. Pour corriger cette approximation, le volume d'éjection systolique (VES) obtenu par conductance doit être comparé au VES obtenu simultanément par une autre méthode. Le rapport des 2 mesures

définissait le facteur de correction alpha. Nous avons utilisé une méthode de mesure du débit cardiaque par thermodilution transpulmonaire (PiCCO® system, Pulsion Medical System, Munich, Allemagne). Les acquisitions ont été effectuées durant 5 cycles cardiaques consécutifs sur un animal en pause télé-expiratoire de façon à s'affranchir des variations de précharge induites par la ventilation mécanique. L'interprétation des boucles a été réalisée sur ordinateur avec un logiciel dédié (Conduct NT, CD Leycom, Zoetermeer, Pays-Bas).

Pour le modèle SHUNT, le shunt était occlus par un ballon d'occlusion (ballon dilatation 15mm TYSHAK II®) introduit via l'artère fémorale commune avant la mesure des courbes pression-volume (**Figure 37**). La bonne occlusion du shunt était vérifiée en échographie avant réalisation des mesures de débit par thermodilution.

La séquence d'acquisition des BPV se déroulait comme suit :

- 2 acquisitions au repos sans occlusion, lorsque l'état hémodynamique était stable
- 3 acquisitions au repos avec occlusion de la VCI

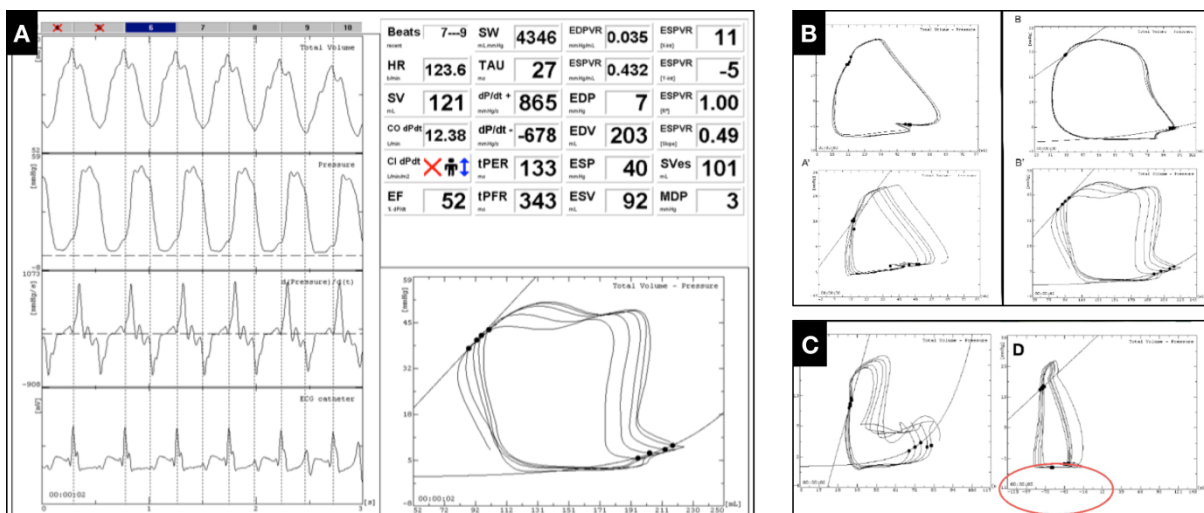
Les critères de validité suivants ont été respectés :

- La pression en fin de diastole est proche de la PVC : $PEDV \approx PVC$
- L'indice d'alignement des points de pression télé systolique est proche de 1 : $\{R\} \approx 1$
- Le volume d'intersection de la droite d'élastance est proche de 0: $V_0 \approx 0$
- La ligne de relation pression volume télé diastolique est présente sur les boucles.

L'étude des relations pression-volume télésystoliques permettait d'établir un index de contractilité ventriculaire : l'élastance ventriculaire télésystolique (Ees). Elle était obtenue par acquisition des boucles en s'affranchissant de la précharge du ventricule droit par occlusion transitoire de la veine cave inférieure (VCI). Un cathéter à ballonnet (Tyshak®, 20 mm; NuMED, Inc, Hopkinton, NY, USA) était ainsi introduit par la veine fémorale droite. L'inflation du ballon à l'aide de 10 ml de produit de contraste iodé (Ioméron., 350 mg d'iode/ml) était effectuée à l'aplomb du diaphragme, en regard de l'abouchement des veines sus-hépatiques, sous contrôle radioscopique. L'occlusion de la veine cave inférieure provoquait le décalage vers la gauche des boucles pression-volume successives. La pente de la droite joignant chaque point télésystolique déterminait Ees (**Figure 41**). Ainsi, la contractilité du myocarde estimée par

E(max), le volume d'éjection systolique (VES), la pression téléstolique du VD (PTSVD) et le Stroke Work (SW) ont été analysés. Le SW correspond à l'aire sous la boucle et représente le travail mécanique généré par le VD. L'élastance artérielle E_a définie selon l'équation : E_a (mm Hg/ml) = PTSVD / VES a été également calculée. Elle caractérise complètement le réseau vasculaire et représente la charge hydraulique à laquelle le ventricule est confronté. A partir de l'élastance ventriculaire (E_{es}) et artérielle, (E_a), l'index de couplage ventriculo-artériel a été calculé selon le rapport E_{es}/E_a . Le couplage ventriculo-artériel est un paramètre important car il est le reflet de l'efficacité du système ventricule droit/ AP.

Figure 41 : Exemple de rapport d'interprétation des boucles pression-volume (a). Exemples de boucle de bonne (b) et de mauvaise qualité ou non interprétable (c).



III. Histologie

a. Etude histologique du ventricule droit des modèles porcins d'hypertension pulmonaire

i. Méthode de prélèvement du cardiaque après sacrifice

Lorsque la durée du protocole était atteinte, l'animal était sacrifié par une injection systémique d'une dose létale de potassium et de Propofol. Après réalisation d'une sternotomie médiane et héparinisation générale intraveineuse (héparine sodique 3mg/kg) une canule de cardioplégie était mise en place dans l'aorte ascendante. Le cœur était prélevé rapidement dans son ensemble après injection d'un litre d'une solution de sérum physiologique de

chlorure de sodium à 0,9% à 4°C + 2 g de KCl injecté à 100 mm Hg de pression et après décharge des cavités droite et gauche. Cette technique permet un arrêt quasiment instantané du myocarde, conditionnant la bonne qualité de l'étude moléculaire. Les prélèvements tissulaires étaient rapidement réalisés, selon une cartographie précise : 3 prélèvements sur le VD (apical, infundibulum et milieu paroi latérale). Les tissus destinés à une analyse protéique, moléculaire étaient prélevés en premier et congelés directement sur place dans de l'azote liquide à -80°C puis stockés à température identique jusqu'à utilisation.

ii. *Etude morphométrique du ventricule droit chez le porc*

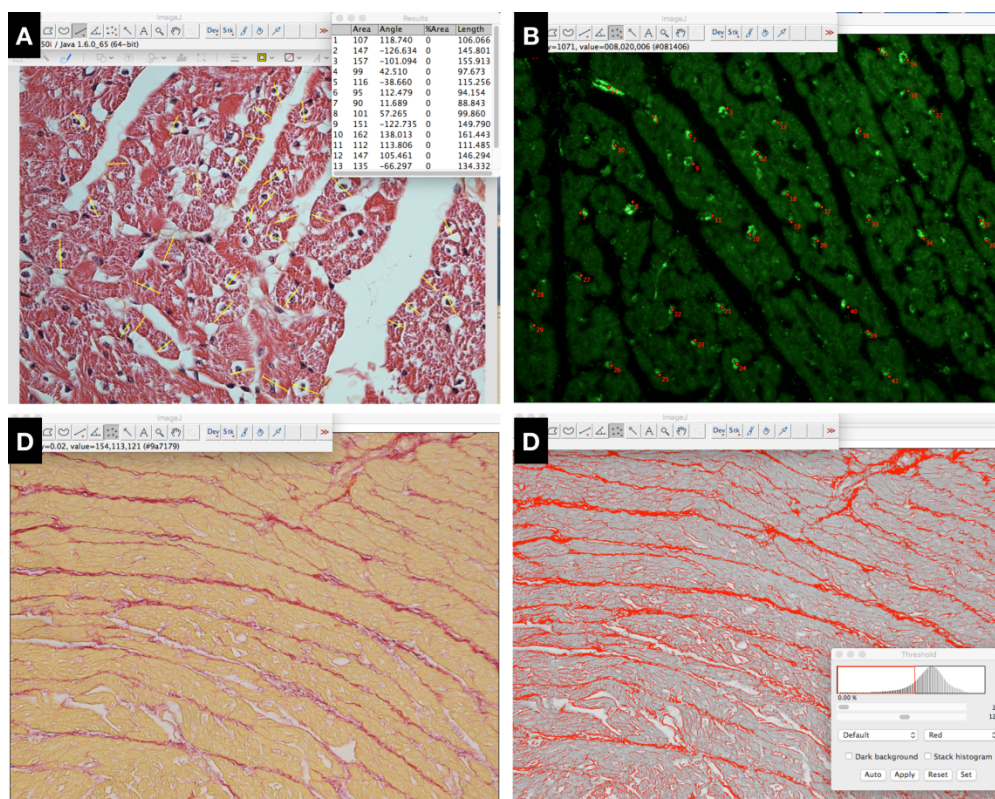
Le VD et le VG étaient séparés et pesés afin de définir le poids relatif du VD appelé ratio de Fulton (poids VD/ poids [VG+septum]). Le cœur était ensuite fixé dans du formaldéhyde 4% tamponné pendant 24 à 48h puis déshydratés dans l'alcool. Des fragments de 1cm² de la paroi latérale du VD étaient alors prélevés et inclus en cassette de paraffine. Des coupes de 4µm d'épaisseur ont été effectuées sur ces blocs de paraffine puis colorées en Hématine/Eosine/Safran (HES). Le remodelage ou hypertrophie ventriculaire droite a été quantifiée par la mesure du diamètre transverse des cardiomyocytes. Pour cela, l'étude a été réalisée avec un microscope Nikon Eclipse 80i (grossissement X40 à X600), muni d'une caméra Nikon Digital Sight DS-U1 permettant le traitement informatique des données avec un logiciel de morphométrie dédié (PerfectImage®, Clara Vision). Les lames étaient numérotées puis mélangées et lues en aveugle par un seul investigateur. Une lame par animal et 10 champs par lame au grossissement x 40 ont été analysés. Le diamètre transversal minimal de 40 cardiomyocytes par champ en coupe transversale a été mesuré grâce à un logiciel dédié (Image J version 9.6) (**Figure 42**).

iii. *Etude de la densité capillaire du ventricule droit chez le porc*

L'étude de la densité capillaire du ventricule droit a été réalisée en immunohistochimie, par marquage des vaisseaux par un anticorps anti facteur Willebrand humain (Dako, M 0082, rabbit anti human) sur coupe en paraffine. Après déparaffinage classique dans des bains successifs de toluène et d'éthanol, les prélèvements ont été trempés 12 minutes à 94°C dans du tampon citrate pH 9 pour le démasquage des antigènes. Les sites non spécifiques ont été saturés en PBS additionné de 10% d'IgG normales de chèvre pendant 1h à température ambiante puis rincés une fois en PBS. L'anticorps anti- Willebrand dilué au 1/400^{ème} (Dako, M

0082, rabbit anti human) a été laissé incubé pendant 12h à 4°C. L'anticorps secondaire utilisé était un anticorps de chèvre anti lapin conjugué à l'Alexa Fluor 488 (molecular probs, Fisher Invitrogen, Illkrich, France) dilué au 1/5000ème. Un marquage des noyaux au DAPI (D8417, Sigma-Aldrich, Saint Quentin Fallavier, France) était effectué à la concentration finale de 1ng/ml. L'interprétation a été réalisée en aveugle, sur un microscope à fluorescence (Dakon Eclipse 80i). La densité capillaire a été mesurée sur 1 lame par animal avec 10 champs par lame au grossissement X400. La densité capillaire est exprimée en capillaires par mm² (**Figure 42**).

Figure 42 : Etude histologique du ventricule droit sur les modèles porcins d'HP. (A) L'hypertrophie myocardique était évaluée par le diamètre transverse moyen des cardiomyocytes en coloration HES. (B) La densité capillaire était mesurée après marquage immunohistochimique des vaisseaux par un anticorps anti facteur Willebrand humain. La fibrose myocardique a été quantifiée après coloration par rouge Sirius (C) et selon la méthode de quantification automatique par application des seuils du logiciel Image J (D).



iv. Etude de la fibrose myocardique du ventricule droit chez le porc

L'étude de la fibrose myocardique sur le ventricule droit a été réalisée après coloration des fibres de collagène avec du rouge Sirius. La fibrose a été quantifiée automatiquement avec le logiciel Image J selon la méthode des seuils. Nous avons utilisé 1 lame par animal avec 10

champs par lame au grossissement x400. Le ratio entre la surface occupée par la fibrose et la quantité totale de tissus (cardiomyocytes + collagène), en excluant les espaces vides et la fibrose péri vasculaire a été calculé (**Figure 42**).

b. Etude histologique sur des ventricules droits de patients atteints d'hypertension pulmonaire terminale et traités par transplantation cœur-poumon.

Une partie de ce travail de thèse a consisté à mesurer la densité capillaire et la fibrose myocardique de ventricule droit de patients ayant été traités par une transplantation cœur-poumon. Après accord du comité scientifique et éthique de notre établissement, nous avons étudié rétrospectivement 28 patients atteints de syndrome d'Eisenmenger (n=14) ou d'HP idiopathique (n=14) qui ont eu une transplantation cœur-poumon entre 1986 et 2011 à l'Hôpital Marie Lannelongue. Le cœur natif de ces patients était systématiquement envoyé en anatomopathologie pour analyse. Les cassettes d'inclusion en paraffine des fragments myocardiques étaient conservées au sein de la bio banque de l'Hôpital. Des coupes de 3µm d'épaisseur ont été réalisées et colorées avec un kit-CD34 VECTASTAIN® ABC-AP d'immunoglobuline de souris (VECTOR laboratories, UK). Les capillaires étaient marqués par immunohistochimie, en utilisant un anticorps monoclonal CD34 (1 :100) détecté par une réaction avidine / biotine après immersion avec un anticorps équin secondaire anti-souris. La densité capillaire a été mesurée sur 1 lame par patient avec 15 champs par lame au grossissement X400. La densité capillaire est également exprimée en capillaires par mm². La fibrose myocardique a été quantifiée après coloration au rouge Sirius selon la méthode décrite précédemment.

IV. Etude de l'expression génique

a. Extraction des ARN totaux selon la méthode trizol-chloroforme

Un morceau de 0.5 cm² de ventricule droit encore congelé à -80°C était broyé (Tissue Lyser, Qiagen®) avec une bille d'acier dans un 1 ml de Trizol lysis buffer (Qiagen®). Les ARN totaux ont été extraits en utilisant la méthode trizol suivi d'acide guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform. Les ARN furent précipités avec 200 µl d'isopropanol. La qualité et l'intégrité des

ARN sous-unités 18S et 28S furent contrôlées par électrophorèse sur gel d'agarose à 1,2% en tampon Tris/Borate/EDTA 0,5X (Invitrogen, Saint Aubin, France), additionné de bromure d'éthidium à 0,625 mg/ml (Eurobio, Les Ulis France) et séparés par électrophorèse à 80V pendant 1h. La présence de 2 bandes nettes et distinctes après révélation sous ultraviolets (UV) reflétait la qualité des ARN 18S et 28S et donc des ARN totaux. Les ARN ont été conservés à -80°C. La quantité d'ARN était déterminée par spectrophotométrie à 260 nm grâce à un Nanodrop™ 1000 (Thermo Fisher Scientifique, Wilmington, USA). La contamination protéique est estimée par une lecture à 280 nm : le rapport DO260/DO280 doit être compris entre 1,9 et 2. Un rapport inférieur à 1,9 signifiait la présence d'une contamination protéique. Supérieur à 2, il signifiait une contamination par un composant d'un réactif. Seuls les échantillons ayant une concentration supérieure à 85 ng/μl étaient retenus.

b. Transcription inverse (RT)

Les cDNA ont été obtenus par transcription inverse des ARNm grâce au kit High-Capacity cDNA Reverse Transcription (Applied Biosystems, Ss : 4368814). La réaction est obtenue en utilisant 1 microgramme d'ARNm et des amorces aléatoires, complété par de l'eau RNase free pour obtenir un volume final de 20 μl. Les échantillons étaient incubés dans le thermocycleur pendant 120 min à 37°C (phase d'hybridation et d'élongation) puis 5 min à 85°C (dénaturation de l'enzyme). Les ADNc synthétisés étaient stockés à -20°C jusqu'à utilisation.

c. Réaction de polymérisation en chaîne quantitative en temps réel (RtqPCR)

Les PCR quantitatives ont été réalisées sur plaques 96 puits sur l'appareil Step one plus® (Applied Biosystems, Villebon sur Yvette, France) à partir de 10 ng de cDNA. L'expression du VEGF-A et de ses récepteurs a été normalisée par le 18S. L'expression des gènes VEGF-A, VEGFR-1 et VEGFR-2 a été évaluée selon la méthode relative du $\Delta\Delta Ct$. La quantité relative de chaque échantillon est donnée par l'équation $2^{(-\Delta\Delta Ct)}$. Les résultats sont exprimés en Unité Arbitraire (UA). Les sondes suivantes ont été utilisées pour l'étude de l'expression du VEGF-A, VEGFR-1 et VEGFR-2 :

- Sonde TaqMan® VEGF-A : Ss03393993_m1
- Sonde TaqMan® VEGFR-1 (FLT1) : Ss03375679_u1
- Sonde TaqMan® VEGFR-2 (FLk1) : Ss03375683_u1

V. Quantification de HIF-1 α et du VEGF intra myocardique par Western Blot dans le ventricule droit des modèles d'HP.

a. Extraction des protéines

Un morceau de 0.5 cm² de ventricule droit était mis dans 800 micro litres de tampon d'extraction protéique (HB: 10mM HEPES, pH 7,9, 1,5 mM MgCl₂, 10 mM KCL, 10mM 2-ME, mélange d'inhibiteurs de protéases) pendant 15 min à 4°C. Les tissus ont été broyés grâce à un appareil gentleMACS™ Dissociator. Cinquante ml de NP-40 à 10% ont été utilisés pour lyser les membranes cellulaires. La fraction totale des protéines a été récupérée après passage dans un Cell strainer 40 μ m. Le dosage des protéines totales est réalisé sur les extraits cellulaires par la méthode colorimétrique à l'acide binchoninique (BCA) à partir de 1 μ l de solution. La concentration protéique est déterminée par la mesure de la DO à 280 nm dans un spectrophotomètre (Nanodrop™ 1000 Thermo Fisher Scientifique, Wilmington, USA).

b. Migration des protéines (Western Blot)

Cent microgrammes de protéines sont mis en solution du Tampon Laemmli 4X (Biorad, Marnes la Coquette, France). Les protéines totales ont été séparées sur un gel de polyacrylamide SDS 4 à 15% (Biorad, Marnes la Coquette, France). La migration est réalisée à 150 volts pendant 1 heure, dans le tampon de migration. Les protéines ont été transférées sur une membrane de nitrocellulose hydratée et pendant 60 min dans un tampon de transfert. La membrane a été saturée par du BSA 5% et un tampon TBS-T (10mM Tris pH 8 ; 150 mM NaCl ; 0,1% Tween-20) pendant 1h30 à température ambiante. La membrane a été mise en présence de l'anticorps primaire de souris anti Hif-1 α (Purified mouse anti-human HIF-1 α , NS 610959, BD Biosciences, dilué au 1/250ème, dans un tampon TBS-T 1% pendant une nuit à 4°C. La membrane est plongée avec l'anticorps secondaire de cheval anti-souris dilué au 1/5000ème dans du TBS-T et du BSA dilué à 1% pendant 1h à température ambiante.

La révélation de HIF-1 α et du VEGF-A est réalisée par chimioluminescence à l'aide du kit Biorad®. La lecture est effectuée dans un appareil Chemidoc® (Biorad). Les images obtenues sont analysées par le logiciel Image Lab 3.0 (Biorad®). La membrane est lavée avec un détergent NP-40 dilué à 10% pendant 1h température ambiante puis recouverte avec un

anticorps primaire de chèvre anti actine, dilué au 1/5000ème dans du TBS-T à 1% de BSA pendant 1h. Après lavage, la membrane est mise au contact de l'anticorps secondaire de cheval anti-chèvre pendant 1h dans BSA 1%. La membrane est révélée et l'expression de HIF-1 α est reportée à celle de la GAPDH. Les résultats ont été exprimés par le rapport des intensités HIF-1 α /actine. Les western blot de VEGF-A ont été réalisés selon les mêmes modalités avec un anticorps primaire polyclonal de lapin anti VEGF humain. (VEGF (147) : sc-507, Santa Cruz Biotechnology, INC), dilué au 1/250 ème. Des protéines de poumon porcin sain ont été déposées dans un puits afin de valider la technique de western blot car l'on savait que le VEGF et le HIF-1 α étaient fortement exprimés.

VI. Etude des capacités respiratoires mitochondriales dans le modèle porcin d'HPPE

Cette partie de la thèse a été réalisée en collaboration avec les Dr Jérôme Piquereau, René Ventura-Clapier et Vladimir Veksler du laboratoire de signalisation et physiopathologie cardiovasculaire (unité mixte ISERM – Université Paris Sud ; UMR-S1180).

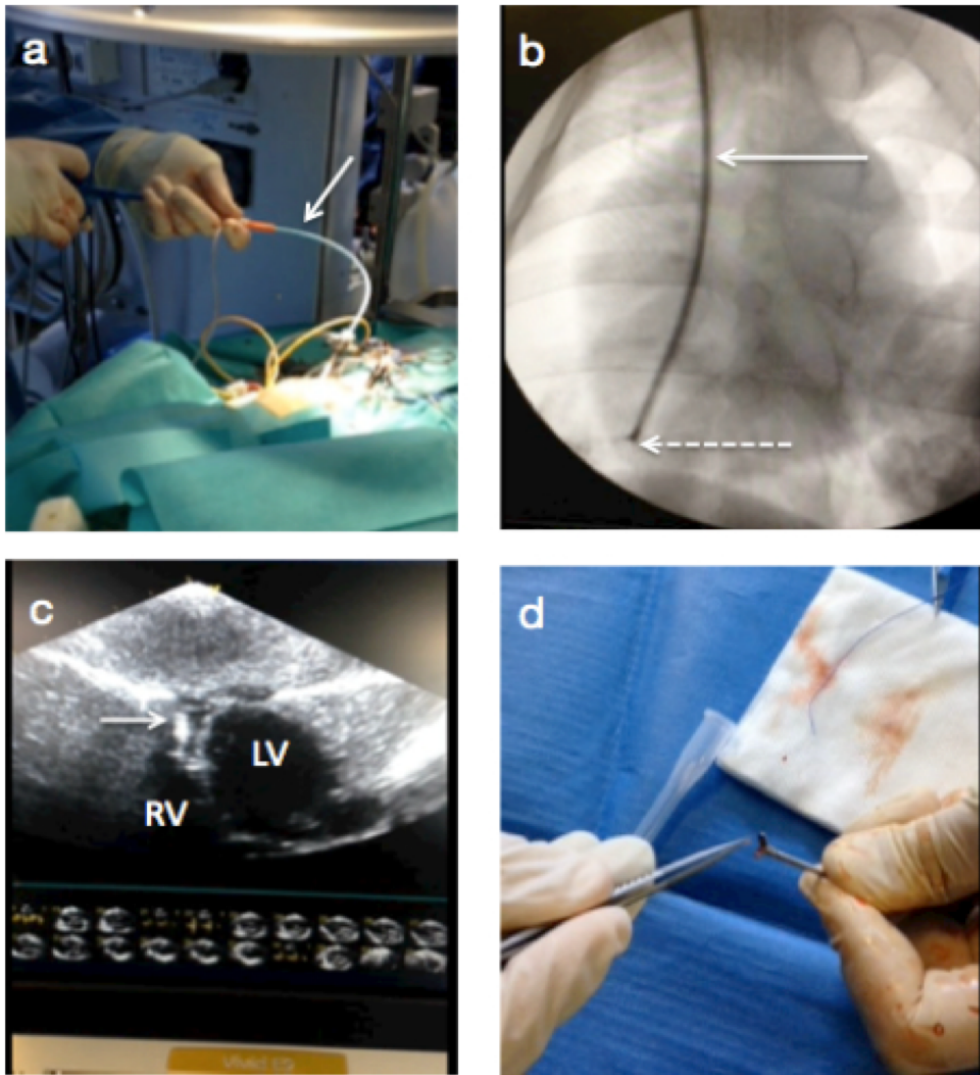
a. Réalisation des biopsies endomyocardiques du VD sur les modèles porcins d'HP

L'étude de la respiration mitochondriale in situ selon la technique des fibres perméabilisées impose de travailler sur des tissus myocardiques frais et utilisés sans délai afin d'éviter une altération iatrogène des mitochondries. Afin d'étudier les capacités respiratoires mitochondriales par cette technique au cours du développement du remodelage ventriculaire droit dans le modèle porcin d'HPPE, nous avons réalisé des biopsies ventriculaires droites par voie percutanée à l'aide d'un biotome tel que décrit par Caves et al en 1973³³⁹. Cette méthode nous a permis d'obtenir un échantillon ventriculaire droit frais sans avoir à opérer ou sacrifier l'animal.

L'anatomie du ventricule droit du porc étant légèrement différente de celle de l'humain, nous avons mis au point une technique de biopsie endomyocardique sécuritaire, sous guidance échographique et fluoroscopique. Pour faciliter le trajet du biotome et afin d'éviter de léser la valve tricuspide avec le biotome, nous avons utilisé un introducteur long (7Fr – 37 cm, AB

Medica, Méru sur Cher, France) qui était inséré sur une sonde Swan-Ganz (SG). Une fois dans le tronc de l'AP, le ballonnet de la sonde SG était gonflé, l'extrémité de l'introducteur poussé au contact de celui-ci. L'ensemble était retiré doucement sous contrôle fluoroscopique de manière à avoir l'extrémité de l'introducteur au niveau de l'apex du VD. Le ballonnet de la sonde était alors dégonflé et la SG était retirée. Afin de réaliser les biopsies, nous avons utilisé des biotomes spécialisés, (AB Medica, Méru sur Cher, France) de 7Fr -110cm, permettant de prélever des fragments de 6.5 mm³. Afin d'éviter une perforation du VD par la pince à biopsie, nous réalisons le prélèvement sous contrôle échographique et fluoroscopique. Trois fragments endomyocardiques étaient prélevés, en général au niveau de la paroi libre ou à l'insertion du VD sur le septum. Les prélèvements étaient directement plongés dans une solution relaxante en vue de l'étude de la fonction mitochondriale.

Figure 43 : Réalisation des biopsies endomyocardiques du ventricule droit chez le porc. (a) Un introducteur long était inséré dans le ventricule droit grâce à une sonde Swan-Ganz. (b) Le biotome était manipulé sous contrôle scopique et la biopsie était réalisée sous échographie (c). (d) Le fragment myocardique (6,5 mm³) était directement plongé dans une solution relaxante en vue de l'analyse de la respiration mitochondriale.



b. Dissection et perméabilisation des fibres myocardiques

L'étude de la fonction respiratoire mitochondriale a été réalisée *in situ* sur des fibres perméabilisées à la saponine en mesurant leur consommation en oxygène en présence de différents substrats (électrode Clarke) selon la technique décrite par Kuznetsov et al³⁴⁰.

Immédiatement après la réalisation de la biopsie endomyocardique, l'échantillon de 6.5 mm³ a été plongé dans une solution dite relaxante ou solution « S » (composition en (mM) : EGTA (10), CaCO₃ (2,77), KOH (70), imidazole (20), Mg²⁺ libre (1), taurine (20), dithiothréitol (0,5), MgATD (5,7), phosphocreatine (15), potassium-methasulfonate (50) ; pH :7,1). Sous

microscopie, les fibres ont alors été délicatement disséquées de manière à obtenir de petits amas de fibres de 100 à 200 μm de diamètre avant d'être mises en présence de saponine (50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ dans la solution relaxante) pendant 30 minutes à 4°C sous agitation pour une perméabilisation optimale des membranes plasmiques (**Figure 44**). Un lavage de 10 minutes à 4°C avec la solution relaxante exempte de saponine a permis l'élimination du détergent. Les fibres ont alors été conservées, jusqu'au moment de l'expérimentation, dans cette solution qui, par sa composition, permet le maintien des fonctions cellulaires. Cette technique étant une étape critique et nécessitant une courbe d'apprentissage longue, l'ensemble des micro dissections a été réalisée par un expert de la technique (Dr Jérôme Piquereau).

c. Mesure de la respiration mitochondriale

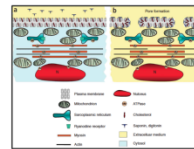
Dix minutes avant le protocole de mesure de la respiration mitochondriale, les fibres ont été lavées dans une solution de respiration (composition en (mM) : EGTA (10), CaCO_3 (2,77), KOH (110), NaOH (10), K_2HPO_4 (3), imidazole (20), Mg^{2+} libre (1), taurine (20), dithiothréitol (0,5), glutamate (10), malate (4), phosphocreatine (15), potassium-methasulfonate (100) ; pH :7,1) supplémentée de 2 mg/ml de BSA (Bovin Serum Albumin) pour éliminer l'ATP présent dans la solution de relaxation. Les fibres ont ensuite été déposées dans des chambres de respiration contenant 3 ml de cette même solution de respiration contenant de la BSA ainsi que du glutamate et du malate, constituant une source d'équivalents réduits (NADH) capable d'initier le transfert d'électrons depuis le complexe I de la chaîne respiratoire. La consommation d'oxygène des fibres contenues dans les chambres a alors été mesurée sous agitation à 22°C par une électrode à oxygène reliée à une interface appelée Oxygen Interface Model 928 (Strahtkelvin Instruments) qui transmet l'information à un ordinateur équipé du logiciel Strahtkelvin 928 System permettant l'enregistrement des données générées.

Figure 44 : Etapes de l'analyse de la respiration mitochondriale selon la technique des fibres myocardiques perméabilisées.

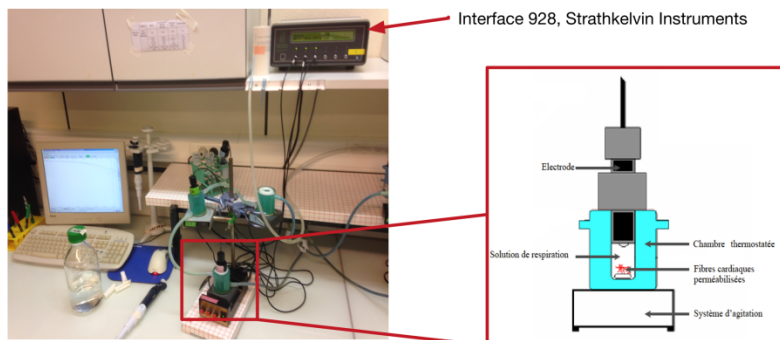
Etape 1: micro dissection des fibres



Etape 2: perméabilisation des fibres dans une solution contenant de la saponine



Etape 3: Mesure de la respiration mitochondriale



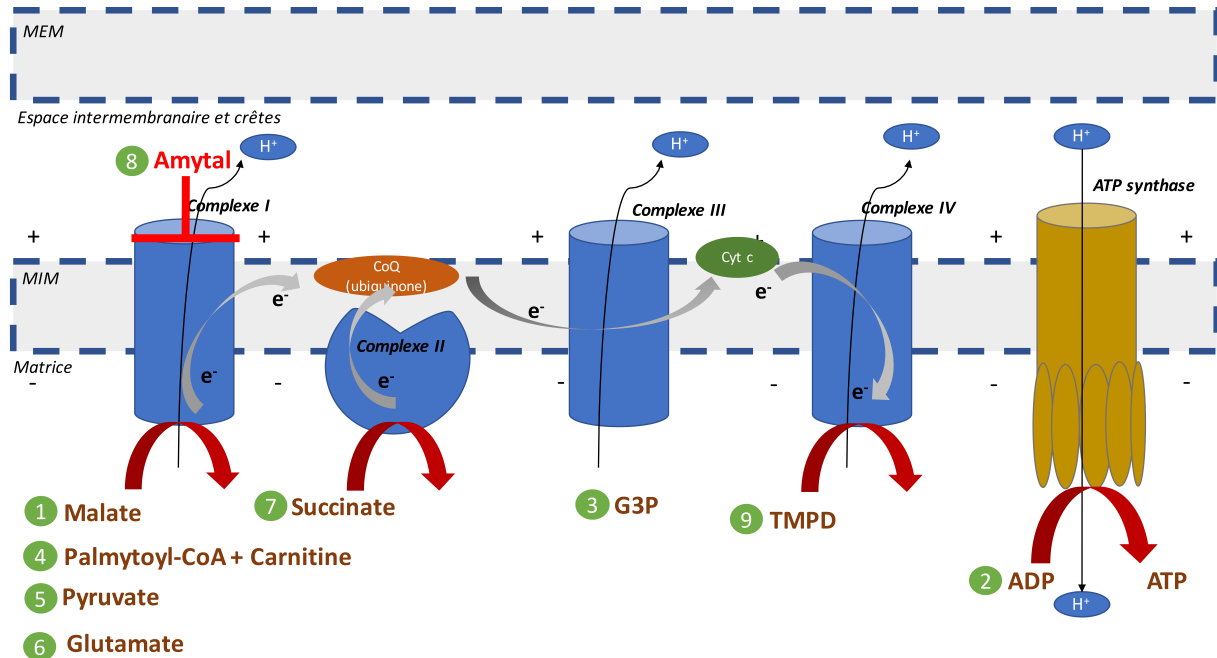
d. Mesure de l'utilisation des différents substrats par les mitochondries : protocole substrat

Ce protocole a été élaboré afin d'évaluer l'utilisation de différents substrats par les mitochondries et pour estimer l'activité des différents complexes (I, II et IV) de la chaîne respiratoire au moyen d'activateur et d'inhibiteur spécifiques de chacun des complexes.

Après avoir mesuré la diminution de la concentration de dioxygène dans les chambres en l'absence de fibres, qui reflète la consommation de dioxygène par la membrane de téflon de l'électrode (V_i), la vitesse basale de consommation du dioxygène des fibres (V_o), c'est-à-dire sans ADP exogène dans le milieu réactionnel a été enregistrée. Cette mesure des paramètres initiaux a été suivie de l'ajout à intervalle régulier (toutes les 4 minutes) des substrats suivants dans l'ordre indiqué : (1) Malate (4 mM), (2) ADP (2 mM), (3) L-Glycérol-3-Phosphate (G3P) (4 mM), (4) ; Palmitoyl Coenzyme A + carnitine (100 μ M + 2 mM), (5) Pyruvate (1 mM), (6)

Glutamate (10 mM), (7) Succinate (15 mM), (8) Amytal (1 mM) et (9) N,N,N',N'-Tetraméthyl-P-Phenilenediamine (TMPD) + ascorbate (500 μ M + 2 mM).

Figure 45: Protocole de l'étude des complexes de la chaîne respiratoire.



e. Analyse des données

A la fin du protocole de respiration, les fibres ont été minutieusement récupérées afin d'être séchées sous vide à 75°C et pesées. Cette étape nécessaire et critique permet la normalisation de toutes les vitesses mesurées au poids de tissu sec. L'activité des différents complexes a ainsi été directement déduite des valeurs de vitesse consommation de dioxygène.

VII. Etude en microscopie électronique à transmission (MET)

Le contenu des cardiomyocytes du ventricule droit de 3 modèles porcins d'HPPE et de 3 porcs témoins a été étudié par microscopie électronique à transmission. Cette méthode utilise un faisceau d'électrons à haute tension qui, en passant au travers d'un échantillon, perd des électrons et permet alors la constitution d'une image. Elle permet, de par ses capacités de grossissement importante et sa grande résolution, d'étudier la structure et le nombre de mitochondries dans le cardiomyocyte.

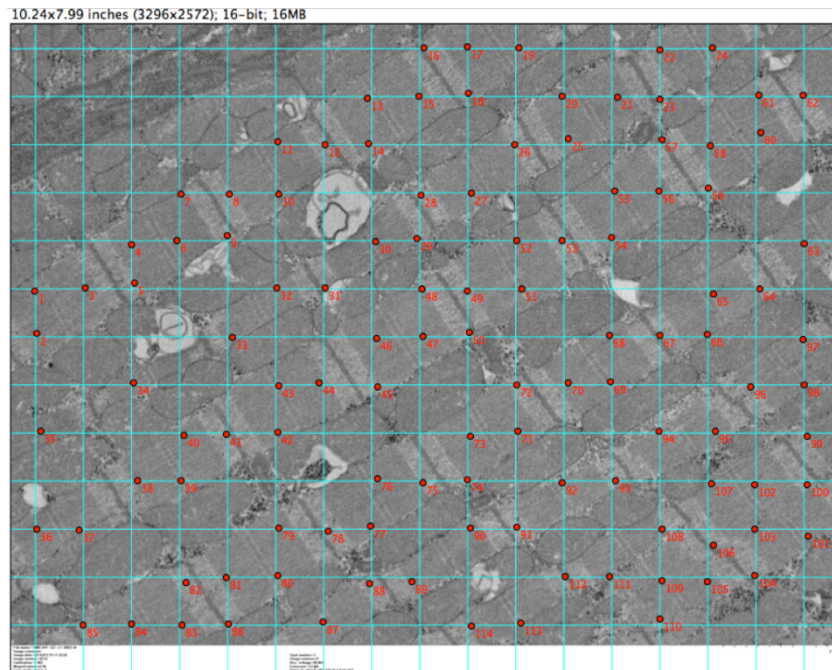
a. Préparation des échantillons et acquisition des images en MET

Après arrêt du cœur, des fragments des muscles papillaires du ventricule droit ont été prélevés et fixés sous tension en 2% glutaraldéhyde dans du tampon cacodylate de Na 0,1 M à pH 7,2, pendant 4 heures à température ambiante, puis post-fixés au tétroxyde d'osmium 1% contenant 1,5% de ferrocyanate de potassium, déshydraté dans de l'éthanol (30% à 100%) et inclus en Epon (Delta microscopie - Labège France). Des coupes de 1 micron d'épaisseur ont été réalisées et recueillies sur des lames de verre puis contre colorées avec de méthylène bleu Azur II afin de déterminer les zones d'intérêt. Enfin, les blocs d'Epon ont été retaillés autour de la zone d'intérêt et des coupes de 70 nm ont été collectées sur des grilles de cuivre de 200 mesh puis contre-colorées avec de l'OTE (Oolong Tea extract) et du citrate de plomb avant l'examen au microscope électronique Hitachi HT7700 à 80kV (MIMA2- UMR1131 GABI - Plateau de Microscopie Electronique 78352 Jouy -en-Josas, France). Les images ont été acquises avec une caméra CCD : AMT – Hitachi (Elexience – Verrière le Buisson – France) (Grossissement x7500). Cette étape a été réalisée avec la collaboration du Dr Catherine Rucker-Marin (INSERM U-999).

b. Semi-quantification de la masse mitochondriale par étude stéréologique des échantillons

La quantification des volumes occupés par les différents constituants (sarcomères, mitochondries, cytoplasme, vacuoles lipidiques) a été réalisée par analyse stéréologique sur chacune des coupes obtenues, soit 2 sections par animal (total de 12 coupes ou sections par coupe ont été analysées. Pour chacun des animaux, l'estimation du volume des différentes structures a été effectuée au moyen de 2 sections bien distinctes de chaque bloc de tissu à partir desquels 10 images ont été analysées, soit un total de 20 images par animal. L'analyse a été réalisée avec le logiciel Image J et le plug-in grid, permettant de superposer une grille sur les images. Chaque intersection des lignes définissait un point de l'échantillon (quadrillage de 0.35 inch^2 , correspondant à $13 \times 17 = 221$ intersections). La moyenne des pourcentages de points superposant les différentes structures a ainsi permis de quantifier et de comparer les volumes tissulaires occupés par les différents composants des cardiomyocytes. **(Figure 46)**

Figure 46 : Exemple de quantification des composants d'un cardiomyocyte en MET grâce au logiciel Image J. La superposition d'un quadrillage composé de 17 lignes verticales et 13 lignes horizontales permettait de définir 221 points d'intérêts. La structure en regard de chaque point était notée et le pourcentage de points correspondant à cette structure était calculé. Pour chaque image, nous obtenions donc : % mitochondrie, % sarcomère, % cytoplasme et % de vacuoles lipidiques.



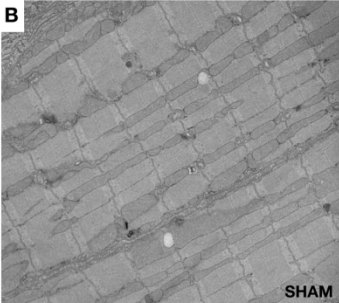
c. Semi quantification des altérations structurelles mitochondriales en MET

L'intégrité de la structure des mitochondries est essentielle à leur bon fonctionnement. A partir des images acquises en MET, nous avons quantifié les anomalies structurelles des mitochondries dans le ventricule droit de porcs HPPE et témoins. Pour cela, nous avons élaboré un score semi-quantitatif tel que décrit dans la **figure 47**. Sur chacune des acquisitions (20 par animal), 20 mitochondries ont été analysées de manière aléatoire. Pour chaque mitochondrie, le score semi-quantitatif était appliqué. Les caractéristiques suivantes étaient répertoriées et notées 1 si présente ou 0 si absente : œdème, anomalie de la cristae, anomalie de la structure mitochondriale, présence de vacuole lipidique, altération membranaire. Le score total pour chaque mitochondrie correspondait à la somme des anomalies présente dans cette même mitochondrie. La moyenne du score total pour chaque animal était réalisée.

Figure 47 : Quantification des anomalies mitochondriales en MET. Un score semi-quantitatif était appliqué sur 20 mitochondries sélectionnées de manière aléatoire sur chaque image (a). Image (x 7500) de MET issue d'un porc témoin (SHAM) montrant des mitochondries normales (b) et image (x7500) issue d'un modèle porcin d'HPPE (CTEPH) montrant plusieurs anomalies structurales mitochondriales : œdème (flèche noir), altération des membranes (flèche blanche) et présence d'une vacuole lipidique (étoile).

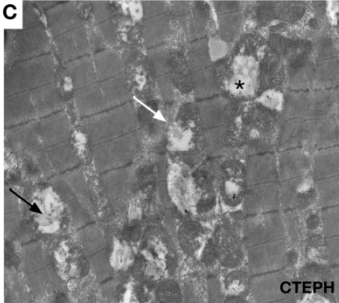
A	Caracteristiques	Présente / Absente
	Oedème	1/0
	Cristae anormale	1/0
	Structure anormale	1/0
	Vacuole lipidique	1/0
	Membrane altérée	1/0
	Score total	0 to 5

B



SHAM

C



CTEPH

VIII. Analyses statistiques

Les variables quantitatives ayant une distribution normale étaient exprimées en moyenne \pm déviation standard et en médiane \pm interquartile pour les variables ne suivant pas une distribution normale. La comparaison des moyennes entre deux groupes était effectuée à l'aide d'un *t* test (Student) pour les variables à distribution normale et par un test non paramétrique pour les variables ne suivant pas une distribution normale (test de U de Mann-Whitney). Pour les comparaisons de moyenne de 3 groupes ou au cours du temps, une analyse de variance à double voie

(ANOVA) était réalisée (test de Kruskal-Wallis pour les variables non normales). La recherche d'une corrélation entre deux variables numériques continues était effectuée par une étude de régression linéaire avec calcul du coefficient de corrélation *r* (coefficient de Pearson). Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel SPSS 20.0 (IBM Corp. Released 2011. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 20.0. Armonk, NY: IBM Corp). Les graphiques et histogrammes ont été effectués avec le logiciel Prism Version 6.0 (GraphPad Prism 6.0d Macintosh Version by Software Mackiev. GraphPad Software, Inc). Le seuil de significativité retenu était $p < 0,05$.

Résultats des travaux de recherche

Résultats des travaux de recherche

Travail 1 : “The importance of Capillary Density/Stroke Work Mismatch for Right Ventricular adaptation to Chronic Pressure Overload”

Publié dans le Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery

Introduction et hypothèse : Les mécanismes de l’adaptation du ventricule droit à une surcharge chronique de pression sont encore mal connus. Nous supposons que lorsque le ratio entre la densité capillaire (DC) et la charge de travail (RVSW) du ventricule droit est abaissé, il est associé à la dysfonction ventriculaire droite et une fibrose myocardique plus importante.

Méthodes : Nous avons induit une surcharge de pression pendant une période de 20 semaines chez 2 modèles d’HP différents chez le porc. Le premier était un modèle de shunt systémico-pulmonaire et l’autre un modèle d’HPPE. Le remodelage, la fonction ventriculaire droite et la densité capillaire était comparé entre les 2 modèles.

Résultats et discussion : Alors que le VD était remodelé dans les 2 groupes, avec une hypertrophie ventriculaire droite similaire, nous avons observé un remodelage maladaptatif uniquement dans le groupe HPPE. Dans ce groupe, la fonction systolique du VD était diminuée, le VD était plus dilaté et la densité capillaire était plus basse. La diminution du ratio CD/RVSW était associée à une diminution du couplage ventriculo-artériel (maladaptation) et à un taux de fibrose myocardique plus élevé. Le taux de HIF et VEGF était plus élevé dans le groupe maladapté, probablement stimulé par l’ischémie myocardique.

Conclusion : L’adaptation du VD à une surcharge de pression diffère entre 2 modèles différents d’HP chez le porc. L’adéquation entre la vascularisation myocardique et la charge de travail ventriculaire est un paramètre associé à l’adaptation ventriculaire droite lors d’une surcharge chronique de pression. Des études complémentaires doivent être réalisées afin de mieux comprendre les mécanismes conduisant à la raréfaction capillaire et il serait prometteur d’évaluer ce mismatch entre la vascularisation myocardique et sa charge ventriculaire en imagerie non invasive.

The importance of capillary density–stroke work mismatch for right ventricular adaptation to chronic pressure overload

Pierre-Emmanuel Noly, MD, MSc,^{a,b,c} François Haddad, MD,^{b,d} Jennifer Arthur-Ataam, MSc,^{b,c} Nathaniel Langer, MD,^{a,b} Peter Dorfmueller, MD, PhD,^{a,b,c,e,f} Fanny Loisel, MSc,^{a,b} Julien Guilhaire, MD, MSc,^{b,c} Benoit Decante, MSc,^b Lilia Lamrani, MSc,^{b,c} Elie Fadel, MD, PhD,^{a,b,c,e} and Olaf Mercier, MD, PhD^{a,b,c,e}

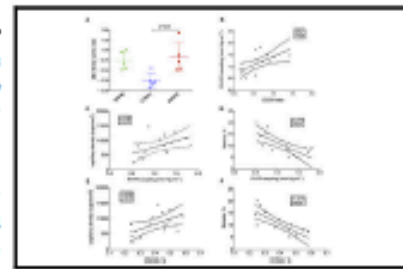
ABSTRACT

Objective: Mechanisms of right ventricular (RV) adaptation to chronic pressure overload are not well understood. We hypothesized that a lower capillary density (CD) to stroke work ratio would be associated with more fibrosis and RV maladaptive remodeling.

Methods: We induced RV chronic pressure overload over a 20-week period in 2 piglet models of pulmonary hypertension; that is, a shunt model (n = 5) and a chronic thromboembolic pulmonary hypertension model (n = 5). We assessed hemodynamic parameters and RV remodeling as well as RV CD, fibrosis, and angiogenic factors expression.

Results: Although RV was similarly hypertrophied in both models, maladapted RV remodeling with impaired systolic function was only seen in chronic thromboembolic pulmonary hypertension group members who had lower CD (484 ± 99 vs 1213 ± 74 cap/mm²; P < .01), lower CD to stroke work ratio (0.29 ± 0.07 vs 0.82 ± 0.16; P = .02), higher myocardial fibrosis (15.4% ± 3.8% vs 8.0% ± 2.5%; P < .01), as well as a higher angiogenic and fibrosis factors expression.

Conclusions: The RV adaptive response to chronic pressure overload differs between 2 different piglet models of PH. Mismatch between angiogenesis and workload (CD to stroke work ratio) was associated with greater degree of myocardial fibrosis and RV dysfunction and could be a promising index of RV maladaptation. Further studies are needed to understand the underlying mechanisms. (*J Thorac Cardiovasc Surg* 2017; ■:1-10)



Correlation between capillary density, fibrosis, and right ventricular function in 2 models of right ventricle pressure overload.

Central Message

Mismatch angiogenesis/workload was associated with greater degree of right ventricular dysfunction in animal models. The capillary density to stroke work ratio could be a promising index to assess right ventricular adaptation to pressure overload.

Perspective

Discrepancy between the capillary density and the right ventricular stroke work may help us to understand the inability of end-stage right ventricular pulmonary hypertension to use oxygen correctly despite the metabolic shift. A major clinical implication of our study is that it offers, in a large animal model, support for therapies targeting neovascularization or angiogenesis.

See Editorial Commentary page XXX.

In the modern era, pulmonary hypertension (PH) remains a progressive and often fatal disease despite the use of targeted therapies.¹ Many studies have shown that right ventricular adaptation to pressure overload is the main

determinant of survival in patients with chronic pressure overload state (CPOS).²⁻⁵ Some etiologies in PH and CPOS are known to be associated with better right ventricular adaptation and survival. For example, a

From the ^aSchool of Medicine, Paris-Sud University and Paris-Saclay University, Kremlin-Bicêtre; ^bResearch and Innovation Unit, ^cDepartment of Thoracic and Vascular Surgery and Heart-Lung Transplantation, DHU Thorax Innovation, ^dINSERM UMR-S 999, LabEx LERMIT, and ^eDepartment of Pathology, Marie Lannelongue Hospital, Le Plessis Robinson, France; and ^fDivision of Cardiovascular Medicine, Stanford University, Palo Alto, Calif.

P.-E.N. and F.H. contributed equally to this article.

Received for publication Oct 30, 2016; revisions received May 21, 2017; accepted for publication May 31, 2017.

Address for reprints: Olaf Mercier, MD, PhD, Department of Thoracic and Vascular Surgery and Heart-Lung Transplantation, Marie Lannelongue Hospital, 133 avenue de la Résistance, 92350 Le Plessis Robinson, France (E-mail: o.mercier@ccml.fr). 0022-5223/36.00

Copyright © 2017 by The American Association for Thoracic Surgery <http://dx.doi.org/10.1016/j.jtcvs.2017.05.102>

Abbreviations and Acronyms

CD	= capillary density
CI	= cardiac index
CPOS	= chronic pressure overload states
CTEPH	= chronic thromboembolic pulmonary hypertension
Ea	= pulmonary vascular elastance
Ees	= ventricular elastance
ES	= Eisenmenger syndrome
mPAP	= mean pulmonary arterial pressure
PA	= pulmonary artery
PH	= pulmonary hypertension
RVFAC	= right ventricular fractional area change
SW	= stroke work
VEGF	= vascular endothelium growth factor
VEGF-type A	= vascular endothelium growth factor type A

Scanning this QR code will take you to a supplemental video for the article.

recent prospective multicenter study has shown that the survival of patients with idiopathic, postembolic, or anorexigen-induced PH is 58% at 3-year follow-up¹ compared with 58% at 10-year follow-up for patients with congenital heart disease-associated PH and Eisenmenger syndrome (ES).⁶ In these patients, the main cause of death remains right ventricular failure (36%).¹

Although adaptive remodeling is often contrasted with maladaptive remodeling, the mechanisms underlying this transition are not well understood. Preclinical animal models suggested that a mismatch between right ventricular hypertrophy and right ventricular angiogenesis as well as altered metabolism could induce myocardial ischemia and promote the development of right heart failure.⁷⁻¹¹ We hypothesize that a mismatch between hypertrophy and angiogenesis, and workload of the right ventricle could be associated with an impairment of right ventricular function. However, limited data are available from studies comparing right ventricular capillary density (CD) of ES and non-ES patients. In this context, we performed an experimental study using 2 different models of chronic right ventricular pressure overload in piglets. In the first model, the increase in pulmonary artery (PA) pressure was obtained using a systemic-to-pulmonary shunt (Blalock-Taussig procedure).¹² In the second model, we performed a ligation

of the left PA followed by 5 embolizations of the right lower PA to increase PA pressure^{13,14} (chronic thromboembolic pulmonary hypertension [CTEPH] model). We aimed to study the right ventricle in these 2 different pig models of CPOS to determine whether mismatch between angiogenesis and workload would be associated with a greater degree of myocardial fibrosis and right ventricular dysfunction.

METHODS**Experimental Study**

Fifteen large white piglets were randomly allocated to 3 groups (Figure 1). All animals received humane care in compliance with the Principles of Laboratory Animal Care formulated by the National Society for Medical Research and the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals prepared by the Institute of Laboratory Animal Resources and published by the National Institutes of Health (publication No. 86-23, revised 1996) and the guidelines from directive 2010/63/EU of the European Parliament on the protection of animals used for scientific purposes. All animals were studied at baseline and at 20-weeks' follow-up.

Approval for the study was granted by our institutional ethics review board. All animal experiments were performed under general anesthesia with the following protocol. After prophylactic cefotaxime and premedication with ketamine, induction of anesthesia was performed with 1% propofol (3 mg/kg) and cisatracurium allowing endotracheal intubation. General anesthesia was maintained with isoflurane in 21% oxygen (Clarys 2000; TAEMA, Air Liquid, Paris, France) during surgery as well as during hemodynamic and echographic assessments. At the end of the experiment, anesthesia and paralysis were interrupted and the animals were weaned from mechanical ventilation. Postoperative analgesia was provided with subcutaneous nalbuphine as required for 4 days. Animals were killed at the end of the last experiment by administration of a lethal dose of sodium thiopental followed by exsanguination.

Induction of CPOS. CPOS was induced either by a systemic-to-pulmonary shunt¹² (shunt group, $n = 5$) or by a progressive obstruction of the pulmonary vascular bed (CTEPH group, $n = 5$). These 2 CPOS groups were compared with sham-operated animals (sham group, $n = 5$).

Shunt model. In shunted animals, a modified Blalock-Taussig procedure was performed by left innominate artery to pulmonary trunk transposition mimicking a patent ductus arteriosus. Through a left small thoracotomy, the left innominate artery was dissected and harvested after systemic heparinization (intravenous heparin sulfate 3000 UI). Using this vascular autograft (10 mm diameter), we performed a bypass between the thoracic aorta (usually the aortic arch) and the pulmonary trunk. The patency of the shunt was assessed by Doppler ultrasound intraoperatively, and by auscultation (thrill) or by echocardiography during the postoperative period. This procedure achieves an extracardiac systemic-to-pulmonary shunt without right ventricular volume overload, because the pulmonary valve is competent. The overflow in the pulmonary vascular bed induces remodeling of the small PAs and led to an increase of pulmonary pressures and resistances after 12 weeks.¹⁵

CTEPH model. The CTEPH model is described elsewhere.^{13,14} Briefly, CPOS was induced after ligation of the left PA and weekly embolization of the right lower lobe PA with *n*-butyl-2-cyanoacrylate (Histoacryl; B. Braun Medical S.A., Diegem, Belgium) during 5 weeks to progressively occlude the pulmonary vascular bed. Pulmonary pressures increase progressively and the model is mature after 6 to 7 weeks of evolution.

Right heart hemodynamic assessment. Mean systemic blood pressure, heart rate, and peripheral oxygen saturation were monitored during the procedures. In addition, right heart catheterization was performed percutaneously via the right internal jugular vein using a Swan-

TABLE 1. Physiologic data of the 2 groups of chronic pressure overload state (chronic thromboembolic pulmonary hypertension [CTEPH] and shunt) compared with the sham group at 20 weeks

Variable	CTEPH (n = 5)	Shunt (n = 5)	Sham (n = 5)
Morphology			
Weight (kg)	52.2 ± 5.0	49.7 ± 5.0	43.2 ± 3.3
Body area (m ²)	1.24 ± 0.08	1.20 ± 0.08	1.08 ± 0.05
Hemodynamic parameters			
HR (bpm)	86.6 ± 7.5	91.8 ± 5.3	89.4 ± 6.4
Oxygen saturation (%)	96.6 ± 1.3	97.6 ± 2.0	99.2 ± 0.9
Systemic arterial Pao ₂ (mm Hg)	72.48 ± 6.91	84.64 ± 4.12	81.48 ± 1.79
Svo ₂ (%)	59.8 ± 5.9*	71.50 ± 3.7	79.4 ± 2.8
mAP (mm Hg)	84.0 ± 11.1	76.2 ± 3.0	75.6 ± 7.9
mPAP (mm Hg)	26.8 ± 1.4*	22.8 ± 1.0†	14.8 ± 0.8
mPAP/mAP	0.33 ± 0.04*	0.29 ± 0.01	0.19 ± 0.02
RAP (mm Hg)	6.8 ± 0.6*	7.2 ± 0.8†	4.8 ± 0.9
LAP (mm Hg)	8.60 ± 0.5*	8.20 ± 0.4†	5.80 ± 0.4
CO (L/min)	3.9 ± 0.3	5.7 ± 0.6†	3.6 ± 0.2
CI (L/min/m ²)	3.3 ± 0.5	4.7 ± 0.3†	3.1 ± 0.2
Calculated RVSV (mL)	46.4 ± 3.6†	65.3 ± 7.05†	44.1 ± 2.6
TPVR (dynes/sec/cm ⁵)	553.6 ± 48.0*†	287 ± 49.5	296.4 ± 23.8
Pressure-volume loops analysis			
RVSW (mm Hg/min)	2192 ± 255.9*	2110 ± 174.2†	1124 ± 44.06
Ees (mm Hg/min)	0.40 ± 0.12	0.31 ± 0.07	0.28 ± 0.06
Ea (mm Hg/min)	0.44 ± 0.17*	0.23 ± 0.04	0.20 ± 0.02
Right ventricle-pulmonary artery coupling	0.71 ± 0.15*	1.35 ± 0.32	1.39 ± 0.27
Echocardiography			
Indexed right ventricle diastolic area (cm ² /m ²)	9.7 ± 0.6*	7.1 ± 1.3	5.2 ± 0.2
Indexed left ventricle diastolic area (cm ² /m ²)	20.3 ± 3.6	23.0 ± 2.1	16.1 ± 1.9
Right ventricle/left ventricle area	0.55 ± 0.1*†	0.30 ± 0.05	0.34 ± 0.05
Right ventricle basal diastolic diameter (cm)	10.72 ± 1.36*	9.55 ± 1.84	6.72 ± 1.14
RVPAC %	0.26 ± 0.01*†	0.46 ± 0.03	0.46 ± 0.02
LVEF (%)	52.2 ± 6.1	59.2 ± 5.6	52.2 ± 12.5

Values are presented as mean ± standard deviation. CTEPH, Chronic thromboembolic pulmonary hypertension; HR, heart rate; Pao₂, arterial oxygen pressure; Svo₂, venous saturation in oxygen; mAP, mean systemic arterial pressure; mPAP, mean pulmonary arterial pressure; RAP, right atrial pressure; LAP, left atrial pressure; CO, cardiac output; CI, cardiac index; RVSV, right ventricular stroke volume; TPVR, total pulmonary vascular resistance; RVSW, right ventricular stroke work; Ees, elastance of RV; Ea, elastance of the pulmonary artery; RVPAC, right ventricular fractional area change; LVEF, left ventricle ejection fraction. *P < .05 CTEPH versus sham. †P < .05 shunt versus sham. ‡P < .05 shunt versus CTEPH.

VEGF 147: sc-507; Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, Calif). After incubation with secondary horse antimouse antibody (1:5000) immunoreactive bands were detected using chemiluminescence with Biorad Kit in a Chemidoc (Biorad) machine. Relative quantification was performed by normalization with glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase.

Statistical Analysis

The number of animals required was determined to obtain a difference of mPAP of 30% between models and sham. Eighteen piglets were necessary to obtain 5 animals in the 3 groups (16% of mortality). All data were expressed as mean values ± standard deviation. For histology, average values for each parameter in each animal were calculated. The Kolmogorov-Smirnov test was applied to test for normality of the distribution of each variable. After 20 weeks, the 3 groups were compared by 1-way analysis of variance, including post hoc analysis by Bonferroni posttest adjustment. Relationships between CD or fibrosis and right ventricle-PA coupling or with noninvasive index of right ventricular function were approached using linear regression and Pearson correlation. Statistical analyses were performed using GraphPad Prism 6 (GraphPad Software, San Diego, Calif) and SPSS version 22.0 for Mac (IBM-SPSS Inc, Armonk, NY).

RESULTS

Animal Study

Fifteen 1-month-old large white male piglets were studied at baseline and after 20 weeks. At baseline, weight (18.8 ± 1.16 kg), body surface area, and hemodynamic characteristics were not statistically different between groups (data not shown).

Hemodynamic assessment. Hemodynamic data are summarized in Table 1. Briefly, the CTEPH and shunt groups had both chronic pulmonary pressure overload with increase of mPAP and a decrease of the mPAP to mean arterial systemic pressure ratio compared with the sham group. Twenty weeks after induction of pressure overload, mPAP was significantly elevated in the shunt and CTEPH animals (23 ± 1 mm Hg and 27 ± 1 mm Hg, respectively) compared with sham animals (15 ± 1 mm Hg; P < .01). Cardiac index and cardiac output were higher in the shunt group compared with sham and CTEPH

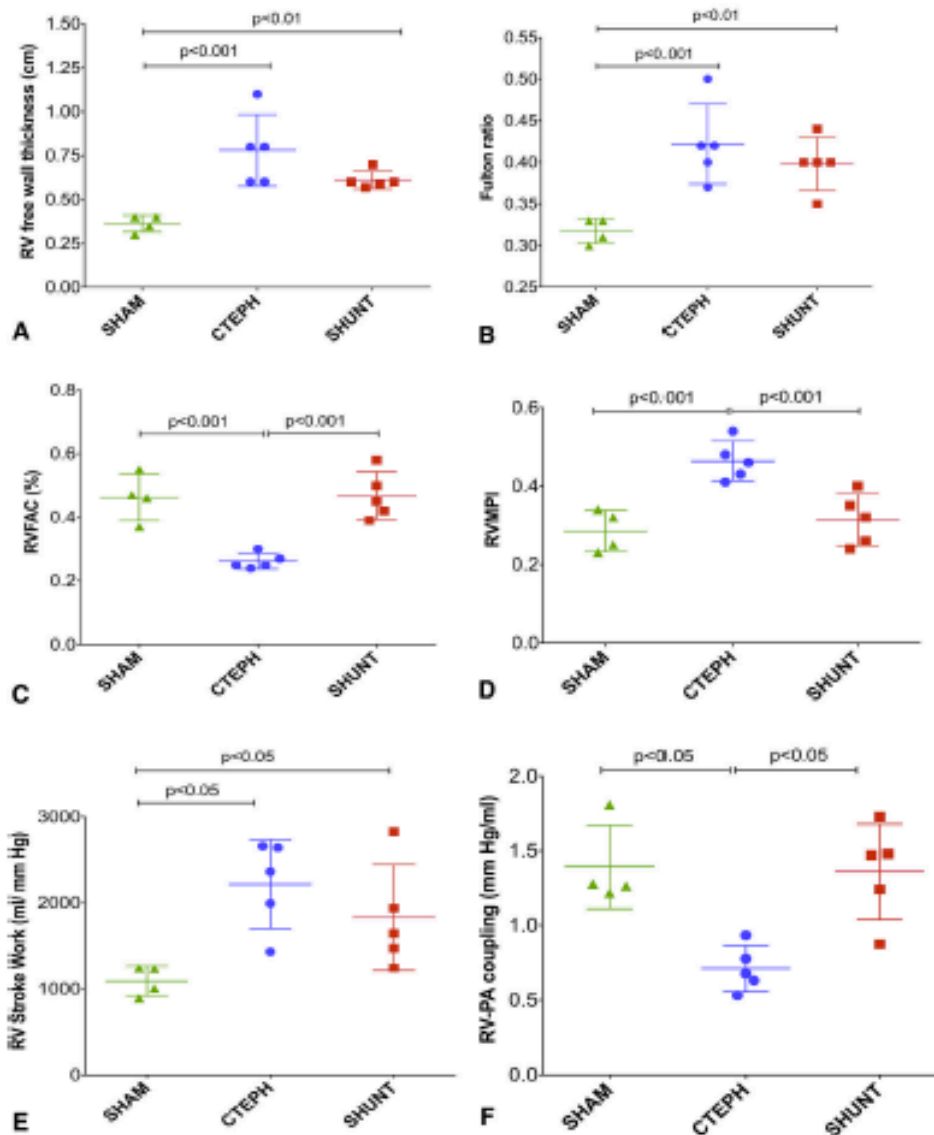


FIGURE 2. Right ventricular remodeling assessed by echocardiography, pressure-volume loops, and pathology. Pressure overload induced right ventricular hypertrophy in both chronic thromboembolic pulmonary hypertension (CTEPH) and shunt groups. A, Right ventricular hypertrophy was confirmed by increased right ventricle (RV) free wall thickness in echocardiography. B, Right ventricular hypertrophy was confirmed by increased Fulton ratio. C, Right ventricular systolic function was significantly impaired in the CTEPH group with a lower right ventricular fractional area change (RVFAC). D, Right ventricular systolic function was significantly impaired in the CTEPH group a higher right ventricular myocardial performance index (RVMPI). Pressure-volume loops study revealed an increased RV SW in both CTEPH and shunt groups, whereas the RV-pulmonary artery (RV-PA) coupling was only impaired in the CTEPH group. E, Right ventricular SW was significantly increased in both CTEPH and SHUNT groups. F, Right ventricle-PA coupling is decreased only in the CTEPH group.

animals. The systemic-to-pulmonary flow ratio (Fick method, pulmonary-systemic flow ratio [Qp/Qs]) was 1.66 ± 0.25 in the shunt group.

Structural remodeling of right ventricle to CPOS-induced right ventricular hypertrophy ratio in both PH models. After 20 weeks, the right ventricle was

hypertrophied in both groups (Figure 2, A and B). Echocardiographic middle right ventricle free wall thickness was increased in shunt (0.52 ± 0.02 cm) and CTEPH (0.66 ± 0.03 cm) groups compared with sham animals (0.41 ± 0.02 cm; $P < .01$). The Fulton ratio was also significantly elevated in shunt (0.40 ± 0.01) and CTEPH

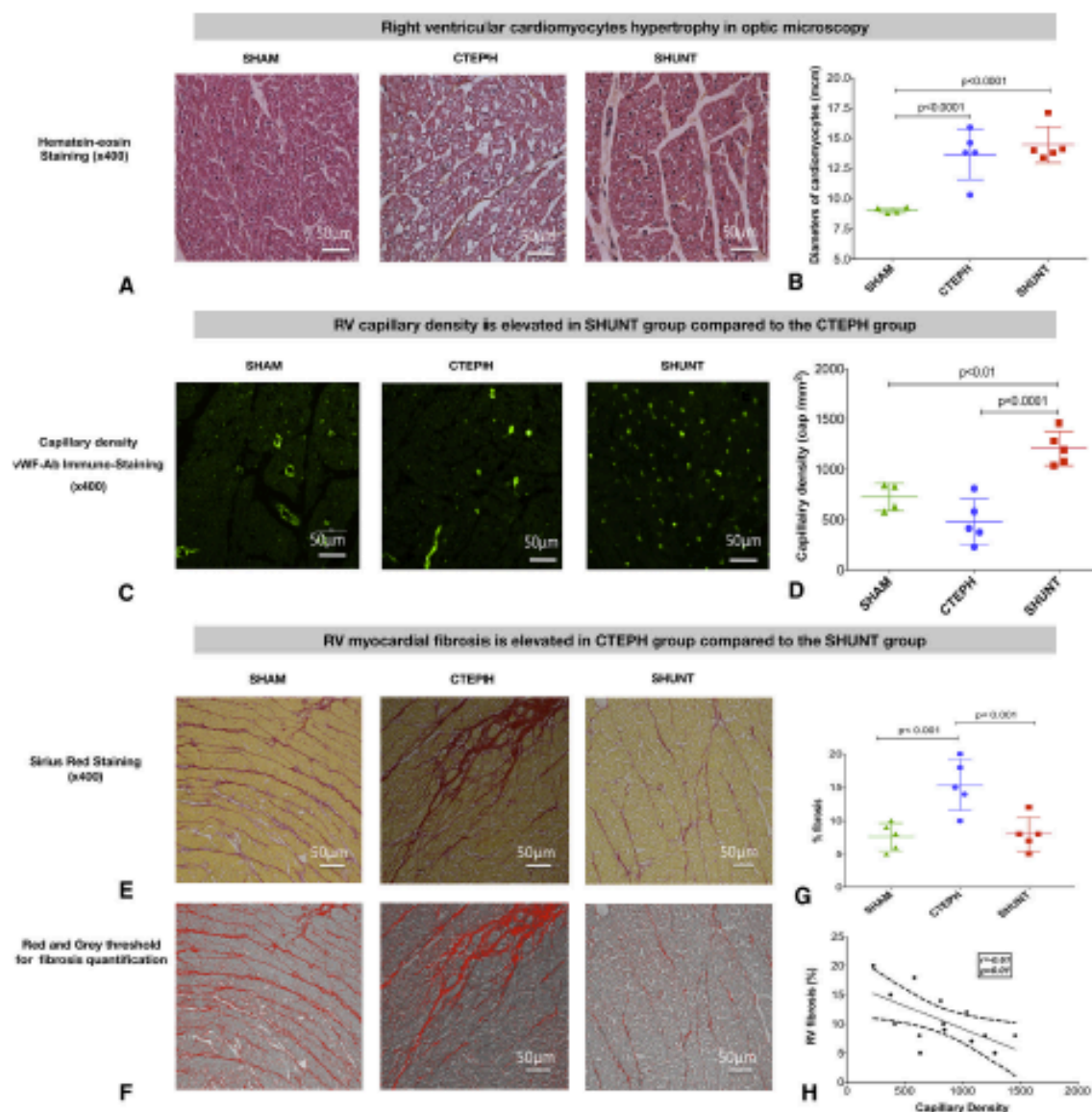


FIGURE 3. Cardiomyocytes size, capillary density, and fibrosis in the right ventricle (representative sections $\times 400$ magnification). A and B, Hematoxylin-eosin stained sections demonstrating that the transverse diameter of the cardiomyocytes was significantly higher in the chronic thromboembolic pulmonary hypertension (CTEPH) and shunt groups compared with the sham group ($14.6 \pm 0.7 \mu\text{m}$ and $14.1 \pm 0.5 \mu\text{m}$ vs $9.6 \pm 0.3 \mu\text{m}$; $P = .0006$). C and D, Capillary density quantification was calculated based on immunostaining using Von Willebrand factor antibody. Capillary density was significantly higher in the shunt group compared with the CTEPH and sham groups ($1213 \pm 74 \text{ cap/mm}^2$ vs $484 \pm 99 \text{ cap/mm}^2$ and $657 \pm 116 \text{ cap/mm}^2$; $P < .01$). E, Red sirius-stained sections showing that myocardial fibrosis rate automatically calculated with the described red threshold (F) was significantly higher in the CTEPH group compared with the shunt and the sham groups ($14.4\% \pm 3.8\%$ vs $8\% \pm 2.5\%$ and $8\% \pm 1\%$; $P < .01$). (G, H, Capillary density was inversely correlated to fibrosis rate. RV, Right ventricle.

(0.42 ± 0.02) animals compared with sham animals (0.32 ± 0.01 ; $P = .01$). right ventricular hypertrophy was confirmed in optical microscopy in shunt and CTEPH animals, with an increase in transverse diameter of cardiomyocytes ($14.6 \pm 0.7 \mu\text{m}$ and $14.1 \pm 0.5 \mu\text{m}$) compared with sham animals ($9.6 \pm 0.3 \mu\text{m}$; $P < .01$)

(Figure 3, A and B). According to echocardiograph findings, right ventricle enlargement was only found in the CTEPH group characterized by a higher indexed right ventricle end-diastolic area ($9.7 \pm 0.6 \text{ cm}^2$ vs $5.2 \pm 0.2 \text{ cm}^2$ sham or 7.1 ± 1.3 shunt; $P = .03$) and a higher right ventricle to left ventricle area ratio (Table 1).

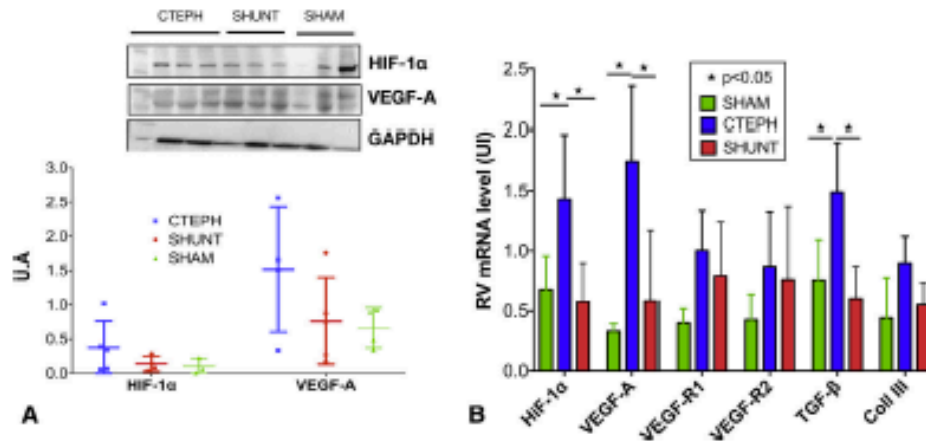


FIGURE 4. A, Hypoxia-inducible factor 1 α (*HIF-1 α*) and vascular endothelial growth factor type A (*VEGF-A*) right ventricular protein levels as assessed by Western blot were higher in the chronic thromboembolic pulmonary hypertension (*CTEPH*) group compared with the sham group ($P = .06$). B, *HIF-1 α* , *VEGF-A*, and tissue growth factor type β (*TGF- β*) gene expressions were significantly higher in the *CTEPH* group compared with the shunt group ($P = .02$, $P = .02$, and $P = .01$, respectively). *GAPDH*, Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase; *U.A.*, units arbitrary; *RV*, right ventricle; *UI*, units international; *coll*, collagen III.

Functional remodeling of right ventricle: Right ventricular function was maladaptive in the CTEPH group and adaptive in the shunt group. According to echocardiography, right ventricular function was impaired in the CTEPH group and remained stable in the shunt group (Figure 2). Compared with shunt animals, CTEPH animals had a higher right ventricular myocardial performance index (0.48 ± 0.04 vs 0.30 ± 0.02 ; $P = .02$), a lower RVFAC ($25.0\% \pm 1.0\%$ vs $49.0\% \pm 4.3\%$; $P < .01$) (Figure 2, C and D), and a lower tricuspid annular plan systolic excursion (1.11 ± 0.07 vs 1.5 ± 0.09 mm; $P < .01$). The right ventricle diastolic area and the basal diastolic diameter were increased in the CTEPH group, demonstrating right ventricle dilatation (Table 1).

Right ventricular SW was increased in both the CTEPH and the shunt groups compared with the sham group (Figure 2, E). However, CTEPH animals had a great degree of altered ventriculoarterial coupling (Ea/Ees 0.71 ± 0.15 vs 1.35 ± 0.32 for shunt and 1.39 ± 0.27 for sham; $P = .02$) (Figure 2, F) despite elevation of the Ees (not statistically significant) compared with the shunt group (Table 1).

High CD, CD to SW ratio, and low myocardial fibrosis were associated with adaptive right ventricle remodeling. CD was higher in the shunt group compared with the CTEPH group (1213 ± 74 cap/mm² vs 484 ± 99 cap/mm² and 657 ± 116 cap/mm² in the sham group; $P < .01$) (Figure 3, C and D). We found regularly distributed myocardial vessels in all groups. Conversely, diffuse right ventricular myocardial fibrosis was higher in the CTEPH group compared with the shunt group ($15.4\% \pm 3.8\%$ vs $8.0\% \pm 2.5\%$ and $8.0\% \pm 1.0\%$ in the sham group; $P < .01$) (Figure 3, E and G). Right ventricular CD and

myocardial fibrosis were inversely correlated (Figure 3, H). Fibrosis factors (eg, tissue growth factor type β) were overexpressed within the myocardium of CTEPH animals. This is consistent with the observed right ventricular myocardial fibrosis enhancement in this group (Figure 4). Despite a lower right ventricle CD in the CTEPH group, angiogenic factors (eg, VEGF and HIF-1 α) were increased in the right ventricle of CTEPH animals (Figure 4).

CTEPH animals had the lowest myocardial CD to SW ratio, which is also correlated with right ventricle-PA coupling (Figure 5, A and B). RVFAC and right ventricle-PA coupling were correlated to CD and inversely correlated to myocardial fibrosis (Figure 5, C-F).

DISCUSSION

The main finding of our study is that CD-SW mismatch is strongly associated with myocardial fibrosis and altered right ventricle-PA coupling in CPOS. Although HIF-1 α and VEGF-A were upregulated in the presence of a lower CD to SW ratio, this did not appear sufficient to compensate for the decreased CD (Video 1).

One of the original contributions of our study is that it validates original observations made in small animal models. The models we developed reproduce the physiology of CPOS with maladaptive remodeling (CTEPH model) and CPOS with adaptive remodeling, although at a lower degree of total pulmonary vascular resistance (shunt model). Boogard and colleagues⁷ were the first to describe a decrease in CD in failing right ventricle compared with adapted right ventricle. They studied 2 different models of PH in rats: the PA banding model inducing adaptive right ventricular remodeling and hypoxia + VEGFR blocker (Sugen, SU5416) model

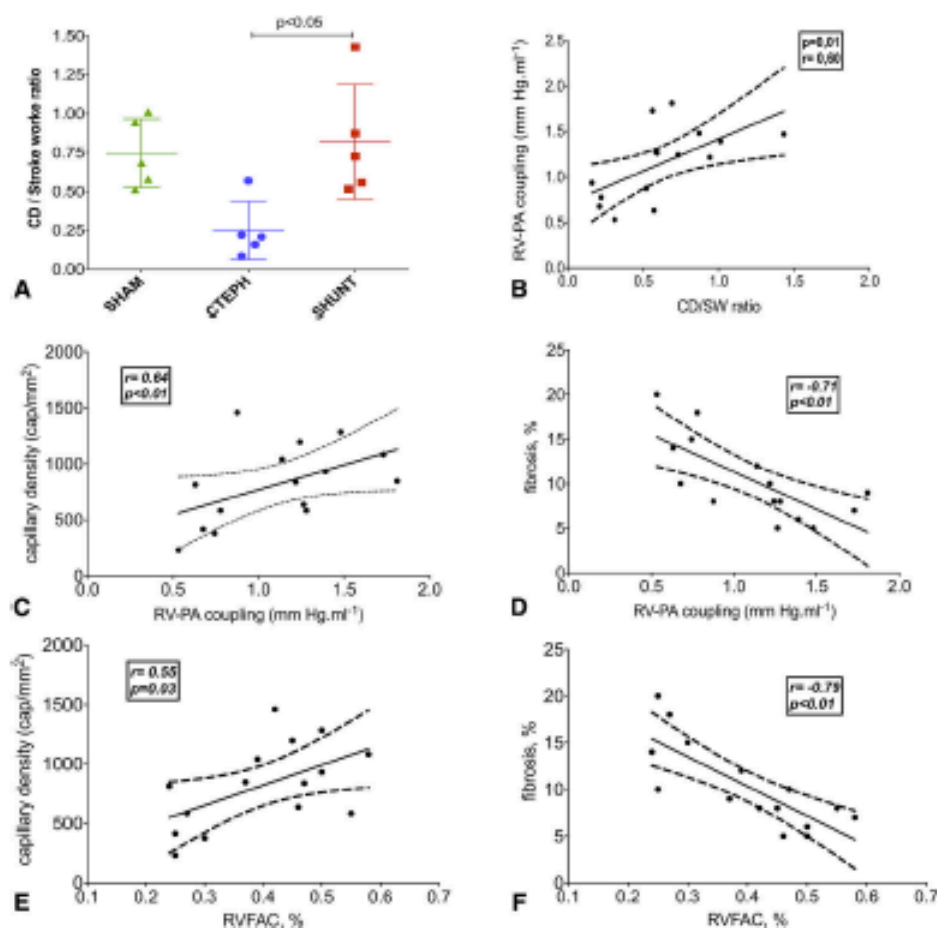


FIGURE 5. Correlations between capillary density, fibrosis, and right ventricular function. **A**, The capillary density-to-stroke work ratio (CD/SW) was significantly lower in the chronic thromboembolic pulmonary hypertension ($CTEPH$) group compared with the shunt group (0.29 ± 0.07 vs 0.82 ± 0.16 ; $P = .02$). **B**, CD/SW was also correlated with right ventricle–pulmonary artery ($RV-PA$) coupling ($r = .60$; $P = .02$). **C** and **E**, $RV-PA$ coupling and right ventricular fractional area change ($RVFAC$) were positively correlated with right ventricular CD . **D** and **F**, $RV-PA$ coupling and $RVFAC$ were negatively correlated with fibrosis. A mismatch between CD and right ventricular SW was associated with an impairment of the right ventricular systolic function and pulmonary artery coupling under chronic pulmonary pressure overload states. All statistical analyses were performed with $n = 5$ piglets per group.

inducing maladaptive right ventricle remodeling. The CD was correlated to right ventricular adaptation. However, these animal models did not replicate Eisenmenger physiology. Moreover, hypoxia + Sugren may interfere with myocardial angiogenesis. Our models did not use any anti-angiogenic compound and showed different CD related to right ventricular adaptation. Our results confirmed those from Bogaard and colleagues⁷ in 2 different PH animal models in that CD correlates with right ventricular adaptation. More recently, Sutendra and colleagues⁸ showed, in a monocrotaline rat model, that right ventricular CD was lower in decompensated right ventricular hypertrophy rather than in compensated right ventricular hypertrophy.

Although not proven by this study, the CD – SW mismatch may contribute to myocardial perfusion defects and

ischemia in a chronically overloaded right heart. Right ventricular ischemia is a recognized cause of the transition from adaptive to maladaptive right ventricular remodeling.^{8,24} Baldwin and colleagues²⁵ demonstrated lower right ventricular perfusion on cardiac perfusion scan with increased troponin blood level in patients with severe PH. In addition, high-pressure overload induces high right ventricle pressure during systole, preventing the usual systole–diastolic right ventricular coronary artery perfusion.²⁶ Relationships between right ventricular angiogenesis and hypertrophy pathways have been studied over the past few years.^{27–30} Sano and colleagues¹¹ showed that cardiac angiogenesis was involved in the development of adapted right ventricular hypertrophy. Despite right ventricular hypertrophy and angiogenic factors overexpression (eg,



VIDEO 1. Dr Pierre-Emmanuel Noly explains the main findings of this study and its importance in the field of pulmonary hypertension disease. Video available at: <http://www.jtcvs.org>.

HIF-1 α and VEGF), CTEPH animals did not adapt their right ventricle microcirculation as accurately as the shunt animals. Impairment of adaptive angiogenesis leads to imbalance between oxygen consumption and supply, worsening the effect of decreased coronary blood flow.³¹ The mechanism of impairment of angiogenesis and transition to maladaptive right ventricular function is not known. Our hypothesis is that an impairment of angiogenesis due to uncoupling of HIF-1 α and VEGF-A and glycolytic shift of the mitochondrial metabolism led to right ventricular dysfunction. In the CTEPH model, the right ventricle must increase its myocardial mass because the pulmonary pressures rise rapidly. We hypothesized that angiogenesis was not sufficient to supply the increased oxygen demand in the right ventricle, leading to myocardial ischemia and that relative right ventricular ischemia initiates the switch via HIF-1 α signaling. HIF-1 α may increase the activity of pyruvate dehydrogenase kinase, inhibiting the use of pyruvate for adenosine triphosphate production.²⁶ This, in turn, increases the rate of glycolysis and decreases production of mitochondrial reactive oxygen species. HIF1- α also stimulates angiogenesis by increasing the expression of VEGF. Some evidence suggests that an uncoupling of HIF-1 α and VEGF mediated by microRNA-34a may lead to decrease of CD, and thus, increase myocardial hypoxia.³²

More recently, Wong and colleagues³³ demonstrated that the right ventricle had less mechanical efficiency and less capacity to use oxygen in advanced-stage disease (New York Heart Association functional class III compared with functional class II). Discrepancy between the CD and right ventricular SW may help us to understand the inability of the right ventricle under end-stage PH to correctly use oxygen despite the metabolic shift. In addition to myocardial

malperfusion, myocardial fibrosis seemed to be associated with worse right ventricular function and maladaptive remodeling. Whether fibrosis is a consequence of chronic ischemia within the myocardium remains unknown. However, we found that CD and fibrosis were inversely correlated. A major clinical implication of our study is that it offers, in a large animal model, support for therapies targeting neovascularization or angiogenesis. Although HIF-1 α or VEGF upregulation was not sufficient to compensate the right ventricle in the CTEPH model, a higher dose delivered through gene therapy, or CD34-positive cells therapy, could in the future prove helpful. We are at the very early stages of this investigation.

Limitations

The study has several limitations. First, this study could not provide a mechanistic answer for the difference in right ventricular adaptation between our 2 models of chronic pressure overload. We observed a mismatch between CD and the structural and functional remodeling of the right ventricle in the CTEPH model, but its cause remains unknown. Although we found a strong association between lower CD to SW ratio, fibrosis, and right ventricular maladaptation, we did not perform a recovery study that could demonstrate the causal relationship. We also investigated a panel of key regulating genes but did not analyze a more complex network of regulating factors. The study offers strong base for future work targeting CD in the right heart. Second, chronic pressure overload was induced in growing piglets, a process that could theoretically interfere with mechanisms of right ventricle adaptation. Because of the growth rate of swine (20 kg at basal state to 50 kg after 20 weeks) and because of the duration of the study protocol (20 weeks), we chose to use small piglets at the basal state. We aimed to study right ventricular adaptation in the face of a chronic pressure overload regimen. We know that the CTEPH model is achieved after 6 weeks and Rondelet and colleagues¹² demonstrated that PH is obtained in the shunt model after 12 weeks. To reproduce the chronic state of right ventricular pressure overload, we assessed the models after 20 weeks of evolution. Finally, it would be interesting to have more time points in terms of myocardial CD assessment. But this could not be possible without scaring the animals and this kind of protocol would require too many animals.

CONCLUSIONS

The right ventricular adaptive response to CPOS differed between the 2 models. Our results suggest that adaptive right ventricular remodeling to pressure overload is correlated to increased right ventricular CD and a low rate of myocardial fibrosis. The CD to SW ratio could be a promising index to assess right ventricular maladaptation to a pressure overload state. SW could be calculated after

right ventricle catheterization. Further studies are needed to explore the correlation between the assessment of the myocardial perfusion with nuclear imaging and the myocardial CD in the right ventricle. A causality relationship cannot be established with our data and the mechanisms underlying these findings remain unknown. Further studies are needed to elucidate the mechanism of right ventricular microvascularization regulation and to determine a mean to calculate the CD to SW ratio applicable to clinical practice.

Conflict of Interest Statement

Authors have nothing to disclose with regard to commercial support.

References

- Hambert M, Sibon O, Chauat A, Bertocchi M, Habib G, Gressin V, et al. Survival in patients with idiopathic, familial, and anorexigen-associated pulmonary arterial hypertension in the modern management era. *Circulation*. 2010;122:156-63.
- Haddad F, Doyle R, Murphy DJ, Hunt SA. Right ventricular function in cardiovascular disease, part II: pathophysiology, clinical importance, and management of right ventricular failure. *Circulation*. 2008;117:1717-31.
- Hopkins WE, Waggoner AD. Severe pulmonary hypertension without right ventricular failure: the unique hearts of patients with Eisenmenger syndrome. *Am J Cardiol*. 2002;89:34-8.
- Hopkins WE. The remarkable right ventricle of patients with Eisenmenger syndrome. *Coron Artery Dis*. 2005;16:19-25.
- McLaughlin VV, Pechet KW, Doyle RL, Altman SH, McCrory DC, Rotin T, et al. Prognosis of pulmonary arterial hypertension: ACCP evidence-based clinical practice guidelines. *Chest*. 2004;126:78S-92S.
- Hopkins WE, Ochoa LL, Richardson GW, Trulock EP. Comparison of the hemodynamics and survival of adults with severe primary pulmonary hypertension or Eisenmenger syndrome. *J Heart Lung Transpl*. 1996;15:100-5.
- Bogaard HU, Natanjan R, Henderson SC, Long CS, Klokoukas D, Smithson L, et al. Chronic pulmonary artery pressure elevation is insufficient to explain right heart failure. *Circulation*. 2009;120:1951-60.
- Satendra G, Dromparis P, Pafitis R, Zervopoulos S, Haromy A, Nagendran J, et al. A metabolic remodeling in right ventricular hypertrophy is associated with decreased angiogenesis and a transition from a compensated to a decompensated state in pulmonary hypertension. *J Mol Med (Berl)*. 2013;91:1315-27.
- Gomez A, Bialostocky D, Zajarias A, Santos F, Palomar A, Martinez ML, et al. Right ventricular ischemia in patients with primary pulmonary hypertension. *J Am Coll Cardiol*. 2001;38:1137-42.
- Isumi Y, Shiojima I, Sato K, Sawyer DB, Colucci WS, Walsh K. Vascular endothelial growth factor blockade promotes the transition from compensatory cardiac hypertrophy to failure in response to pressure overload. *Hypertension*. 2006;47:887-93.
- Sano M, Minamino T, Toko H, Miyachi H, Orimo M, Qin Y, et al. p53-induced inhibition of Hif-1 causes cardiac dysfunction during pressure overload. *Nature*. 2007;446:444-8.
- Roufelet B, Kerbaul F, Motte S, van Beneden R, Remmelink M, Brimiouille S, et al. Bosentan for the prevention of overcirculation-induced experimental pulmonary arterial hypertension. *Circulation*. 2009;119:1329-35.
- Mencier O, Trone A, Dorfmueller P, de Perrot M, Raoux F, Deceuninck B, et al. Piglet model of chronic pulmonary hypertension. *Pulmon Circ*. 2013;3:908-15.
- Noly PE, Guilbaire J, Collesse M, Dorfmueller P, Fadel E, Mencier O. Chronic thromboembolic pulmonary hypertension and assessment of right ventricular function in the piglet. *J Mr Exp*. 2015;2:53-63.
- Roufelet B, Dewachter C, Kerbaul F, Kang X, Fessler P, Brimiouille S, et al. Prolonged overcirculation-induced pulmonary arterial hypertension as a cause of right ventricular failure. *Eur Heart J*. 2012;33:1017-26.
- Wilkinson JL. Haemodynamic calculations in the catheter laboratory. *Heart*. 2001;85:113-20.
- McMichael J, Shupey-Schafer EP. Cardiac output in man by a direct Fick method: effects of posture, venous pressure change, atropine, and adrenaline. *Br Heart J*. 1944;6:33-40.
- Hoepfer MM, Maier R, Tongers J, Niedermeier J, Hohlfeld JM, Hamm M, et al. De-termination of cardiac output by the Fick method, thermofluidation, and acetylene rebreathing in pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit Care Med*. 1999;160:535-41.
- Burkhardt D, Minsky I, Suga H. Assessment of systolic and diastolic ventricular properties via pressure-volume analysis: a guide for clinical, translational, and basic researchers. *Am J Physiol*. 2005;289:H501-12.
- Pagnamenta A, Dewachter C, McEntee K, Fessler P, Brimiouille S, Nacjic R. Early right ventricle-arterial uncoupling in borderline pulmonary hypertension on experimental heart failure. *J Appl Physiol*. 2010;109:1080-5.
- Galie N, Hoepfer MM, Humbert M, Toubi A, Vachiery JL, Barber JA, et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension. *Eur Respir J*. 2009;34:1219-63.
- Lang RM, Bierig M, Devereux RB, Flachskampf FA, Foster E, Pellikka PA, et al. Recommendations for chamber quantification: a report from the American Society of Echocardiography's Guidelines and Standards Committee and the Chamber Quantification Writing Group, developed in conjunction with the European Association of Echocardiography, a branch of the European Society of Cardiology. *J Am Soc Echocardiogr*. 2005;18:1440-63.
- Hadi AM, Mouchaers KT, Schlij I, Grunberg K, Meijer GA, Vok-Nootegraaf A, et al. Rapid quantification of myocardial fibrosis: a new macro-based automated analysis. *Cell Oncol (Dordr)*. 2011;34:343-54.
- Ryan JJ, Archer SL. The right ventricle in pulmonary arterial hypertension: disorders of metabolism, angiogenesis, and adrenergic signaling in right ventricular failure. *Circ Res*. 2014;115:176-88.
- Baldwa S, Rama M, Canty JM Jr, Fallavollita JA. Comparison of thallium deposition with segmental perfusion in pigs with chronic hibernating myocardium. *Am J Physiol*. 2008;295:H2522-9.
- Rich S. Right ventricular adaptation and maladaptation in chronic pulmonary arterial hypertension. *Cardiol Clin*. 2012;30:257-69.
- Drake J, Bogaard HU, Mizuno S, Clifton B, Xie B, Gao Y, et al. Molecular signature of a right heart failure program in chronic severe pulmonary hypertension. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2011;45:1230-47.
- Greyson CR. Pathophysiology of right ventricular failure. *Crit Care Med*. 2008;36:S57-65.
- Hadlicka O, Brown M, Egginton S. Angiogenesis in skeletal and cardiac muscle. *Physiol Rev*. 1992;72:369-417.
- Shiojima I, Sato K, Izumiya Y, Schiekofer S, Ito M, Liao R, et al. Disruption of coordinated cardiac hypertrophy and angiogenesis contributes to the transition to heart failure. *J Clin Invest*. 2005;115:2108-18.
- Toyota E, Matsunaga T, Chilian WM. Myocardial angiogenesis. *Mol Cell Biochem*. 2004;264:35-44.
- van Rooij F, Puuxell AL, Levin AA. Developing microRNA therapeutics. *Circ Res*. 2012;110:496-507.
- Wong YY, Rauter G, Labberink M, Rajmakers PG, Knaepen P, Marcus JT, et al. Right ventricular failure in idiopathic pulmonary arterial hypertension is associated with inefficient myocardial oxygen utilization. *Circ Heart Fail*. 2011;4:700-6.

Key Words: right ventricle, adaptive remodeling, pulmonary hypertension, angiogenesis, fibrosis

Travail 2 : « Capillary Density in failing human right ventricle »

Soumis à Journal of Heart and Lung Transplantation

Introduction et hypothèse : Malgré des pressions pulmonaires très élevées, les patients atteints de syndrome d'Eisenmenger ont une durée de vie plus longue que les patients atteints d'HTAP. Cette différence serait liée à une meilleure adaptation du ventricule droit à la surcharge chronique de pression. L'altération de la microvascularisation pulmonaire est un des mécanismes impliqués dans la survenue de la défaillance ventriculaire droite. Nous supposons que la densité capillaire du VD de patients Eisenmenger est plus élevée que ceux atteints d'une HTAP d'autre étiologie.

Méthodes et résultats : Nous avons étudié rétrospectivement 28 patients transplantés cœur-poumon à l'Hôpital Marie-Lannelongue pour syndrome d'Eisenmenger (n=14) et HP idiopathique ou post embolique (n=14). La densité capillaire du VD a été mesurée et comparée entre les deux groupes à partir des spécimens de ventricule droit prélevés au moment de la transplantation. Nous avons observé que la densité capillaire était abaissée dans les 2 groupes de patients de manière similaire.

Conclusion : Au stade terminale de la défaillance droite, il semble que la densité capillaire ventriculaire droite soit diminuée, quel que soit l'étiologie de l'hypertension artérielle. Ces observations soulignent la nécessité de développer de nouvelles thérapies ciblées sur l'angiogenèse du ventricule droit dans l'HP.

Elsevier Editorial System(tm) for Journal of
Heart and Lung Transplantation
Manuscript Draft

Manuscript Number:

Title: Capillary Density in failing human right ventricle

Article Type: Research Correspondence

Corresponding Author: Dr. Pierre-Emmanuel Noly,

Corresponding Author's Institution: Montreal Heart Institute

First Author: Pierre-Emmanuel Noly

Order of Authors: Pierre-Emmanuel Noly; Peter Dorfmueller, MD, PhD; Elie Fadel, MD, PhD; Olaf Mercier, MD, PhD

September 11th, 2017

Dr. Mandeep R. Mehra,
Editor-in-Chief
The Journal of Heart and Lung Transplantation

Category: Research correspondence

Dear Dr. Mehra,

Please find enclosed a manuscript entitled "Capillary Density in failing human right ventricle " that we would like you to consider for publication in *The Journal of Heart and Lung Transplantation*.

To the best of our knowledge, there is only few study assessing the capillary density in right ventricle of patients who underwent heart-lung transplantation for end-stage right ventricular failure and pulmonary hypertension. In this study, we showed that the impairment of microvasculature may be one component of right ventricle failure in patients with end-stage pulmonary hypertension, highlighting the need for further research in that field. All authors state that they had full control of the design of the study, methods used, outcome parameters and results, analysis of data and production of the written report. The contents are entirely original and have not been published previously in any language. There are no conflicts of interest to disclose.

Thank you for your consideration.

Sincerely,



Pierre-Emmanuel Noly, MD

5000, rue Bélanger, Montréal (Québec) H1T 1C8 • Tél. : (514) 376-3330

Institut universitaire affilié à l'Université de Montréal

*Manuscript file

[Click here to view linked References](#)

1 **Capillary Density in failing human right ventricle**

2

3 Pierre-Emmanuel Noly MD MSc^{1,2}, Peter Dorfmueller MD PhD^{1,3}, Elie Fadel MD PhD^{1,2,4},

4 and Olaf Mercier MD PhD^{1,2,4}

5

6 1- Paris-Saclay University, School of Medicine, Kremlin-Bicêtre, France

7 2- Surgical Research Lab, Marie Lannelongue Hospital, Le Plessis-Robinson, France

8 3- Department of Pathology, Marie Lannelongue Hospital, Le Plessis Robinson, France

9 4- Department of Thoracic and Vascular Surgery and Heart-lung Transplantation, DHU
10 Thorax Innovation, Marie Lannelongue Hospital, Le Plessis Robinson, France

11

12

13 **Corresponding author:** Olaf Mercier, MD, PhD, Department of thoracic and vascular
14 surgery and heart-lung transplantation, Marie Lannelongue Hospital, 133 avenue de la

15 Résistance 92350 Le Plessis Robinson, France. Tel: +331 40 94 86 95 Fax: +331 40 94 85

16 62 email: o.mercier@ccml.fr

17

18 **Word count: 850**

19

20 **Keywords:** Right Ventricle, Pulmonary Hypertension, capillary density

21

22 **Introduction**

23 Right ventricular failure (RVF) is still associated with an increased mortality in
24 patients with pulmonary hypertension or congenital heart disease. Transition from right
25 ventricular dysfunction to RVF is not predictable and has not been well understood so far.
26 Several studies in rodents and in piglets showed that impairment of capillary density in right
27 ventricle (RV) is associated with right ventricular failure(1, 2). Some evidences suggested
28 that the right ventricle of patients with Eisenmenger Syndrome (ES) has remarkable adaptive
29 capacities to high pulmonary pressures(3), leading to a longer survival in these patients when
30 compared to patients with other aetiology of pulmonary hypertension. It has been suggested
31 that a better adaptation of RV angiogenesis to the RV hypertrophy in patients with ES could
32 explain this phenomenon(2). However, to the best of our knowledge, there is no study of
33 capillary density in human heart of patients who underwent heart-lung transplantation for
34 end-stage pulmonary hypertension and right heart failure. Thus, our study aimed to assess
35 and to compare the capillary density of the right ventricle in explanted heart from patients
36 who underwent heart-lung transplantation for end-stage pulmonary hypertension or
37 Eisenmenger Syndrome.

38

39 **Patients and methods**

40 *Patients*

41 We retrospectively studied 28 patients with ES (n=14) or idiopathic pulmonary hypertension
42 (n=14) who underwent heart-lung transplantation for end-stage pulmonary hypertension with
43 right ventricular failure between 1986 and 2011 in our institution. The native hearts of these
44 patients were harvested for histological analyze and were systematically embedded in
45 paraffin at the time of transplantation. Tissues were stored in our institutional Bio-Bank after
46 written informed consent of the patients. Our institutional ethical review board approved this

47 retrospective study. Clinical and hemodynamic characteristics before transplantation were
48 collected from medical records. Assessment of the capillary density and myocardial fibrosis
49 were performed from samples from the right ventricle and were compared between
50 Eisenmenger patients and idiopathic pulmonary hypertension patients.

51

52 *Study of right ventricular capillary density and myocardial fibrosis*

53 Slices of right ventricle were stained with a VECTASTAIN® ABC-AP mouse
54 immunoglobulin-CD34 Kit (VECTOR laboratories, UK) according to the user's
55 recommendations. Capillaries were detected by immunohistochemistry, using a monoclonal
56 mouse CD34 antibody (1:100) that was detected with an avidin/biotin reaction after
57 secondary horse anti-mouse antibody. To determine capillary density, 15 randomly selected
58 fields of tissue cross-sections from 1 slide per human heart were examined. The mean of the
59 15 measures was considered as myocardial capillary density.

60 Myocardial fibrosis was quantified with red Sirius staining. RV myocardial fibrosis was
61 automatically quantified using ImageJ v1.4 software(4) from 10 fields per red Sirius staining
62 slide. We calculated the ratio between fibrosis and the total amount of tissue assessed by
63 determining the total tissue areas occupied by cardiomyocytes and collagen, excluding the
64 lumen (i.e.empty spaces), as well as excluding annotations of perivascular fibrosis.

65

66 **Results**

67 Among the 28 patients, 12 (48%) were men and average 34 ± 11 years. In the ES group,
68 the underlying pathology were patent ductus arteriosus (n=4), atrial septal defect (n=3),
69 single ventricle (n=3), truncus arteriosus (n=2) and atrial plus interventricular septal defect
70 (n=2). The time from diagnosis to transplantation was 168 ± 178 months and was longer in the
71 ES group (Table). All patients had symptomatic chronic right ventricular failure and severe

72 pulmonary hypertension. The mean pulmonary arterial pressure (mPAP) (64 ± 18 mm Hg) and
73 the pulmonary vascular resistance (2000 ± 720 dynes.cm⁻¹.s⁻⁵) were higher in ES patients
74 (Table). Patient's characteristics are summarized in the table.

75 The right ventricular capillary density was 1294 ± 307 capillary.mm⁻² and was not
76 different between the 2 groups (1345 ± 70.55 capillary.mm⁻² vs. 1242 ± 93.02 capillary.mm⁻²;
77 $p=0.76$) (Figure A). The capillary density found in normal heart was represented in the third
78 column (from Stoker and al (5)). Myocardial fibrosis was $15.3\pm 2.1\%$ and was also not
79 different between ES patients and non-ES patients ($13.4\pm 1.8\%$ vs. 17.7 ± 2.8 ; $p=0.23$) (Figure
80 B).

81

82 Discussion

83 In this study, we found that capillary density in right ventricle from patient who
84 underwent heart-lung transplantation for end-stage pulmonary pressure was low and similar
85 between ES patients and patients with idiopathic pulmonary hypertension. In an anatomical
86 study of 6 normal hearts, Stoker and al (5) reported the normal value of myocardial capillary
87 density in humans around 2400 capillary.mm⁻². With a mean of 1200 capillary.mm⁻², both
88 groups of transplanted patients had a significantly lower CD. These results are consistent
89 with several experimental results showing that maladaptive right ventricular remodelling is
90 correlated to capillary density(1, 2). The absence of significant difference between the two
91 groups was somewhat surprising regarding previous studies that suggested that the capillary
92 density of right ventricle would be higher in the later. This is probably because our study
93 assessed myocardial microvascularisation in end-stage failing right ventricle whereas other
94 studies were performed on right ventricle earlier in the time-course of right ventricular
95 dysfunction. The main limitation of this retrospective study is the lack of echographic or
96 other imaging data of right ventricular function. However, we could assume that all patients

97 had right ventricular failure associated with pulmonary hypertension justifying heart-lung
98 transplantation.

99 In conclusion, myocardial microvascularisation impairment may be a signature of right
100 ventricular failure irrespective the aetiology of pulmonary hypertension. These findings
101 highlight the need of development of new target therapies to restore myocardial angiogenesis
102 in failing right ventricle.

103

104 **Acknowledgment and Conflict of interest: none**

105

106 **Funding:** This work is supported by a public grant overseen by the French National Research
107 Agency (ANR) as part of the second Investissements d’Avenir programme (reference: ANR-
108 15-RHUS-0002).

109

110

111 **References**

112

- 113 1. Bogaard HJ, Natarajan R, Henderson SC, et al.: Chronic pulmonary artery pressure
114 elevation is insufficient to explain right heart failure. *Circulation* 2009;120:1951-60.
- 115 2. Noly PE, Haddad F, Arthur-Ataam J, et al.: The importance of capillary density-
116 stroke work mismatch for right ventricular adaptation to chronic pressure overload. *J Thorac*
117 *Cardiovasc Surg* 2017.
- 118 3. Hopkins WE: The remarkable right ventricle of patients with Eisenmenger syndrome.
119 *Coron Artery Dis* 2005;16:19-25.
- 120 4. Schneider CA, Rasband WS, Eliceiri KW: NIH Image to ImageJ: 25 years of image
121 analysis. *Nat Methods* 2012;9:671-5.
- 122 5. Stoker ME, Gerdes AM, May JF: Regional differences in capillary density and
123 myocyte size in the normal human heart. *Anat Rec* 1982;202:187-91.

124

125

126 Figure and Table

127 Table : Characteristics before heart-lung transplantation.

128

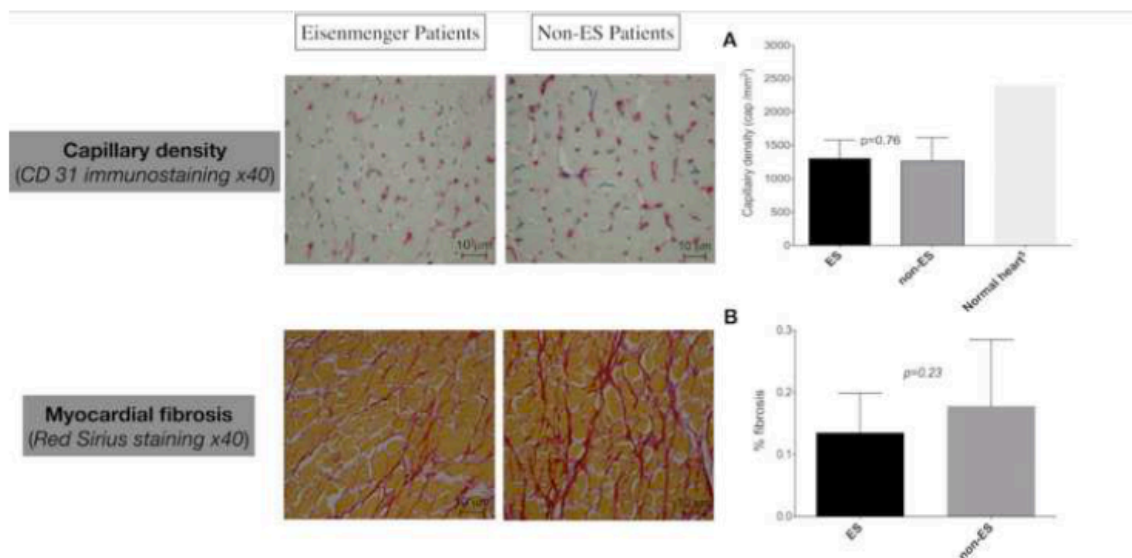
Variables	ES patients N = 14	Non-ES patients N = 14	P
Gender, <i>men</i>	5 (36%)	7 (50%)	<i>ns</i>
Mean Age, <i>years</i>	33.50± 2.67	35.29± 3.7	<i>ns</i>
Weight, <i>kg</i>	51±8	71±11	<i>ns</i>
Height, <i>cm</i>	161±10	171±10	<i>ns</i>
NYHA Class IV, %	12 (85.7%)	10 (71.42%)	<i>ns</i>
Time from diagnosis to transplantation, <i>months</i>	273.4± 49.51	54.92± 20.03	<i>p = 0.0001</i>
Mean Pulmonary pressure, <i>mm Hg</i>	77.0± 5.7	54.57± 2.6	<i>p = 0.001</i>
Cardiac Index, <i>L.min⁻¹.m²</i>	2.89± 0.38	2.54± 0.22	<i>ns</i>
Pulmonary Vascular Resistance, <i>dynes.cm⁻¹.s⁵</i>	2267± 355.4	1758± 188.3	<i>p = 0.001</i>
Right Atrial Pressure, <i>mm Hg</i>	12±3	10±2	<i>ns</i>
Pulmonary Capillary Wedge Pressure, <i>mm Hg</i>	7±3	8±3.6	<i>ns</i>

129

130

131 Figure: Human right ventricular capillary density and fibrosis in end-stage Eisenmenger
 132 Syndrome (ES) and non-ES pulmonary hypertension patients who underwent heart-lung
 133 transplantation. Capillary density (CD31 immunostaining) and myocardial fibrosis rate (red
 134 Sirius staining) were not significantly different in these patients with end-stage diseases.

135



Travail 3 : «Mitochondrial Respiratory Function in the Setting of Right Ventricular Remodeling Induced by Chronic Pulmonary Hypertension in piglets »

Soumis à Cardiovascular Research

Introduction et hypothèse : Les mécanismes de la transition de la phase adaptée à la phase maladaptative de la fonction ventriculaire droite dans l'HP restent mal connus. L'altération du métabolisme mitochondrial secondaire à l'ischémie myocardique contribuerait à la survenue de la défaillance droite. Nous supposons que les capacités respiratoires mitochondriales sont altérées au cours du remodelage ventriculaire droit en présence d'hypertension artérielle pulmonaire.

Méthodes : Nous avons utilisé le modèle porcin d'HPPE développé dans le laboratoire. La fonction ventriculaire droite et les capacités respiratoires mitochondriales étaient étudiées à 3 semaines, 6 semaines et 12 semaines après l'induction de l'HP. La masse et les anomalies structurelles mitochondriales ont été évaluées en microscopie électronique à transmission après 12 semaines.

Résultats : A partir de 3 semaines, l'augmentation de surcharge induisait une dilatation et une dysfonction ventriculaire droite. Le remodelage du VD était maladaptatif avec une diminution du couplage ventriculo-artériel. L'analyse de la fonction mitochondriale par la technique des fibres perméabilisées a révélé une altération précoce, dès 3 semaines, des capacités respiratoires. Les capacités oxydatives mesurées en présence de substrats alimentant le complexe I, II et IV de la chaîne respiratoire mitochondriale étaient diminuées comparé aux animaux témoins. Nous n'avons pas observé de modification de l'utilisation de substrat au cours du temps. La masse mitochondriale semblait préservée en analyse microscopique électronique. En revanche, le taux d'altération structurelle mitochondriales évalué par un score, était beaucoup plus élevé dans le VD soumis à l'HP.

Conclusion : L'altération des capacités respiratoires mitochondriales survient de manière précoce et perdure au cours de l'installation de la défaillance ventriculaire droite dans un modèle porcin d'HPPE. Si l'ischémie myocardique semble être le déclencheur de la dysfonction mitochondriale, les mécanismes impliqués doivent encore être élucidés. Dans notre modèle, nous n'avons pas retrouvé d'argument pour le rôle du shift glycolytique.

Cardiovascular Research

Mitochondrial Respiratory Function in the Setting of Right Ventricular Remodeling Induced by Chronic Pulmonary Hypertension in piglets

–Manuscript Draft–

Manuscript Number:	
Full Title:	Mitochondrial Respiratory Function in the Setting of Right Ventricular Remodeling Induced by Chronic Pulmonary Hypertension in piglets
Short Title:	Mitochondrial Function in Right Ventricular Remodeling
Article Type:	Original Article
Keywords:	right ventricular dysfunction, experimental pulmonary hypertension, mitochondria
Corresponding Author:	Pierre-Emmanuel Noly, MD Institut De Cardiologie de Montreal Montreal, Qc CANADA
Corresponding Author Secondary Information:	
Corresponding Author's Institution:	Institut De Cardiologie de Montreal
Corresponding Author's Secondary Institution:	
First Author:	Pierre-Emmanuel Noly, MD
First Author Secondary Information:	
Order of Authors:	Pierre-Emmanuel Noly, MD Jérôme Piquereau, PhD Jennifer Arthur Ataam, PhD Matthieu Coblenca, MD Julien Guihaire, MD, PhD Catherine Rucker-Martin, PhD Benoit Decante, MSc Elie Fadel, MD, PhD François Haddad, MD Olaf Mercier, MD, PhD
Order of Authors Secondary Information:	
Abstract:	<p>Aims: Mechanisms of the transition of adaptive to maladaptive right ventricle remodelling and failure remains to be elucidated. As a key-factor of myocardial physiology, we hypothesized that mitochondria play a crucial role. Hence, we aimed to assess the mitochondrial respiratory capacities in the right ventricle in the setting of ventricular remodeling induced by pulmonary arterial pressure overload. Methods and Results: Chronic thromboembolic pulmonary hypertension was induced in 8 piglets over a 12-week period (CTEPH model). Right ventricular (RV) remodeling, RV function, and mitochondrial respiratory function were assessed at 3, 6 and 12 weeks after induction of pulmonary hypertension and were compared to sham animals (n=5). RV cardiomyocytes and mitochondrial structure were studied in transmission electronic microscopy (TEM) after 12 weeks. As of 3 weeks, chronic pressure overload induced RV dilatation, RV hypertrophy and RV dysfunction. Maladaptive remodeling in the CTEPH model was confirmed by the decrease of RV-PA coupling and right fractional area change. Mitochondrial functional assays in permeabilized RV myocardial fibers revealed an early impairment of maximal respiratory capacities in this model. Oxidative phosphorylation capacities measured in the presence of substrates feeding complex I, complex II and IV of the mitochondrial respiratory chain were degraded and no change</p>

Powered by Editorial Manager® and Prodxion Manager® from Aries Systems Corporation

	<p>in substrate preference of mitochondria was found in the overloaded right ventricle. There was a good correlation between maximal mitochondrial oxygen consumption rate and RV-PA coupling (Pearson coefficient $r=0.83$). TEM analysis showed that the composition of cardiomyocytes was no different between the CTEPH and the SHAM group. However, mitochondrial structure anomalies such as cristae destruction, swelling, lipidic vacuole, and membrane alteration were significantly increased in the right ventricle of CTEPH animals. Conclusion: Mitochondrial respiratory function impairment is early involved in the development of RV dysfunction in a piglet model of CTEPH. Underlying mechanisms remain to be elucidated.</p>
Suggested Reviewers:	
Opposed Reviewers:	

ABSTRACT

Aims: Mechanisms of the transition of adaptive to maladaptive right ventricle remodelling and failure remains to be elucidated. As a key-factor of myocardial physiology, we hypothesized that mitochondria play a crucial role. Hence, we aimed to assess the mitochondrial respiratory capacities in the right ventricle in the setting of ventricular remodeling induced by pulmonary arterial pressure overload. **Methods and Results:** Chronic thromboembolic pulmonary hypertension was induced in 8 piglets over a 12-week period (CTEPH model). Right ventricular (RV) remodeling, RV function, and mitochondrial respiratory function were assessed at 3, 6 and 12 weeks after induction of pulmonary hypertension and were compared to sham animals (n=5). RV cardiomyocytes and mitochondrial structure were studied in transmission electronic microscopy (TEM) after 12 weeks. As of 3 weeks, chronic pressure overload induced RV dilatation, RV hypertrophy and RV dysfunction. Maladaptive remodeling in the CTEPH model was confirmed by the decrease of RV-PA coupling and right fractional area change. Mitochondrial functional assays in permeabilized RV myocardial fibers revealed an early impairment of maximal respiratory capacities in this model. Oxidative phosphorylation capacities measured in the presence of substrates feeding complex I, complex II and IV of the mitochondrial respiratory chain were degraded and no change in substrate preference of mitochondria was found in the overloaded right ventricle. There was a good correlation between maximal mitochondrial oxygen consumption rate and RV-PA coupling (Pearson coefficient $r=0.83$). TEM analysis showed that the composition of cardiomyocytes was no different between the CTEPH and the SHAM group. However, mitochondrial structure anomalies such as cristae destruction, swelling, lipidic vacuole, and membrane alteration were significantly increased in the right ventricle of CTEPH animals. **Conclusion:** Mitochondrial respiratory function impairment is early involved in the development of RV dysfunction in a piglet model of CTEPH. Underlying mechanisms remain to be elucidated.

October 11th, 2017

Dr. Karin R. Sipido
Editor-in-Chief
Cardiovascular Research

Category: Original Articles

Dear Dr. Karin R. Sipido,

Please find enclosed a manuscript entitled "**Mitochondrial Respiratory Function in the Setting of Right Ventricular Remodeling Induced by Chronic Pulmonary Hypertension in piglets**" that we would like you to consider for publication in *Cardiovascular Research*.

In this experimental study, we assessed the mitochondrial respiratory capacities of the overloaded right ventricle in a piglet model of chronic thromboembolic pulmonary hypertension. Using the technique of permeabilized myocardial fiber, we showed that mitochondrial respiratory capacities are impaired early and durably in the setting of right ventricular remodelling and dysfunction. This reduction of mitochondrial oxidative capacities was associated with structural alterations without reduction of the mitochondrial mass in transmission electronic microscopy.

All authors state that they had full control of the design of the study, methods used, outcome parameters and results, analysis of data and production of the written report. The contents are entirely original and have not been published previously in any language. There are no conflicts of interest to disclose.

Thank you for your consideration.

Sincerely,

Pierre-Emmanuel Noly, MD

5000, rue Bélanger, Montréal (Québec) H1T 1C8 • Tél. : (514) 376-3330

Institut universitaire affilié à l'Université de Montréal



1 **Mitochondrial Respiratory Function in the Setting of Right Ventricular Remodeling**
2 **Induced by Chronic Pulmonary Hypertension in piglets**

3

4 Pierre-Emmanuel Noly MD MSc^{a,b}, Jérôme Piquereau PhD^c, Jennifer Arthur Ataam PhD^a,
5 Matthieu Coblenca MD MSc^a, Julien Guihaire MD PhD^a, Catherine Rucker-Martin PhD^a,
6 Benoit Decante MSc^a, Elie Fadel MD PhD^{a,d}, François Haddad, MD PhD^e, and Olaf Mercier
7 MD PhD^{a,d}

8

9 ^aResearch and Innovation Unit, INSERM U999, DHU TORINO, Paris Sud University, Marie
10 Lannelongue Hospital, Le Plessis Robinson, France.

11 ^bDepartment of Cardiac Surgery, Montreal Heart Institute, Montréal, Quebec, Canada.

12 ^cUMR-S 1180, INSERM, Paris Sud University, Châtenay-Malabry, France.

13 ^dDepartment of Thoracic and Vascular Surgery and Heart-lung Transplantation, Marie
14 Lannelongue Hospital, Le Plessis Robinson, France.

15 ^eDivision of Cardiovascular Medicine, Stanford University School of Medicine, Stanford,
16 CA, USA

17

18 **Word count: 5796**

19

20

21 **Corresponding author:** Pierre-Emmanuel Noly, MD, Research and Innovation Unit,
22 INSERM U999, DHU TORINO, Marie Lannelongue Hospital, 133 avenue de la Résistance
23 92350 Le Plessis Robinson, France. Tel: +331 40 94 86 95 Fax: +331 40 94 24 25 email:
24 noly.pierreemmanuel@gmail.com

- 25 **ABBREVIATIONS**
- 26 CI: cardiac index
- 27 CTEPH: chronic thromboembolic pulmonary hypertension
- 28 G3p: Glyceraldehyde 3-phosphate
- 29 HR: heart rate
- 30 LV: left ventricular
- 31 mAP: mean arterial pressure
- 32 mPAP: mean pulmonary arterial pressure
- 33 PA: pulmonary artery
- 34 PH: pulmonary hypertension
- 35 PVL: pressure-volume loop
- 36 RAP: right atrial pressure
- 37 RV: right ventricular
- 38 RVF: right ventricular failure
- 39 TEM: transmission electronic microscopy
- 40 TMPD: tetramethyl-p-phenylenediamine
- 41 VO₂: oxygen consumption
- 42

43 **ABSTRACT**

44 **Aims:** Mechanisms of the transition of adaptive to maladaptive right ventricle remodelling and
45 failure remains to be elucidated. As a key-factor of myocardial physiology, we hypothesized
46 that mitochondria play a crucial role. Hence, we aimed to assess the mitochondrial respiratory
47 capacities in the right ventricle in the setting of ventricular remodeling induced by pulmonary
48 arterial pressure overload. **Methods and Results:** Chronic thromboembolic pulmonary
49 hypertension was induced in 8 piglets over a 12-week period (CTEPH model). Right ventricular
50 (RV) remodeling, RV function, and mitochondrial respiratory function were assessed at 3, 6
51 and 12 weeks after induction of pulmonary hypertension and were compared to sham animals
52 (n=5). RV cardiomyocytes and mitochondrial structure were studied in transmission electronic
53 microscopy (TEM) after 12 weeks. As of 3 weeks, chronic pressure overload induced RV
54 dilatation, RV hypertrophy and RV dysfunction. Maladaptive remodeling in the CTEPH model
55 was confirmed by the decrease of RV-PA coupling and right fractional area change.
56 Mitochondrial functional assays in permeabilized RV myocardial fibers revealed an early
57 impairment of maximal respiratory capacities in this model. Oxidative phosphorylation
58 capacities measured in the presence of substrates feeding complex I, complex II and IV of the
59 mitochondrial respiratory chain were degraded and no change in substrate preference of
60 mitochondria was found in the overloaded right ventricle. There was a good correlation between
61 maximal mitochondrial oxygen consumption rate and RV-PA coupling (Pearson coefficient
62 $r=0.83$). TEM analysis showed that the composition of cardiomyocytes was no different
63 between the CTEPH and the SHAM group. However, mitochondrial structure anomalies such
64 cristae destruction, swelling, lipidic vacuole, and membrane alteration were significantly
65 increased in the right ventricle of CTEPH animals. **Conclusion:** Mitochondrial respiratory
66 function impairment is early involved in the development of RV dysfunction in a piglet model
67 of CTEPH. Underlying mechanisms remain to be elucidate.

68 **INTRODUCTION**

69 Occurrence of right ventricular failure (RVF) is associated with poor prognosis in
70 patients with pulmonary hypertension (PH), left ventricular disease, congenital heart disease,
71 pulmonary disease or after left ventricular assist device implantation¹⁻⁴. Transition from the
72 adaptive state to RVF is not predictable yet and has not been well understood so far. Emerging
73 evidences suggest that the right ventricular (RV) metabolic response is one of the factors that
74 determine right ventricular adaptation to pressure overload^{5,6}. As the mitochondrion is the main
75 organelle involved in energy production in the heart, its integrity is essential to maintain good
76 myocardial function. Mitochondrial metabolism disorder may contribute to the transition from
77 adaptive to maladaptive remodeling and failure in right ventricle under pressure overload⁷.
78 Several studies in rodents demonstrated that right ventricular metabolism is shifted back to the
79 glucose pathway (fetal phenotype) in the setting of pulmonary hypertension⁸⁻¹⁰. However, it is
80 not clear if the mitochondrial respiratory capacities are impaired during development of
81 pulmonary hypertension and right ventricular dysfunction. Because the assessment of
82 mitochondrial function in right ventricle in the setting of development of right ventricular
83 failure requires repeated myocardial biopsies, such study could not be considered in human
84 being. In this context, we performed an experimental study using a piglet model of chronic
85 thromboembolic pulmonary hypertension (CTEPH)^{11, 12}. The increase of pulmonary arterial
86 pressure is obtained by reducing progressively the pulmonary vascular bed with a ligation of
87 the left pulmonary artery (PA) followed by 5 embolizations of the right lower pulmonary artery.
88 In this study, we aimed to assess the mitochondrial respiratory capacities in the right ventricle
89 in the setting of increase pulmonary arterial pressures.

90

91 **METHODS**

92 *Experimental design*

93 Thirteen 6-weeks-old Large White male piglets (mean weight = 25 kg) were randomly allocated
94 in two groups: CTEPH group (n=8) and sham group (n=5) (figure 1). Right ventricular function
95 was assessed by heart catheterization, echocardiography and conductance method at baseline,
96 3, 6 and 12 weeks after induction of right ventricular pressure overload. Mitochondrial
97 respiratory function of the right ventricle was assessed at 3, 6 and 12 weeks. All procedures
98 were performed after premedication with ketamine hydrochloride (15 mg.kg⁻¹) and general
99 anesthesia with propofol 1% and continuous isoflurane inhalation as previously described¹³.
100 After completion of the study, animals were euthanized using lethal propofol and potassium
101 infusions. The research protocol was approved by our local Institutional Committee on Animal
102 Welfare. All animals received human care in compliance with the Principles of Laboratory
103 Animal Care formulated by the National Society for Medical Research and the Guide for the
104 Care and Use of Laboratory Animals¹ prepared by the Institute of Laboratory Animal Resources
105 and published by the National Institutes of Health (NIH Publication No. 86-23, revised 1996).
106 All animal procedures should be performed conform to the guidelines from Directive
107 2010/63/EU of the European Parliament on the protection of animals used for scientific
108 purposes.

109

110 *Model of right ventricular chronic pressure overload*

111 We used a piglet model of chronic thromboembolic pulmonary hypertension described
112 elsewhere^{11, 12}. Briefly, PH was induced in piglets by a progressive obstruction of the
113 pulmonary vascular bed. First, a ligation of the left PA was performed through a mini-
114 thoracotomy. Second, weekly embolization of the right lower pulmonary lobe was done under

115 fluoroscopic guidance with n-butyl-2-cyanoacrylate (Histoacryl®; B-Braun, Tuttlingen,
116 Germany) during 6 weeks.

117

118 *Hemodynamic assessment with right heart catheterization*

119 Hemodynamic assessment was performed at baseline, 3, 6, and 12 weeks after induction of
120 right ventricular pressure overload. Mean systemic Arterial Pressure (mAP), Heart Rate (HR)
121 and peripheral oxygen saturation were monitored continuously during the procedures. In
122 addition, right heart catheterization was performed percutaneously via the right internal jugular
123 vein using a Swan-Ganz catheter (Edwards LifeSciences, Irvine, CA, USA). Mean Pulmonary
124 Arterial pressure (mPAP), Pulmonary Capillary Wedge Pressure (PCWP), Right Atrial Pressure
125 (RAP), Cardiac Output (CO) were recorded. Total pulmonary resistances were expressed in
126 $\text{dyn}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{cm}^{-5}$ and calculated as followed: $\text{TPR} = (\text{mPAP} \times 80) / \text{CO}$. Body Surface Area (BSA)
127 was defined according to the equation of Kelley et al.¹⁴ and Cardiac Index (CI) was calculated.
128

129 *Pressure-volume loops of the right ventricle.*

130 Pressure-Volume Loops (PVL) of the right ventricle were assessed at baseline, 6, and 12 weeks
131 by the conductance technique as previously described^{15, 16}. A 4-Fr conductance catheter
132 pressure (CD Leycom, Zoetermeer, The Netherlands) was percutaneously inserted through the
133 internal jugular vein and was used to measure immediate volume and pressure in the right
134 ventricle. Mean pulmonary pressure, End-Systolic pulmonary pressure (ESP), stroke volume
135 (SV) and right ventricular stroke work (RVSW) were recorded. Stroke volume indexed (SVI)
136 was calculated as the SV/BSA ratio. End-systolic pressure (ESP)-volume relationships of the
137 right ventricle could be approximated with a linear relationship. The slope of this linear relation
138 defined RV end-systolic elastance (Ees). Pulmonary arterial elastance (Ea) was calculated as

139 followed: E_a (mm Hg/ml) = ESP/ SV. Right ventricular–pulmonary arterial (RV–PA) coupling
140 was calculated as Ees on E_a ratio (Ees/ E_a).

141

142 *Echocardiographic parameters*

143 Transthoracic echocardiography was performed using a Vivid E9 General Electric System
144 ultrasound machine (General Electric Company, Easton Turnpike, US) at baseline, 3, 6 and 12
145 weeks. Morphology and systolic function of the right ventricle were assessed.

146 RV basal diastolic diameters, tricuspid diameters, free wall RV thickness, end-diastolic
147 ventricular areas were measured in 2D in the four-chamber view. Systolic function of the RV
148 was assessed by right ventricular fractional area change (RVFAC), tricuspid annular plane
149 systolic excursion (TAPSE). Systolic function of the LV was assessed by left ventricular
150 ejection fraction (LVEF).

151

152 *Myocardial biopsies*

153 Endomyocardial biopsies of the right ventricle were performed at 3, 6 and 12 weeks. They were
154 achieved percutaneously using a 7-Fr disposable biopsy forceps (AB Medica, Mery sur Cher,
155 France) through the right internal jugular vein as previously described¹². One to 3 myocardial
156 samples of 3.0 mm³ were harvested from the free wall of each ventricle under echographic and
157 fluoroscopic guidance. Samples were used for mitochondrial function assay.

158

159 *Mitochondrial functional assays in permeabilized cardiac fibers*

160 Mitochondrial respiration was studied *in situ* in saponin-permeabilized cardiac muscle fibers
161 using a Clarke electrode described by Kuznetsov et al.¹⁷. A protocol was designed to measure
162 oxygen consumption after successive addition of malate (4 mM), ADP (2 mM), L-glycerol-3-
163 phosphate (4 mM), palmitoyl-CoA and carnitine (PCA-C) (100 μ M and 2 mM), pyruvate (1

164 mM), glutamate (10 mM), succinate (15 mM), amytal (1 mM) and N,N,N',N'-tetramethyl-p-
165 phenylenediamine (TMPD) and ascorbate (500 μ M and 2mM) to respiration solution (in mM:
166 2.77 CaK₂ ethyleneglycol tetraacetic acid (EGTA), 7.23 K₂EGTA [100 nM free Ca²⁺], 6.56
167 MgCl₂ [1 mM free Mg²⁺], 20 taurine, 0.5 dithiothreitol (DTT), 50 K-methane sulfonate [160
168 mM ionic strength], 20 imidazole, pH 7.1) at 23 °C. Rates of respiration are given in μ moles
169 O₂/min/g dry weight. The results obtained after addition of L-glycerol-3-phosphate and
170 palmitoyl-CoA and carnitine were also expressed as percentage of VO₂ max (% of VO₂ max)
171 where VO₂ max corresponded to respiration rate measured after addition of succinate.

172

173 *Transmission Electronic Microscopy*

174 At 12 weeks, the heart of 3 CTEPH and 3 sham animals were harvested and papillary muscles
175 of the right ventricle were dissected and primary fixed in a buffered 2% glutaraldehyde solution
176 (in 0.1 M of sodium cacodylate) at pH 7.2 during 4 hours at room temperature. Post fixation
177 was performed with a 1% osmium tetroxide solution and 1.5% potassium ferrocyanate during
178 2 hours at 4°C. Dehydration was performed using successive ethanol solutions (30% to 100%)
179 and samples were embedded in Epon mix (Delta microscopy- Labège, France). Areas of interest
180 were determined after methylen blue Azur II coloration in thin (1 μ m) slices. Ultrathin (70 nm)
181 longitudinal sections were contrasted with lead citrate and studied using a Hitachi HT7700
182 electron microscope (MIMA2- UMR1131 GABI - Plateau de Microscopie Electronique 78352
183 Jouy-en-Josas, France). Images were recorded using an AMT – Hitachi CCD camera (Elexience
184 – Verrière le Buisson – France) with a x25000 magnification. From these sections, 15 images
185 of each heart were taken randomly. Quantification of the components of cardiomyocytes was
186 performed using stereology with Image J the grid plug-in (squares of 0.35 inch²; 221
187 intersections points). The number of intersections between myofibril (sarcomere),
188 mitochondria, cytoplasm and lipidic vacuole and the grid were noted and the relative area of

189 each component was calculated (number of point/221). To assess mitochondrial integrity, we
190 used a semi-quantitative score (Figure 6D). Twenty mitochondria were randomly assessed from
191 each image and the following 5 characteristics were noted as present (1) or absent (0): swelling,
192 membrane alteration, abnormal cristae, abnormal structure, and lipidic vacuole.

193

194 *Statistical Analysis*

195 Normally distributed data were expressed as mean values \pm standard error of the mean (SEM)
196 and non-normally distributed data as median with interquartile range (IQR). The Kolmogorov–
197 Smirnov test was applied to test for normality of the distribution of each variable. Groups were
198 compared by 2-way analysis of variance (ANOVA), including post hoc analysis. Pearson’s
199 correlation coefficient was used to examine the relationship between the right ventricular to
200 pulmonary artery coupling measured by conductance method and the oxygen consumption rate
201 of the right ventricular permeabilized fibers. Two-sided P-values < 0.05 were considered
202 statistically significant. Statistical analyses were performed using Prism 6 (GraphPad®
203 software, San Diego, California).

204

205 **RESULTS**

206 Thirteen 6-weeks-old Large White male piglets were studied at baseline, 3, 6 and 12 weeks
207 after left main pulmonary ligation. At baseline, weight, body surface area, and hemodynamic
208 characteristics were not statistically different between the two groups (data not shown).

209

210 *Time course of changes in hemodynamic parameters: CTEPH animals had right ventricular*
211 *chronic pressure overload*

212 The time course of changes in systemic pressures, pulmonary pressures, right atrial pressure,
213 cardiac index, pulmonary vascular resistances, stroke volume, and heart rate are represented in
214 figure 2. Systemic arterial pressure and heart rate were not significantly different between the
215 SHAM and CTEPH groups and were stable over time (Figure 2A and 2H). The mPAP-to-mAP
216 ratio, mPAP, and PVR progressively increased in the CTEPH group to reach maximal values
217 after 6 weeks (0.50 ± 0.20 , 29 ± 10 mm Hg, and 1018 ± 459 dynes.s⁻¹.cm⁻⁵ respectively). From the
218 third week, these parameters were significantly higher in CTEPH group than in the SHAM
219 group (Figure 2B, 2C, and 2E). Right atrial pressure also progressively increased to reach 7 ± 2
220 mm Hg in the CTEPH group at 12 weeks and was significantly higher at the 3rd, 6th, and 12th
221 weeks compared to the SHAM group (Figure 2G). Cardiac index and right ventricular stroke
222 volume significantly decreased between baseline and 3 weeks in the CTEPH group (5.4 ± 0.7
223 vs. 3.3 ± 0.9 L.min⁻¹.m⁻²; $p=0.03$ and 35 ± 7 vs. 29 ± 7 ml $p=0.04$ respectively.). Both CI and
224 RSVV remained stable and significantly lower in the CTEPH group at the 3rd, 6th, and 12th,
225 weeks (Figure 2D and 2F). Taking together, these results showed that we obtained a model of
226 chronic pulmonary hypertension.

227

228 *Structural remodeling of right ventricle assessed by echocardiography: RV dilatation and*
229 *RV hypertrophy were observed in CTEPH animals*

230 Changes in morphology of right ventricle over time were assessed by echocardiography. In the
231 CTEPH group, RV basal diastolic diameter and RV diastolic area progressively increased and
232 were significantly higher than in sham animals at the 3rd, 6th, and 12th weeks (Figure 3A and
233 3B). RV basal diastolic diameter and area were maximal after 12 weeks in the CTEPH group
234 (3.7 ± 0.6 cm and 17.4 ± 3.7 cm² respectively). RV dilatation in the CTEPH group was also
235 demonstrated by the increase of RV-to-LV area ratio as of 3rd week (Figure 2C). As shown in
236 figure 2D, the right ventricle was significantly hypertrophied in the CTEPH group after 12
237 weeks as reflected by the increase of middle right ventricle free wall thickness compared to
238 sham animals (0.5 ± 0.05 cm vs. 0.30 ± 0.02 cm; $p=0.001$ at 12 weeks in the CTEPH and SHAM
239 group respectively). All these parameters remained stable in sham animals.

240

241 *Functional remodeling of right ventricle: RV function became maladaptive in CTEPH*
242 *animals*

243 RV systolic function was assessed by the measurement of RV Ees, RV-PA coupling by
244 conductance method and RVFAC by echocardiography (Figure 3E to 3H). No change was
245 observed in the SHAM group over time. In the CTEPH group, the right ventricular maximal
246 elastance (Ees) was increased at the 6th and 12th weeks when compare to baseline and sham
247 animals, (Figure 3E) but not at the same level than the arterial elastance (Ea) (Figure 3F). The
248 significant decrease of RV-PA coupling in CTEPH models (Figure 3G) reflected the setting of
249 right ventricular dysfunction secondary to pressure overload (1.28 ± 1.01 at baseline vs.
250 0.66 ± 0.28 ; $p=0.03$ at 12 weeks). The impairment of RVFAC (Figure 3H) as of 3rd week in the
251 CTEPH group also confirmed the early RV systolic dysfunction (0.43 ± 0.03 % at baseline vs.
252 0.26 ± 0.03 %; $p=0.009$ at 12 weeks).

253

254 *Mitochondrial functional assays in permeabilized cardiac fibers revealed an early*
255 *impairment of maximal respiratory capacities in pressure overloaded right ventricle.*

256 To determine if mitochondrial functions were preserved or impaired in pressure overloaded
257 right ventricle, we studied mitochondrial respiration *in situ* in saponin-permeabilized RV
258 myocardial fibers at 3 different times after PH induction. Three, 6 or 12 weeks after PH
259 induction, respiration rates in permeabilized fibers measured after the addition of each
260 substrates were reduced in comparison with the sham group (Figure 4A, 4B, 4C, 4D, 4E, 4F
261 and 4G). Even if statistical significances were not reported at the 12th weeks after the addition
262 of glutamate (Figure 4D), succinate (Figure 4E), amytal (Figure 4F) and TMPD (Figure 4G), a
263 strong trend towards a lower respiration rate in these conditions was observed in the CTEPH
264 group. These results suggest that oxidative phosphorylation capacities measured in the presence
265 of substrates feeding complex I (NADH/ CoQ oxidoreductase), II (succinate / CoQ
266 oxidoreductase) and IV (cytochrome oxidase) of the mitochondrial respiratory chain were
267 degraded in CTEPH animals very early (after 3 weeks) and these alterations were maintained
268 over time. Since respiration rates measured in the presence of L-glycerol-3-phosphahte alone
269 and in the presence of L-glycerol-3-phosphahte and palmitoyl-CoA/carnitine were relatively
270 similar in terms of pourcentage of VO₂ max between both groups (Figure 4H and 4I) (VO₂ max
271 corresponds to oxygen consumption after addition of succinate), the mitochondrial substrate
272 preference seemed not to be changed in CTEPH animals compared to control. This indicates
273 that the decreases in the absolute value of oxygen consumption after addition of L-glycerol-3-
274 phosphahte and palmitoyl-CoA/carnitine observed in figures 4A and 4B were certainly due to
275 general alterations of oxidative phosphorylation capacities.

276 Taking together, these results suggest that mitochondrial function was globally affected in the
277 right ventricle of CTEPH animals. It seemed that this phenomenon would occur early in the
278 setting of RV pressure overload as the lower VO₂ was already observed only 3 weeks after PH

279 induction. At this stage of RV dysfunction, no change in substrate preference of the
280 mitochondria has been observed.

281

282 *Impairment of maximal respiratory capacities was associated with RV maladaptation to*
283 *pressure overload.*

284 To elucidate if the mitochondrial respiration rate was associated with RV function, we assessed
285 the relationship between the oxygen consumption measured after the addition of pyruvate (VO_2
286 pyruvate) and succinate (VO_2 succinate) and RV-PA coupling, RVFAC.

287 There was a good correlation between VO_2 pyruvate and RV-PA coupling (Pearson coefficient
288 $r=0.78$) and VO_2 succinate and RV-PA coupling (Pearson coefficient $r=0.83$) (Figure 5). There
289 was no correlation with another substrate or with RVFAC (data not shown).

290

291 *Mitochondrial assessment with Transmission Electronic Microscopy*

292 To determine if the impairment of mitochondrial respiration impairment was associated with a
293 decrease of mitochondrial mass, we measured the area of each cardiomyocyte component in
294 right ventricle by TEM after 12 weeks. We also assessed the structural integrity of mitochondria
295 with a semi-quantitative score described above (figure 6D). As shown in figure 5A, the
296 composition of cardiomyocytes was not significantly different between CTEPH (n=3) and
297 SHAM (n=3) animals in term of mitochondria, myofibril, and cytoplasm. These results
298 suggested that the impairment of mitochondrial respiration was not related to a decrease of
299 mitochondrial mass. However, there was more lipidic vacuole observed in the CTEPH group
300 ($5.8\pm 2.98\%$ vs. $2.17\pm 2.4\%$, $p=0.03$). In term of mitochondrial integrity, we observed a higher
301 rate of structural alteration in right ventricle from CTEPH animals, with a higher rate of
302 abnormal cristae, swelling, lipidic vacuole, structure impairment, membrane alteration (Figure

303 6B, 6C, and 6F). The mean grade of structural alteration was higher in this group (2.55 ± 0.12
304 vs. 0.99 ± 0.18 ; $p<0.001$) (Figure 6F).

305

306 DISCUSSION

307 The main finding of our study is that maladaptive remodeling of the right ventricle in a
308 piglet model of chronic pressure overload is associated with an impairment of mitochondrial
309 oxidative capacities. Analysis of mitochondrial function in permeabilized RV myocardial fibers
310 revealed an early impairment of maximal respiratory capacities in this model. Whereas this
311 phenomenon does not seem to be related to a decrease of mitochondrial mass, TEM analysis
312 revealed clear structural mitochondrial alterations. Maximal mitochondrial oxidative capacities
313 of the respiratory chain (complex I-driven respiration, complex II-driven respiration and
314 complex IV-driven respiration) were globally impaired and no switch in mitochondrial
315 substrate preference was found in the overloaded right ventricle in this study.

316

317 *RV remodeling and dysfunction in a model of chronic pressure overload*

318 As demonstrated previously, the model we used in this study reproduces the
319 pathophysiology of chronic thromboembolic hypertension in piglets with maladaptive
320 remodeling of right ventricle^{16, 18, 19}. We obtained a durable right ventricular pressure overload
321 that induced RV dilatation and hypertrophy in echocardiography. These findings were
322 confirmed by histological analysis elsewhere¹⁹. We also found RV-PA uncoupling and
323 decrease of RVFAC which are known to be associated with maladaptive remodeling and early
324 stage of right ventricular failure^{16, 18}.

325

326 *Evidence for involvement of mitochondrial dysfunction in right ventricular failure*

327 Analysis of mitochondrial function has become an important axis of research in the field
328 of right ventricular failure over the last years^{17,20}. As mitochondrial respiratory function reflects
329 the capacity for aerobic energy production of the heart, its integrity is crucial for myocardial
330 efficiency. The analysis of mitochondrial function performed through the permeabilized muscle
331 fibers technic was developed by Veksler V. et al in 1987²¹. We used this technic to assess
332 mitochondrial respiratory function in the overloaded right ventricle because this *in vivo* study
333 of oxidative phosphorylation is probably the most physiological approach for studying
334 mitochondrial functions. We demonstrate that mitochondrial oxidative phosphorylation
335 capacity was decreased in the right ventricle of CTEPH animals at the level of the respiratory
336 chain. Insofar as the mitochondrial mass seems not to be affected in the present model, it can
337 be assumed that the lower oxygen consumption rate measured after glutamate and malate
338 addition would be due to the impairment of the complex I of the mitochondrial respiratory
339 chain. Alterations of mitochondrial respiratory chain would not be limited to complex I since
340 decreases in oxygen consumption measured in the presence of specific substrates for complex
341 II and complex IV (VO_2 after addition of succinate and amytal, and VO_2 after addition of
342 TMPD, respectively) were observed. Interestingly, although the stimulation of mitochondrial
343 respiration by fatty acid (palmitoyl-CoA/carnitine) was lower in CTEPH right ventricle, this
344 would not be the consequence of a metabolic switch. As the effect of L-glycerol-3-phosphate
345 and palmitoyl-CoA/carnitine on mitochondrial oxygen consumption in CTEPH is relatively
346 similar to what was observed in sham group (% VO_2 max), the decrease in absolute value of
347 mitochondrial respiration observed in this study is probably induced by general alterations of
348 mitochondrial functions. Taking together, these results suggest that all the mitochondrial chain
349 was impaired secondary to chronic right ventricular pressure overload. Using the same method
350 in a monocrotaline-induced right ventricular failure, Daicho et al showed that a dysfunction of
351 the mitochondrial complex I and IV may play a role in the development of right ventricular

352 failure²⁰. Similarly, they also found a relationship between a reduction in oxidative
353 phosphorylation capacities and a decrease in a systolic function index (Tei index).

354

355 *Mechanistic hypothesis*

356 Tissue ischemia causes cellular energy depletion and mitochondrial failure. Previous
357 studies performed in this piglet model of CTEPH showed that an impairment of
358 microvascularisation with capillary loss in the right ventricle could contribute to the RV
359 dysfunction and maladaptation to the pressure overload¹⁹. Thus, we could hypothesize that
360 ischemia may lead to early mitochondrial impairment in the pressure overloaded right ventricle.
361 As demonstrated in several experimental studies, myocardial ischemia induces a decrease of
362 mitochondrial respiratory functions and is associated with mitochondrial structural alterations
363 like those observed in our study. In a Langendorff-isolated heart model in rat, Lee and
364 colleagues showed that electron transfer activities (complexes I to IV of the respiratory chain)
365 measured in isolated mitochondria were significantly decrease after 30-min ischemia in left
366 ventricle²². They also demonstrated ultrastructural changes of mitochondria in TEM analysis
367 (mitochondria swollen, cristae impairment, and structural anomalies). Using the permeabilized
368 muscle fibers technic Wiedemann et al. showed that cold ischemia storage in saline solution
369 was associated with a decrease of mitochondrial respiratory capacities of complex I (after
370 glutamate + malate-supported respiration) and complex II (succinate + rotenone-supported
371 respiration)²³.

372 The involvement of a glycolytic shift in RV dysfunction in patients with PH is still a
373 matter of debate. In an elegant study of 16 patients with idiopathic pulmonary arterial
374 hypertension, Wong et al demonstrated that RV failure was associated with reduce mechanical
375 efficiency but not with a metabolic shift, which is consistent with our study. Using ¹⁸FDG scan
376 and cardiac magnetic resonance imaging, the authors didn't find any relation between RV

377 efficiency and glucose uptake rate²⁴. At the opposite, several works of Archer's team and others
378 suggested that aerobic glycolysis is a common abnormality in maladaptive RV hypertrophy in
379 rodent models of PH and in human^{5, 7-10, 25-27}. In a seminal paper, Piao et al. demonstrated that
380 a pyruvate dehydrogenase kinase (PDK) inhibitor (dichloroacetate) administering could
381 reverse the electrical remodeling and enhances RV dysfunction by enhancing the glucose
382 oxidation²⁸ in a rodent model of advance RVF. Probably this phenomenon may occur at a later
383 stage of VR dysfunction.

384

385 *Limitations*

386 The study has several limitations. One essential limitation is that we could not provide
387 a mechanistic explanation for the mitochondrial functional impairment in the setting of right
388 ventricular dysfunction. The design of this study limited the possibility of further histologic,
389 molecular, enzymatic, or genic expression analyses. As the animals were kept alive throughout
390 the study, the amount of tissues available from endomyocardial biopsies were limited and
391 dedicated for mitochondrial respiratory assessment. Energy production is one of the numerous
392 aspect of mitochondrial function and our study had not assessed the potential role of release of
393 reactive oxygen species, the role of mitochondrial biogenesis, fission, fusion, apoptosis, or the
394 role of the mitochondrial transition pore.

395

396 **CONCLUSIONS**

397 The present study may provide evidence that mitochondrial respiratory function impairment is
398 early involved in the development of RV dysfunction in a piglet model of CTEPH. Underlying
399 mechanisms remain to be elucidated.

400 **FUNDINGS AND ACKNOWLEDGEMENT:** This work is supported by a public grant
401 overseen by the French National Research Agency (ANR) as part of the second Investissements
402 d'Avenir programme (reference: ANR-15-RHUS-0002).

403

404 **CONFLICTS OF INTEREST:** none

405

406 **REFERENCES**

- 407 1. Haddad F, Ashley E, Michelakis ED. New insights for the diagnosis and management
408 of right ventricular failure, from molecular imaging to targeted right ventricular therapy.
409 *Current opinion in cardiology* 2010;**25**:131-140.
- 410 2. Haddad F, Doyle R, Murphy DJ, Hunt SA. Right ventricular function in cardiovascular
411 disease, part II: pathophysiology, clinical importance, and management of right ventricular
412 failure. *Circulation* 2008;**117**:1717-1731.
- 413 3. Haddad F, Hunt SA, Rosenthal DN, Murphy DJ. Right ventricular function in
414 cardiovascular disease, part I: Anatomy, physiology, aging, and functional assessment of the
415 right ventricle. *Circulation* 2008;**117**:1436-1448.
- 416 4. Simon MA. Assessment and treatment of right ventricular failure. *Nat Rev Cardiol*
417 2013;**10**:204-218.
- 418 5. Archer SL, Fang YH, Ryan JJ, Piao L. Metabolism and bioenergetics in the right
419 ventricle and pulmonary vasculature in pulmonary hypertension. *Pulm Circ* 2013;**3**:144-152.
- 420 6. Ryan JJ, Archer SL. The right ventricle in pulmonary arterial hypertension: disorders of
421 metabolism, angiogenesis and adrenergic signaling in right ventricular failure. *Circulation*
422 *research* 2014;**115**:176-188.
- 423 7. Sutendra G, Dromparis P, Paulin R, Zervopoulos S, Haromy A, Nagendran J,
424 Michelakis ED. A metabolic remodeling in right ventricular hypertrophy is associated with

- 425 decreased angiogenesis and a transition from a compensated to a decompensated state in
426 pulmonary hypertension. *J Mol Med (Berl)* 2013;**91**:1315-1327.
- 427 8. Piao L, Fang YH, Parikh K, Ryan JJ, Toth PT, Archer SL. Cardiac glutaminolysis: a
428 maladaptive cancer metabolism pathway in the right ventricle in pulmonary hypertension. *J*
429 *Mol Med (Berl)* 2013;**91**:1185-1197.
- 430 9. Piao L, Marsboom G, Archer SL. Mitochondrial metabolic adaptation in right
431 ventricular hypertrophy and failure. *J Mol Med (Berl)* 2010;**88**:1011-1020.
- 432 10. Piao L, Sidhu VK, Fang YH, Ryan JJ, Parikh KS, Hong Z, Toth PT, Morrow E, Kutty
433 S, Lopaschuk GD, Archer SL. FOXO1-mediated upregulation of pyruvate dehydrogenase
434 kinase-4 (PDK4) decreases glucose oxidation and impairs right ventricular function in
435 pulmonary hypertension: therapeutic benefits of dichloroacetate. *J Mol Med (Berl)*
436 2013;**91**:333-346.
- 437 11. Mercier O, Tivane A, Dorfmueller P, de Perrot M, Raoux F, Decante B, Eddahibi S,
438 Darteville P, Fadel E. Piglet model of chronic pulmonary hypertension. *Pulm Circ* 2013;**3**:908-
439 915.
- 440 12. Noly PE, Guihaire J, Coblenz M, Dorfmueller P, Fadel E, Mercier O. Chronic
441 Thromboembolic Pulmonary Hypertension and Assessment of Right Ventricular Function in
442 the Piglet. *J Vis Exp* 2015:e53133.
- 443 13. Guihaire J, Haddad F, Noly PE, Boulate D, Decante B, Darteville P, Humbert M,
444 Verhoye JP, Mercier O, Fadel E. Right ventricular reserve in a piglet model of chronic
445 pulmonary hypertension. *Eur Respir J* 2015;**45**:709-717.
- 446 14. Kelley KW, Curtis SE, Marzan GT, Karara HM, Anderson CR. Body surface area of
447 female swine. *J Anim Sci* 1973;**36**:927-930.

- 448 15. Dickstein ML, Yano O, Spotnitz HM, Burkhoff D. Assessment of right ventricular
449 contractile state with the conductance catheter technique in the pig. *Cardiovasc Res*
450 1995;29:820-826.
- 451 16. Guihaire J, Haddad F, Boulate D, Decante B, Denault AY, Wu J, Herve P, Humbert M,
452 Dartevelle P, Verhoye JP, Mercier O, Fadel E. Non-invasive indices of right ventricular
453 function are markers of ventricular-arterial coupling rather than ventricular contractility:
454 insights from a porcine model of chronic pressure overload. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*
455 2013;14:1140-1149.
- 456 17. Kuznetsov AV, Veksler V, Gellerich FN, Saks V, Margreiter R, Kunz WS. Analysis of
457 mitochondrial function in situ in permeabilized muscle fibers, tissues and cells. *Nat Protoc*
458 2008;3:965-976.
- 459 18. Guihaire J, Haddad F, Noly PE, Boulate D, Decante B, Dartevelle P, Humbert M,
460 Verhoye JP, Mercier O, Fadel E. Right ventricular reserve in a piglet model of chronic
461 pulmonary hypertension. *Eur Respir J* 2014.
- 462 19. Noly PE, Haddad F, Arthur-Ataam J, Langer N, Dorfmueller P, Loisel F, Guihaire J,
463 Decante B, Lamrani L, Fadel E, Mercier O. The importance of capillary density-stroke work
464 mismatch for right ventricular adaptation to chronic pressure overload. *J Thorac Cardiovasc*
465 *Surg* 2017.
- 466 20. Daicho T, Yagi T, Abe Y, Ohara M, Marunouchi T, Takeo S, Tanonaka K. Possible
467 involvement of mitochondrial energy-producing ability in the development of right ventricular
468 failure in monocrotaline-induced pulmonary hypertensive rats. *J Pharmacol Sci* 2009;111:33-
469 43.
- 470 21. Veksler VI, Kuznetsov AV, Sharov VG, Kapelko VI, Saks VA. Mitochondrial
471 respiratory parameters in cardiac tissue: a novel method of assessment by using saponin-
472 skinned fibers. *Biochim Biophys Acta* 1987;892:191-196.

- 473 22. Lee HL, Chen CL, Yeh ST, Zweier JL, Chen YR. Biphasic modulation of the
474 mitochondrial electron transport chain in myocardial ischemia and reperfusion. *Am J Physiol*
475 *Heart Circ Physiol* 2012;**302**:H1410-1422.
- 476 23. Wiedemann D, Schachner T, Bonaros N, Dorn M, Andreas M, Kocher A, Kuznetsov
477 AV. Impact of cold ischemia on mitochondrial function in porcine hearts and blood vessels. *Int*
478 *J Mol Sci* 2013;**14**:22042-22051.
- 479 24. Wong YY, Ruiter G, Lubberink M, Rajmakers PG, Knaapen P, Marcus JT, Boonstra
480 A, Lammertsma AA, Westerhof N, van der Laarse WJ, Vonk-Noordegraaf A. Right ventricular
481 failure in idiopathic pulmonary arterial hypertension is associated with inefficient myocardial
482 oxygen utilization. *Circ Heart Fail* 2011;**4**:700-706.
- 483 25. Oikawa M, Kagaya Y, Otani H, Sakuma M, Demachi J, Suzuki J, Takahashi T, Nawata
484 J, Ido T, Watanabe J, Shirato K. Increased [18F]fluorodeoxyglucose accumulation in right
485 ventricular free wall in patients with pulmonary hypertension and the effect of epoprostenol. *J*
486 *Am Coll Cardiol* 2005;**45**:1849-1855.
- 487 26. Rich S, Pogoriler J, Husain AN, Toth PT, Gomberg-Maitland M, Archer SL. Long-term
488 effects of epoprostenol on the pulmonary vasculature in idiopathic pulmonary arterial
489 hypertension. *Chest* 2010;**138**:1234-1239.
- 490 27. Sutendra G, Dromparis P, Kinnaird A, Stenson TH, Haromy A, Parker JM, McMurtry
491 MS, Michelakis ED. Mitochondrial activation by inhibition of PDKII suppresses HIF1a
492 signaling and angiogenesis in cancer. *Oncogene* 2013;**32**:1638-1650.
- 493 28. Piao L, Fang YH, Cadete VJ, Wietholt C, Urboniene D, Toth PT, Marsboom G, Zhang
494 HJ, Haber I, Rehman J, Lopaschuk GD, Archer SL. The inhibition of pyruvate dehydrogenase
495 kinase improves impaired cardiac function and electrical remodeling in two models of right
496 ventricular hypertrophy: resuscitating the hibernating right ventricle. *J Mol Med (Berl)*
497 2010;**88**:47-60.

498 **Figure Legend**

499

500 **Figure 1.** Study design. Right ventricular remodeling and mitochondrial respiratory capacities
501 were assessed 3 weeks, 6 weeks and 12 weeks after induction of pulmonary hypertension.
502 *CTEPH: Chronic thromboembolic pulmonary hypertension.*

503

504 **Figure 2.** Hemodynamic parameters before pulmonary hypertension initiation (T0) and after 3
505 weeks (T3), 6 weeks (T6) and 12 weeks (T12) in the CTEPH (n=8) and SHAM (n=5) groups.
506 Time course of changes in mAP (A), mPAP (B), mPAP/mAP ratio (C), cardiac index (D),
507 indexed PVR (E), RV stroke volume (F), RAP (G) and heart rate (H) were represented here.
508 Each value represents the mean±S.E.M. * P<0.05 CTEPH vs. SHAM at each time (Kruskal-
509 Wallis test). *CTEPH: Chronic thromboembolic pulmonary hypertension; mAP: mean systemic*
510 *arterial pressure; mPAP: mean pulmonary arterial pressure; PVR: pulmonary vascular*
511 *resistances; RAP: right atrial pressure.*

512

513 **Figure 3.** Right ventricular remodeling assessed by echocardiography and pressure-volume
514 loops in the CTEPH (n=8) and SHAM (n=5) groups. RV structural remodeling was assessed at
515 baseline (T0), after 3 weeks (T3), 6 weeks (T6) and 12 weeks (T12). Chronic pressure overload
516 induced right ventricular dilatation with an increased basal diameter (A), diastolic area (B) and
517 an increased RV/LV area ratio (C) in the CTEPH group. Significant right ventricular
518 hypertrophy secondary to pulmonary hypertension was also observed after 12 weeks (D). RV
519 functional remodeling was assessed at baseline and after 6 and 12 weeks. Maximal right
520 ventricular elastance (E) and arterial elastance (F) increased significantly at 6 and 12 weeks.
521 Right ventricular systolic function was impaired in the CTEPH group as showed by the decrease
522 of RV-PA coupling (G) and RVFAC (H). Each value represents the mean±S.E.M. * P<0.05

523 CTEPH vs. SHAM at each time (Kruskal-Wallis test). *CTEPH: Chronic thromboembolic*
524 *pulmonary hypertension; RV: right ventricular; LV: left ventricular; Ees: right ventricular*
525 *maximal elastance; Ea: pulmonary arterial elastance; RV-PA coupling: right ventricular to*
526 *pulmonary arterial coupling; RVFAC: right ventricular fractional area change.*

527

528 **Figure 4.** Time course of changes in mitochondrial oxygen consumption rate (VO_2) with g3p
529 (A), carnitine – palmitoyl –CoA (B), pyruvate (C), glutamate (D), succinate (E), amytal (F),
530 and TMPD (G) as the substrate for the permeabilized myocardial fibers from right ventricle of
531 CTEPH (n=8) and sham animals (n=5) at 3, 6 and 12 weeks. The significantly lower oxygen
532 consumption rate after addition of all substrate suggested that oxidative capacities of complex
533 I, II and IV were decreased in the CTEPH group. When expressed as the percentage of the
534 maximal VO_2 , there was no difference between the 2 groups after addition of g3p (H), carnitine
535 – palmitoyl –CoA (I). Each value represents the mean \pm S.E.M. * $P<0.05$ CTEPH vs. SHAM at
536 each time (Kruskal-Wallis test). *G3p: Glyceraldehyde 3-phosphate; TMPD: tetramethyl-p-*
537 *phenylenediamine*

538

539 **Figure 5.** Relationship (Pearson correlation) between the RV-PA coupling and mitochondrial
540 oxygen consumption rate in the presence of pyruvate (A) and succinate (B) as the substrate for
541 mitochondria from right ventricle myocardial fibers at 12 weeks. Significant relationship
542 between the decrease of right ventricular function and the maximal activity of complex I and II
543 of the respiratory chain was observed. *RV-PA coupling: right ventricular and pulmonary*
544 *arterial coupling.*

545

546 **Figure 6.** Assessment of right ventricular cardiomyocytes in transmission electronic
547 microscopy (TEM) at 12 weeks. But a higher rate of lipidic vacuole in the CTEPH group, the

548 components of cardiomyocytes were similar between the two groups (A). Representative
549 pictures of TEM from right ventricular papillary muscle. The mitochondria were preserved in
550 sham animals (B). In CTEPH animals (C), we observed mitochondrial structural alterations as
551 lipidic vacuole (*black arrow*), swelling (*star*) and membrane impairment (*white arrow*).
552 Mitochondrial integrity was assessed by a semi-quantitative score described in (B). In the
553 CTEPH group, mitochondria had a higher rate of structural anomalies (E) with a higher mean
554 score (F). * $P < 0.05$ CTEPH vs. SHAM (t-test) *CTEPH: Chronic thromboembolic pulmonary*
555 *hypertension.*
556

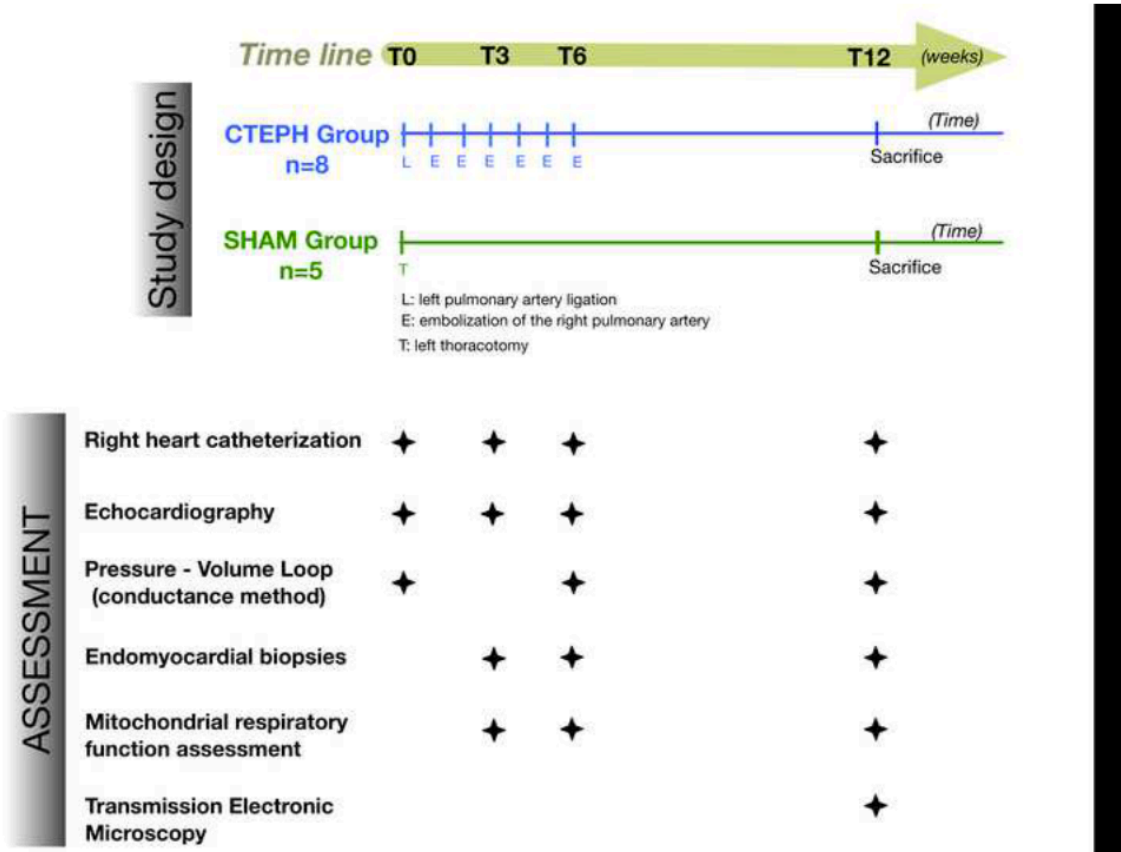


Figure 2

[Click here to download Figure\(s\) figure 2 HD SEM.tiff](#)

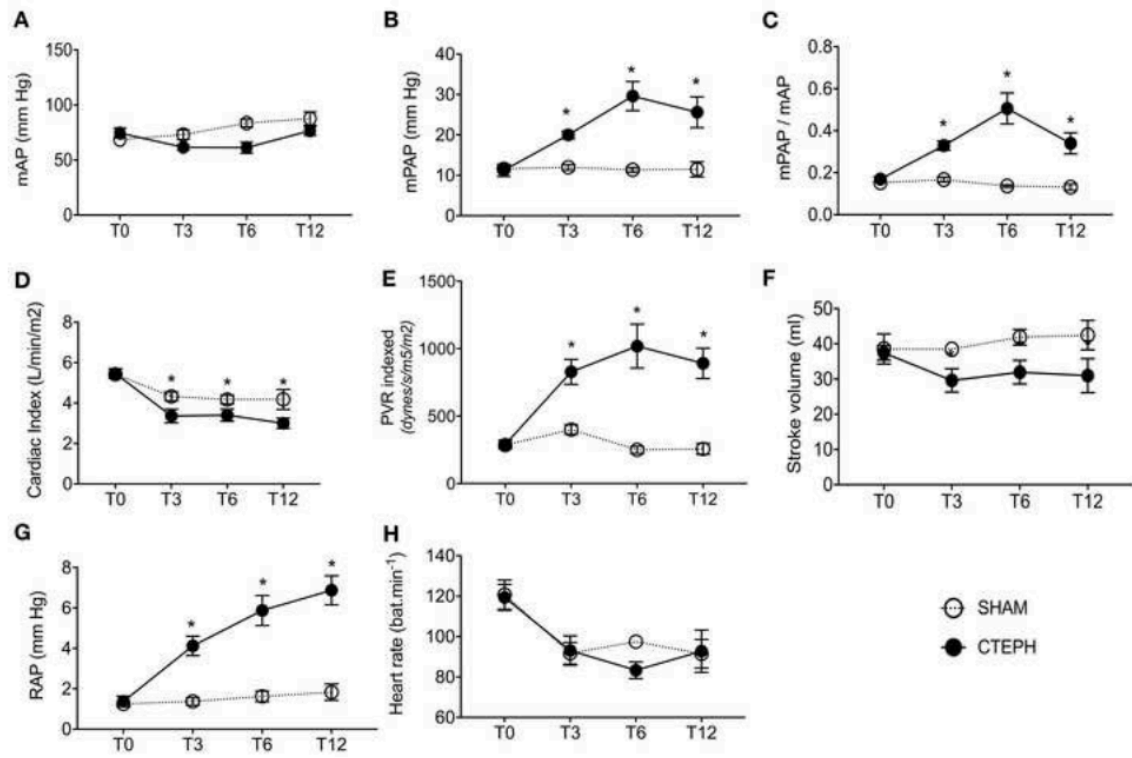


Figure 3

[Click here to download Figure\(s\) figure 3 RV remodeling \(structural and functional\).tiff](#)

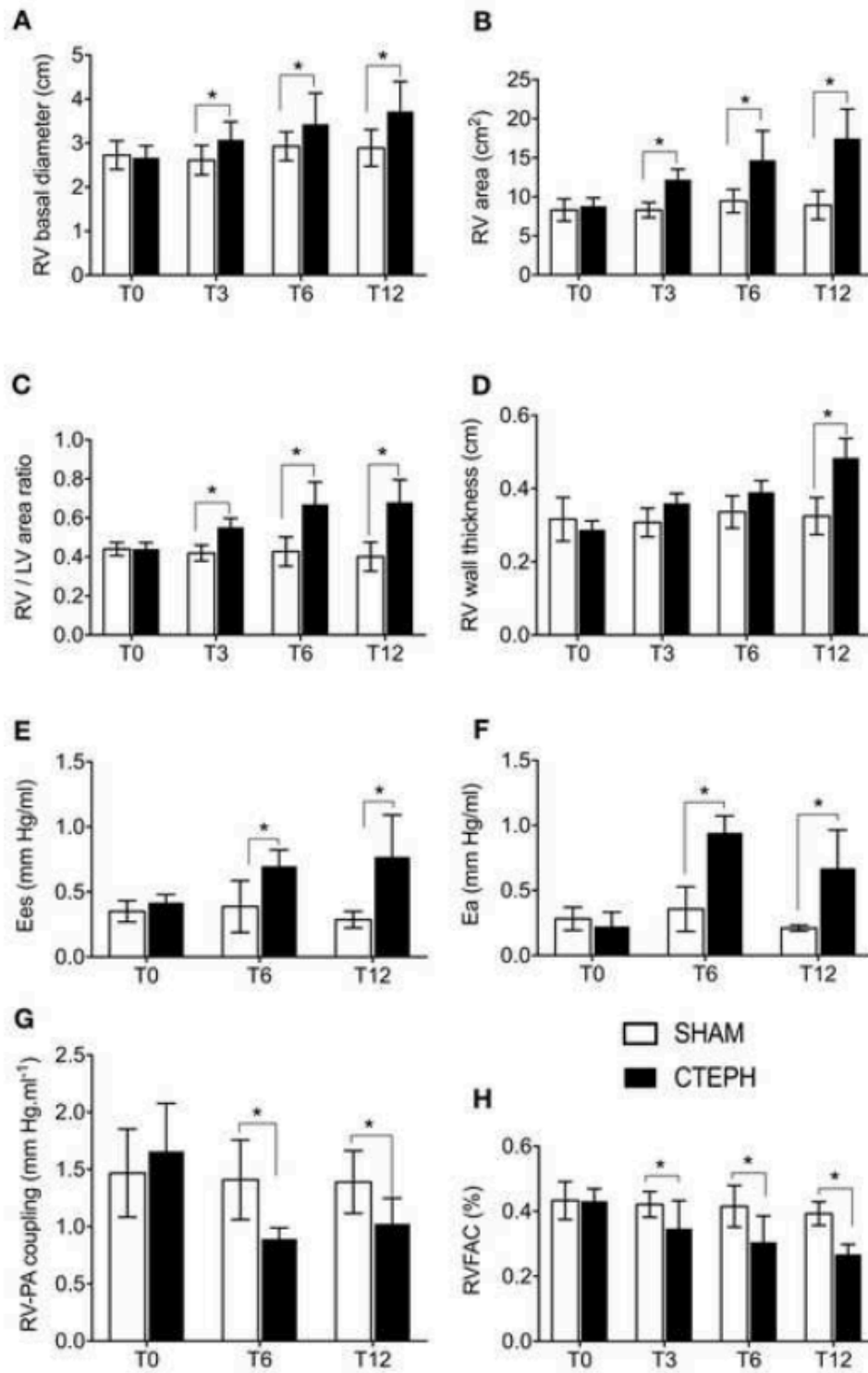


Figure 4

[Click here to download Figure\(s\) figure 4 respiration .tiff](#)

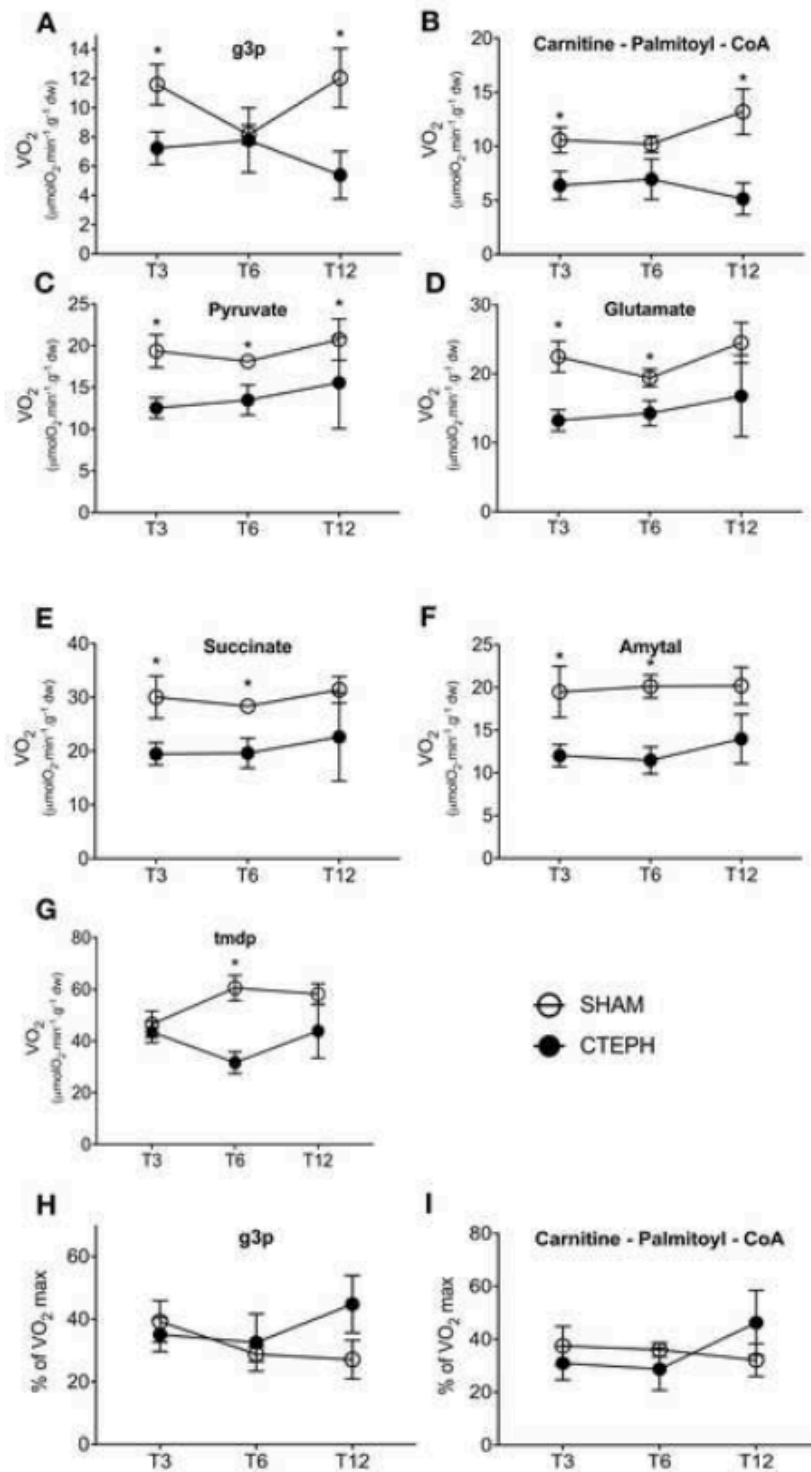


Figure 5

[Click here to download Figure\(s\) RVPA coupling.tiff](#)

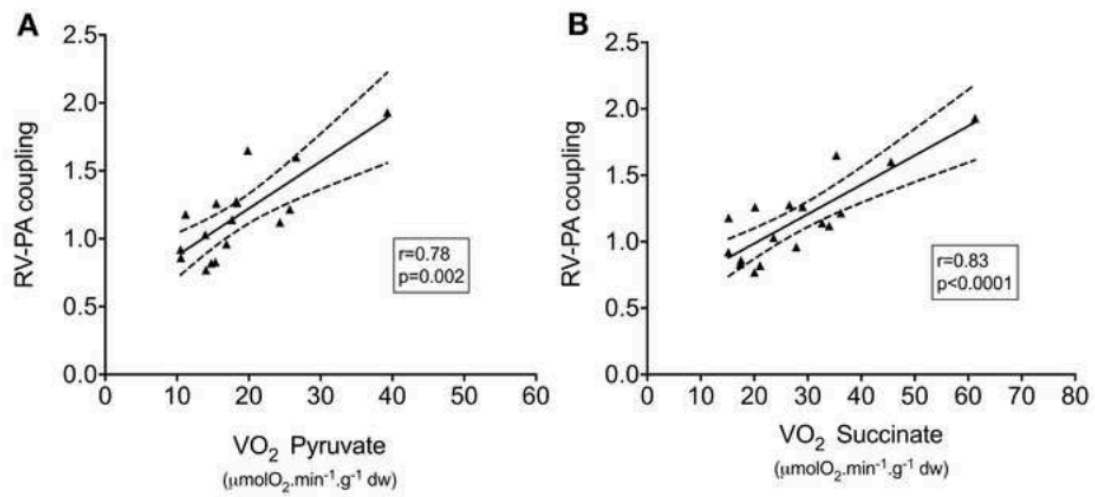
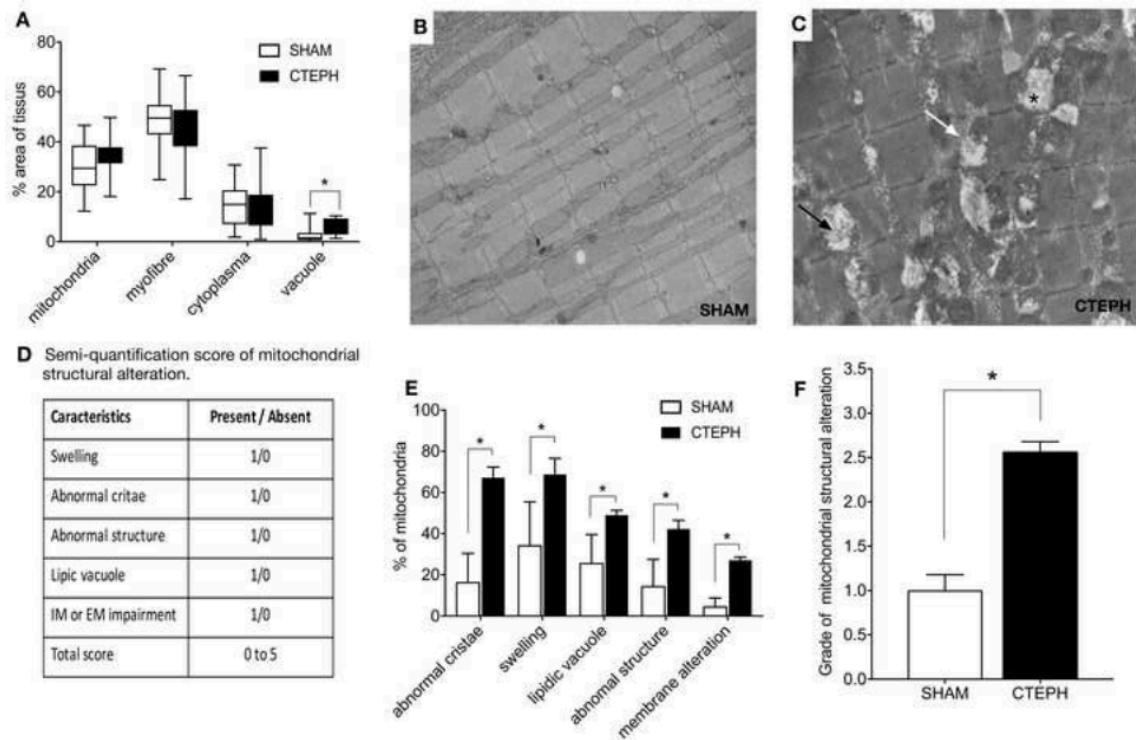


Figure 6

[Click here to download Figure\(s\) figure 6 MET mitochondries.tiff](#)



CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Conclusion et perspectives

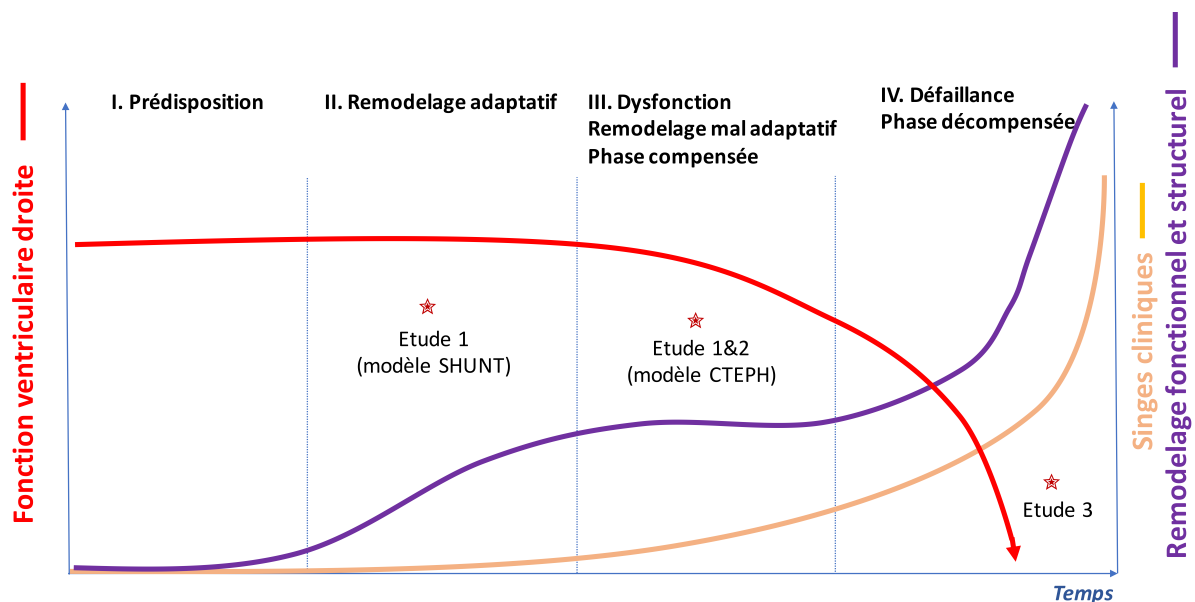
Une augmentation chronique de la charge de travail du ventricule droit entraîne un remodelage ventriculaire adaptatif dans un premier temps. L'hypertrophie permet au VD de compenser l'augmentation du stress pariétal et permet de fournir un débit adapté aux besoins et un travail adapté à la charge de travail. Lorsque l'augmentation de la postcharge persiste, le remodelage ventriculaire droit devient maladaptatif et la fonction ventriculaire droite peut évoluer vers la défaillance. Les mécanismes impliqués dans la transition de l'état adaptatif à l'état maladaptatif demeurent mal connus et la plupart des données sont issues d'études sur le petit animal (modèles murins). Dans ce travail de thèse, nous avons tenté de mieux définir l'importance de la raréfaction capillaire myocardique et de la dysfonction mitochondriale dans la dysfonction ventriculaire droite secondaire à une augmentation chronique de postcharge chez des modèles porcins d'hypertension pulmonaire.

Les principales observations de ce travail sont :

- L'augmentation chronique de postcharge entraîne un remodelage du ventricule droit dans un modèle porcin d'hypertension artérielle postembolique et dans un modèle d'hyperdébit pulmonaire par shunt systémico-pulmonaire.
- La fonction ventriculaire droite restait adaptée après 20 semaines dans le modèle de shunt (remodelage adaptatif) et était altérée dans le modèle postembolique (remodelage maladaptatif).
- Le mismatch entre la densité capillaire et la charge de travail du ventricule droit matérialisé par le ratio DC / SW était corrélé au couplage ventriculo-artériel et au taux de fibrose myocardique dans ces deux modèles.
- L'augmentation de HIF-1 α et du VEGF-A dans le modèle maladaptatif ne semble pas suffire pour compenser la diminution de la densité capillaire.
- La densité capillaire est diminuée dans les ventricules droits de patients atteints d'hypertension artérielle et de défaillance droite au stade terminal, secondaire soit à un syndrome d'Eisenmenger, soit à une hypertension artérielle pulmonaire idiopathique ou postembolique.

- Les capacités respiratoires mitochondriales sont diminuées au stade précoce de la dysfonction ventriculaire droite dans un modèle porcin d'hypertension artérielle postembolique.
- Les capacités respiratoires mitochondriales sont corrélées au couplage ventriculo-artériel et donc à l'adaptation du ventricule droit à sa charge.
- Cette altération de la fonction mitochondriale semble plus liée à une altération de la structure des mitochondries qu'à une diminution de leur surface mesurée en MET.
- Aucune modification de l'utilisation préférentielle de substrat au cours du temps (shift glycolytique) n'a été observée dans ce modèle.

Figure 48 : Situation des études dans l'histoire naturelle de la dysfonction ventriculaire droite.



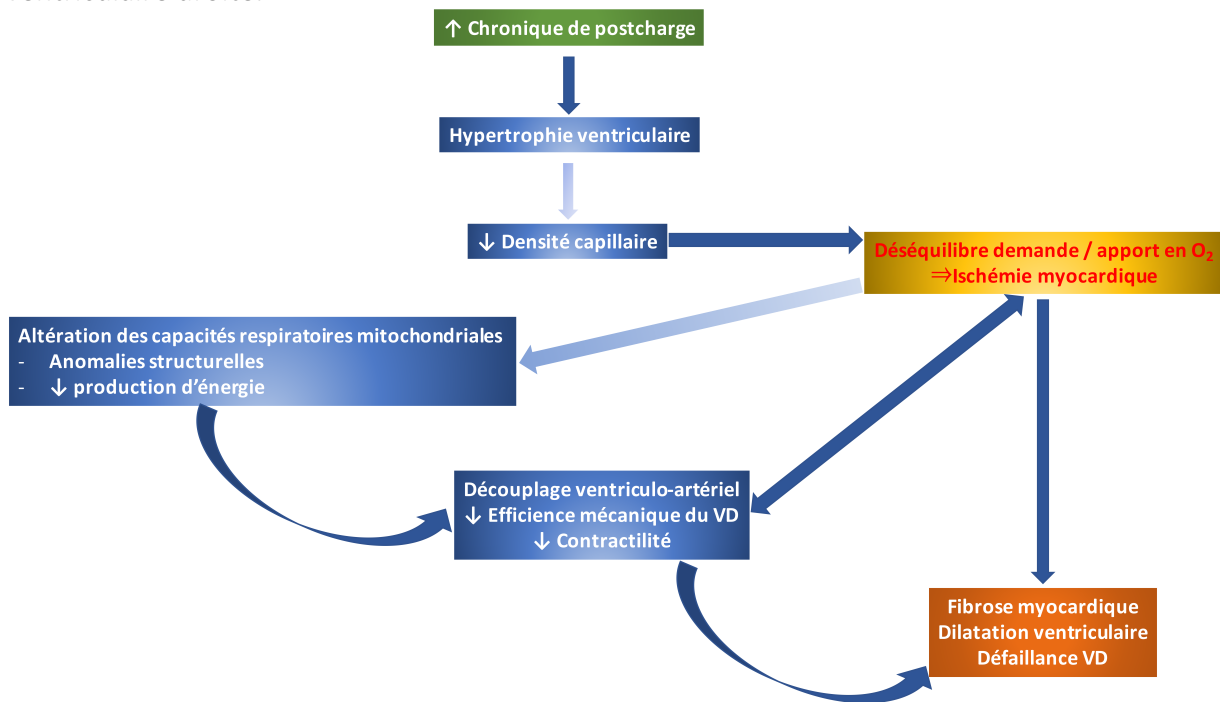
Nos observations sur l'importance de la raréfaction capillaire dans la transition vers la dysfonction ventriculaire confortent les résultats provenant d'études antérieures réalisées sur des modèles murins d'HP. Ceci conforte notre hypothèse selon laquelle l'ischémie myocardique et la fibrose myocardique pourraient être induits par une incapacité de l'angiogenèse à s'adapter à l'hypertrophie myocardique et à l'augmentation de demande en oxygène. Mais nos travaux ont plusieurs limitations et ne peuvent établir un lien de causalité directe entre altération de l'angiogenèse – ischémie ventriculaire droite – et dysfonction ventriculaire droite. S'il semble se produire un découplage entre les voies de HIF-1 α et du VEGF-A et la formation de capillaires myocardiques, les mécanismes expliquant ce phénomène

restent à déterminer. De plus, nous n'avons pas mesuré la « quantité » d'ischémie myocardique dans nos modèles. La mesure du taux de lactate intracellulaire est une méthode qui permet de renseigner sur la présence d'ischémie tissulaire, mais elle n'est pas disponible dans notre laboratoire. La présence d'un taux élevé de lactate dans les cardiomyocytes des ventricules droits dysfonctionnels ayant une densité capillaire diminuée aurait renforcé ce lien de causalité. Il serait nécessaire d'effectuer des études complémentaires afin de mieux comprendre l'interaction entre les voies de l'hypertrophie myocardique et les voies de l'angiogenèse, notamment le rôle de p-53, PCG-1 α .

La mise en évidence d'une altération précoce des capacités respiratoires mitochondriales dans notre modèle porcin d'hypertension pulmonaire conforte notre hypothèse selon laquelle la perturbation du métabolisme mitochondrial est associée au développement de la dysfonction ventriculaire droite. Ces résultats corroborent ceux observés dans des études réalisées sur un modèle murin d'HTAP. Cependant, nous ne pouvons pas affirmer si ces altérations mitochondriales sont induites directement par l'augmentation chronique de postcharge et la cause de la dysfonction du VD ou si elles sont la conséquence de l'ischémie ventriculaire droite. Le fait que la masse mitochondriale semble préservée et que les altérations structurelles observées en microscopie électronique soient semblables à celles observées dans l'ischémie-reperfusion nous incitent cependant à penser que l'ischémie myocardique soit la cause du trouble métabolique mitochondrial.

L'intégration de nos résultats suggère que l'augmentation chronique de postcharge du VD induit une hypertrophie ventriculaire associée à une raréfaction capillaire qui entraîne un déséquilibre entre les apports et la consommation en oxygène responsable de la présence d'ischémie myocardique. Ceci est associé à une altération des capacités respiratoires mitochondriales et un découplage ventriculo-artériel qui peuvent entraîner une défaillance ventriculaire droite (**Figure 49**). Cet algorithme ne repose que sur des associations d'observations et doit être confirmé par des études mécanistiques moléculaires plus poussées.

Figure 49 : Synthèse des mécanismes étudiés et impliqués dans la survenue de la défaillance ventriculaire droite.



Ces travaux ouvrent de nouvelles perspectives de recherche sur la défaillance ventriculaire droite, aussi bien au niveau mécanistique, diagnostique et thérapeutiques.

Perspectives de recherche mécanistiques

L'hôpital Marie Lannelongue étant le centre national de référence du traitement chirurgical de l'hypertension artérielle pulmonaire, les chirurgiens et l'équipe du laboratoire de recherche ont un accès privilégié pour la réalisation de projets de recherche incluant des analyses d'échantillons humains. Des travaux sont en cours de réalisation afin de confirmer le rôle de la raréfaction capillaire chez les patients atteints d'HPPE.

Perspectives diagnostiques

L'étude de l'adaptation du ventricule droit à sa charge de travail est un axe de recherche prometteur pour un diagnostic précoce de la dysfonction ventriculaire droite, avant que les signes de défaillance ne surviennent. Les modalités actuelles d'évaluation du VD ne permettent de diagnostiquer la dysfonction droite qu'à un stade assez avancé de l'histoire

naturelle de la maladie. L'imagerie hybride est une technique d'imagerie émergente et extrêmement prometteuse qui associe deux techniques d'imagerie, l'une métabolique ou de perfusion et l'autre structurale ou fonctionnelle. Elle permet donc une évaluation *in vivo* optimale des conséquences hémodynamiques de la dysfonction ventriculaire droite par l'intégration d'informations anatomiques, physiologiques, et métaboliques en même temps. Elle permet une imagerie moléculaire régionale ou exprimée en gramme de myocarde. L'imagerie hybride par IRM et PET scan est en cours de développement et semble très prometteuse^{318, 341-343}. Non seulement elle permet une combinaison simultanée du PET scan avec une imagerie anatomique, mais elle permet également de fournir des données fonctionnelles, de perfusion myocardique, de caractérisation tissulaire et d'images de flux. Tout reste à découvrir en ce qui concerne le potentiel diagnostique et pronostique dans la défaillance ventriculaire droite de cette technique d'imagerie émergente.

Perspectives thérapeutiques

Bien que nous n'ayons pas mis en évidence de shift glycolytique dans le VD défaillant de notre modèle porcin d'HPPE, une étude sur l'ajout du DCA dans le liquide de cardioplégie, utilisé pour la protection myocardique pendant la circulation extra corporelle (CEC) est en cours de réalisation. L'hypothèse sous-jacente est que l'ajout du DCA permettrait une amélioration de la fonction ventriculaire droite après sevrage de la CEC. L'objectif est donc de comparer la fonction ventriculaire droite après réalisation d'une CEC et d'un arrêt cardiaque à l'aide d'une cardioplégie cristalloïde avec et sans ajout de DCA.

La raréfaction capillaire étant un des mécanismes impliqués dans la survenue de la défaillance droite, une étude de thérapie cellulaire est actuellement en cours dans le laboratoire de recherche chirurgical de l'Hôpital Marie Lannelongue. L'objectif est d'évaluer l'effet de l'injection de précurseurs angiogéniques sur la fonction ventriculaire droite dans le modèle porcin d'HPPE.

ANNEXES

Video Article

Chronic Thromboembolic Pulmonary Hypertension and Assessment of Right Ventricular Function in the PigletPierre-Emmanuel Noly¹, Julien Guilhaire^{1,4}, Matthieu Coblenca¹, Peter Dorfmueller^{2,5}, Elie Fadel^{1,3}, Olaf Mercier^{1,3}¹Surgical Research Lab, Marie Lannelongue Hospital²Department of Pathology, Marie Lannelongue Hospital³Department of Thoracic and Vascular Surgery, Marie Lannelongue Hospital⁴Thoracic and Cardiovascular Surgery, University Hospital of Rennes⁵INSERM U999 Paris-Sud UniversityCorrespondence to: Julien Guilhaire at julienguilhaire@gmail.comURL: <https://www.jove.com/video/53133>DOI: [doi:10.3791/53133](https://doi.org/10.3791/53133)

Keywords: Medicine, Issue 105, Chronic Thromboembolic Pulmonary Hypertension, Right Ventricular Failure, Pressure-Volume Loops Assessment, Endomyocardial biopsies, piglets

Date Published: 11/4/2015

Citation: Noly, P.E., Guilhaire, J., Coblenca, M., Dorfmueller, P., Fadel, E., Mercier, O. Chronic Thromboembolic Pulmonary Hypertension and Assessment of Right Ventricular Function in the Piglet. *J. Vis. Exp.* (105), e53133, doi:10.3791/53133 (2015).**Abstract**

An original piglet model of Chronic Thromboembolic Pulmonary Hypertension (CTEPH) associated with chronic Right Ventricular (RV) dysfunction is described. Pulmonary Hypertension (PH) was induced in 3-week-old piglets by a progressive obstruction of the pulmonary vascular bed. A ligation of the left Pulmonary Artery (PA) was performed first through a mini-thoracotomy. Second, weekly embolizations of the right lower pulmonary lobe were done under fluoroscopic guidance with n-butyl-2-cyanoacrylate during 5 weeks. Mean Pulmonary Arterial Pressure (mPAP) measured by right heart catheterism, increased progressively, as well as Right Atrial pressure and Pulmonary Vascular Resistances (PVR) after 5 weeks compared to sham animals. Right Ventricular (RV) structural and functional remodeling were assessed by transthoracic echocardiography (RV diameters, RV wall thickness, RV systolic function). RV elastance and RV-pulmonary coupling were assessed by Pressure-Volume Loops (PVL) analysis with conductance method. Histologic study of the lung and the right ventricle were also performed. Molecular analyses on RV fresh tissues could be performed through repeated transcutaneous endomyocardial biopsies. Pulmonary microvascular disease in obstructed and unobstructed territories was studied from lung biopsies using molecular analyses and pathology. Furthermore, the reliability and the reproducibility was associated with a range of PH severity in animals. Most aspects of the human CTEPH disease were reproduced in this model, which allows new perspectives for the understanding of the underlying mechanisms (mitochondria, inflammation) and new therapeutic approaches (targeted, cellular or gene therapies) of the overloaded right ventricle but also pulmonary microvascular disease.

Video LinkThe video component of this article can be found at <https://www.jove.com/video/53133/>**Introduction**

Chronic Thromboembolic Pulmonary Hypertension (CTEPH) is a subtype of Pulmonary Hypertension (PH) due to chronic pulmonary vascular bed obstruction by persistent and organized clots related to one or more acute pulmonary embolisms¹⁻³. A combination of obstructive and non-obstructive microvascular disease leads to an additional increase in pulmonary vascular resistance⁴. The right ventricle must first adapt with compensated hypertrophy to maintain the cardiac output. Without treatment, the right ventricle dilates and fails over time. In the modern era, PH remains a progressive and often fatal disease despite the use of modern targeted therapies⁵. Many studies have shown that right ventricular (RV) adaptation to pressure overload is the main determinant of survival in PH patients. For that reason, understanding the mechanisms underlying the transition from adaptive to maladaptive RV remodeling is a keystone for treatment and development of new therapies. Because PH is rare and tissue sampling is almost infeasible in these frail patients, experimental studies are required. Furthermore, preclinical studies are mandatory to ascertain that a drug with benefit in the pulmonary vasculature does not cause RV impairment.

For many years, different experimental models of PH and RV failure have been developed with advantages and limitations^{6,7}. In the pharmacological murine models (Monocrotaline, SU5416, Hypoxia), PH and RV failure occur secondary to a massive inflammation, ischemia or toxic stressor that might induce several "side effects" and bias in molecular pathway analysis. Furthermore, RV endomyocardial biopsies in a murine model should be very challenging without sacrificing the animal. Surgical models in larger animals are more physiological but do not affect the pulmonary vasculature (pulmonary artery banding, systemic-to-pulmonary shunt) or induce acute PH and RVF (acute pulmonary embolism). The aim of this article is to describe an original model of CTEPH in piglet that is more representative of CTEPH pathophysiology. This large animal model enables repeated noninvasive and invasive measurements usually performed in clinical practice (right heart catheterization) to follow changes in pulmonary hemodynamics and RV function.

Protocol

This protocol was approved by the local ethics committee on animal experiments and by the Institutional Committee on Animal Welfare of our institution. All animals received humane care in compliance with the "Principles of Laboratory Animal Care" formulated by the National Society for Medical Research and the "Guide for the Care and Use of Laboratory Animals" prepared by the Institute of Laboratory Animal Resources and published by the National Institutes of Health (NIH Publication No. 86-23, revised 1996).

General considerations: All animals must be treated with respect, according to the 3Rs rules (National Centre for Replacement Refinement and Reduction of Animals in Research). Surgical procedures must be performed with a strict sterility and in the same way that for human beings. All medical devices must be sterile.

1. Anesthesia Protocol

NOTE: Large White piglets weighing 20 Kg (3-weeks-old) were used. Pulmonary Hypertension was induced progressively. The first step involved a left pulmonary artery (PA) ligation through a left thoracotomy. Following steps consisted of performing weekly PA embolizations during 5 weeks. All procedures were performed under general anesthesia.

1. Do not feed the animals 12 hr before the procedure.
2. Do a premedication of the piglet, perform an intramuscular injection using 30 mg/kg of Ketamine Hydrochloride and atropine 0.05 mg/kg in the neck muscles, 30 min before the procedure.
3. When the pig is sedated, insert a catheter into the ear vein.
4. Perform intravenous a bolus of fentanyl (0.005 mg/kg) and propofol (2mg/kg) before intubation. Inject intravenously in the ear vein Cisatracurium (0.3 mg/kg) and intubate the pig (non-selective intubation with a 7 French probe)⁸.
5. Place continuous monitoring devices on the piglet: continuous EKG, expiratory CO₂ and oxymetry^{8,9}. Insert an arterial fluid field catheter through the carotid artery under echography guidance to monitor the systemic arterial pressure^{8,10}.
6. Maintain general anesthesia with isoflurane (2%) in 100% oxygen supplement, continuous intravenous infusion of fentanyl (0.004 mg/kg) and propofol (3 mg/kg).
7. Add an antibioprophyllaxy with an injection of Cefatoxime (1 g) and Gentamycine (80 mg).
8. Prevent intra operative and post operative pain with injection of nalbuphine (0.01 mg/kg) t.i.d.
9. Check every 15 min the completeness of the anesthesia: absence of movement, stable heart rate, blood pressure, oxygenation.
10. Use of vet ointment on eyes to prevent dryness while under anesthesia.

2. Ligation of the Left Pulmonary Artery

1. Install the piglet in left side-lying position, shave the operative area and disinfect the skin with an alcoholic solution. Use a local sterile field.
2. Open the chest through a small left lateral thoracotomy (5 to 10 cm) in the 4th intercostals' space. Do not go to behind the tip of the scapula. Carefully retract the lung towards the diaphragm.
3. Once ideal surgical window located, retract the left azygos vein and dissect the main left pulmonary artery before tying it with a non-absorbable 2/0 silk.
NOTE: It is very important not to open the pericardium.
4. Close the chest layer after layer with absorbable sutures. Use a chest tube to remove the post operative pneumothorax. Remove the chest tube just after the piglet extubation.

3. Embolization of the Right Lower Lobe Pulmonary Artery

1. After general anesthesia, put the piglet in a supine position. Carry out a continuous monitoring of the oxymetry, expiratory CO₂, EKG, mean systemic blood pressure (mPA) and mean pulmonary artery pressure (mPAP) throughout the procedure.
2. Insert all catheters percutaneously with echographic guidance. Insert an arterial 6 French catheter in the carotid artery for blood pressure monitoring and an 8 French sheath in the superior vena cava through the jugular vein (Perform the puncture 2 cm above the suprasternal notch with a 45° angle direction).
3. Under fluoroscopic guidance, insert, through the 8 Fr sheath, a 5 French angiographic catheter in the right pulmonary artery. The tip of the catheter must be in a segmental lower lobe pulmonary artery.
4. Prepare the material for pulmonary artery embolization: 1 ml of soft tissue glue containing N-butyl-2-cyanoacrylate is added to 2 ml of a lipidic contrast dye.
CAUTION: Avoid skin or eyes contact with the N-butyl-2-cyanoacrylate.
5. When the angiographic catheter is well positioned, inject 0.2 ml to 0.4 ml of the preparation in the pulmonary artery. Assess the tolerance of the embolization by measuring the mPAP / mPA ratio that should not exceed 0.5. Stop embolization if oxygen saturation was < 90% and/or the mPA dropped under 60 mm Hg and/or the cardiac output was under 2 L/min.
6. Remove the angiographic catheter and sheaths and perform digital compressions of the puncture site.

4. Hemodynamic Assessment

1. After general anesthesia, position the piglet in a supine position. Carry out a continuous monitoring of the oxymetry, expiratory CO₂, EKG, systemic blood pressure (mPA) and pulmonary blood pressure (mPAP) throughout the procedure.
2. Ventilate the piglets with the lowest FIO₂ as possible according to the oxygen saturation (> 95%).

3. Insert all catheter percutaneously under echographic guidance. An arterial 6 French catheter is inserted in the carotid artery and an 8 French sheath is inserted in the superior vena cava (Perform the puncture 2 cm above the suprasternal notch with a 45° angle direction).
4. Insert a 7 French Swan-Ganz catheter in the pulmonary artery trunk. Assess the cardiac output by the thermo dilution technique, with injection of 10 ml of saline solution at 4 °C.
5. Record the following parameters: systolic, diastolic and mean systemic and pulmonary arterial pressure, heart rate, oxygen saturation, right atrial pressure, cardiac output.

5. Echocardiographic Assessment of the Right Ventricle

1. After general anesthesia, install the piglet in supine position and perform a trans thoracic echocardiography according human guidelines for RV screening. Record video loops during an end-expiratory pause.

6. Pressure-Volume Loops Assessment with the Conductance Method

1. After general anesthesia, install the piglet in a supine position. Carry out a continuous monitoring of the oxymetry, expiratory CO₂, EKG, systemic blood pressure (mPA) and pulmonary blood pressure (mPAP) throughout the procedure.
2. Insert an arterial 6 French catheter in the right or left carotid artery and an angiographic catheter in the left ventricle. Insert an 9 French sheath in the superior vena cava, an 8 French in the right or left femoral vein and an arterial PICCO catheter in the right or left femoral artery. Insert all catheters percutaneously under echographic guidance.
3. Perform the pressure and volume calibration of the conductance probe according to the manufacturer's recommendations. Measure the blood resistivity (Rho) by sampling 5 ml of arterial blood. Harvest 5 ml of arterial blood, de-air the syringe and fill the probe for the measurement of the blood resistivity.¹⁰⁻¹³
4. Insert the conductance catheter in the right ventricle through the 9Fr sheath in the superior vena cava. Place properly the end of the catheter with fluoroscopic guidance. Place the end of the catheter in the apex of the right ventricle and insert all long as possible in the ventricle.
5. Control the quality of the loops. (Figure 6)
6. Insert an balloon expendable in the inferior vena cava through the femoral vein. Place the extremity just below the right atrial. Use fluoroscopic guidance.
7. Record pressure-volume loops of the right ventricle at basal state and during inferior vena cava occlusion as previously described¹⁰⁻¹². (Figure 7)

7. Endomyocardial Biopsies of the Right Ventricle

1. After general anesthesia, position the piglet in a supine position. Carry out a continuous monitoring of the oxymetry, expiratory CO₂, EKG, systemic blood pressure (mPA) and pulmonary blood pressure (mPAP) throughout the procedure.
2. Insert percutaneously a 10 French sheath in the superior vena cava. Insert a 7 French Swan-Ganz (SG) probe and a long 7.5 French catheter sheath in the right atrium. When the tip of the SG probe is well placed in the right ventricle (RV), inflate the balloon of the SG probe, push the long-sheath catheter in the RV against the balloon. Deflate the balloon and remove the SG probe leaving the long-sheath catheter in the RV. The good position of the long-sheath's tip is controlled by fluoroscopy and echocardiography.
3. Insert the biotome in the long-sheath and perform endomyocardial biopsies under echographic, fluoroscopic and EKG control.

8. General Post-surgery Care Considerations

1. After surgery, extubate the piglet only after recovery of spontaneous respiratory functions.
2. For post operative medication, perform an intramuscular injection of Cefatoxime (1 g) Die for 5 days and deliver appropriated analgesia (Buprenorphin, intramuscular injection 0.01 mg/kg Bid for 10 days).
3. Do not leave an animal that has undergone surgery to the company of other animals until fully recovered.

9. Euthanasia Method

1. Euthanize the animals in the followed situations; End of experimentation, lost of weight 15% or more in one week, inability to adequately feed themselves, anorexia, not treatable infection, pain or other disease, disease too severe : cyanosis, major dyspnea
2. During general anesthesia with sevoflurane 8%, inject a high dose of propofol (0.5 mg/kg) associated with a lethal dose of potassium chloride (0.2 g/kg). When the heart is stopped in diastole, harveste the heart and lung bloc in order to do a histological and molecular study.

Representative Results

Feasibility

This piglet model of chronic post-embolic pulmonary hypertension has been established in our laboratory in 2009-2010. Since 2011, we used 70 piglets and we performed 63 completed models. In our experience, the realization of this model required a learning curve.

Regarding the mortality, we observed 5 unplanned deaths (7.1%), mainly in the first part of our experience. The two critical steps were first, the pulmonary embolization and second, the endomyocardial biopsies. Four piglets died from severe acute right heart failure after pulmonary embolization. One piglet died from an unknown cause. Regarding the morbidity, 4 piglets (5.7%) had a major complication during procedures.

Two piglets needed urgent pericardial drainage during the endomyocardial biopsies procedure. They required urgent pericardo-synthesis because of a perforation of the right ventricular free wall. The recovery was uneventful in all cases. Since the use of echographic guidance to perform endomyocardial biopsies, we did not observe this complication anymore.

Two others piglets developed a pyothorax after the pulmonary artery ligation and they required euthanasia 7 days after de surgery.

We used Large White piglets with an average weight of 20 kg. All animals were males and came from a French farm (Gambals, France). The first hours after the surgery, the piglets were placed in a specific room with oxygen and underfloor heating. Then, they were housed alone or with another piglet in a 2 m² cage.

The model of Chronic Pulmonary Hypertension in piglet was fulfilled 6 weeks after the left pulmonary ligation and 5 repeated embolizations (Figure 1). The left pulmonary artery was ligated through a small lateral thoracotomy. The first embolization of the right lower pulmonary artery was performed 5 days later. Embolizations are repeated weekly during 5 weeks with an average of 3.2±0.8 ml of N-butyl-2-cyanoacrylate per embolization. Effects on hemodynamics, pulmonary vasculature and right ventricle can be described as follows.

The sham animals underwent only a left thoracotomy without left pulmonary artery ligation. They do not have embolization of the pulmonary arteries but underwent repeated hemodynamics, echocardiographic and histologic assessments at the same time as the other animals.

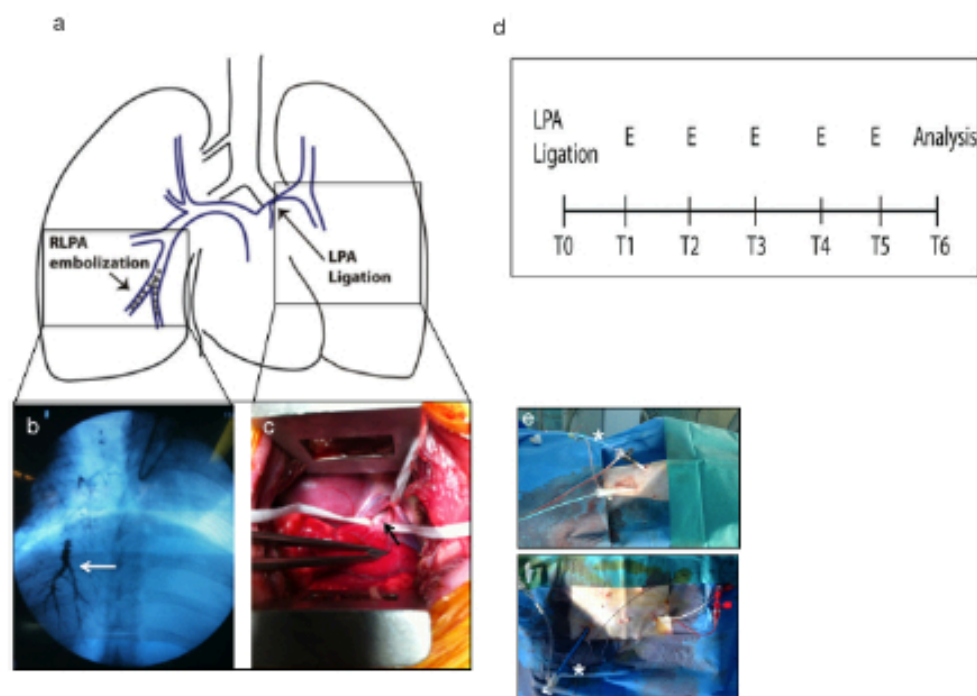


Figure 1. CTEPH animal model design. The left pulmonary artery ligation was followed by repeated embolization of the lower pulmonary lobe artery (A and D). LPA ligation (arrow) was performed through a small left thoracotomy (C). Embolizations were performed with fluoroscopic guidance weekly for 5 weeks (B). All experiments were performed under general anesthesia and percutaneous vascular accesses were used for embolizations and pressure measurements: (E) percutaneous superior vena cava (star) and right carotid artery catheterization. (F) 8Fr sheath in the right femoral vein (star) and arterial thermolulution sheath sensor in the left femoral artery. [Please click here to view a larger version of this figure.](#)

Hemodynamic results

The mean pulmonary arterial pressure (mPAP) increased progressively after embolizations above 25 mm Hg. Hemodynamic data are summarized in Table 1. The right atrial pressure, the mPAP/mSAP ratio and the pulmonary vascular resistances also increased after repeated embolizations. The Cardiac Index tended to decrease after several embolizations, reflecting the RV dysfunction. The mPAP/mSAP ratio also increased progressively. This ratio must not exceed 0.5 just after acute embolization because of the increased risk of death. For this reason, embolizations must be performed with a maximum of 2 ml per injection. Reinjection of 1 ml can be performed if the previous one was well tolerated hemodynamically. In this model, the PH was only precapillary because the PCWP did not increase.

Values	Timing					
	T0 (LPA ligation)	Embol 1	Embol 2	Embol 3	Embol 4	Embol 5
Weight, kg	20.1±0.9	20.5±1.0	22.2±0.1	23.7±1.3	25.5±1.4	26.3±2.2
HR, <i>n</i> /min	109±5	83±3	101±7	89±1	108.7±8	103±5
mSAP, mmHg	74±4	70.1±2.3	71.1±3.4	62.3±4.8	76.7±3.3	71.0±7.6
RAP, mmHg	3.1±0.4	3.6±0.9	3.4±0.2	5.7±0.7	6.5±0.8	8.2±1.1
PAPs, mmHg	19.8±1.0	25.1±1.5	26.1±1.7	29.1±1.4	33.6±2.4	37.8±4.6
PAPd, mmHg	10.7±0.7	11.1±1.1	12.2±0.8	16.8±0.8	20.1±2.2	26.1±3.7
mPAP, mmHg	14.8±0.6	17.4±1.2	18.6±1.3	23.1±0.9	26.8±2.4	29.1±3.3
PCWP, mmHg	4.1±0.3	4.4±1.1	5.3±1.0	5.6±0.8	5.6±0.7	6.2±0.1
mPAP/mSAP	0.2±0.01	0.24±0.01	0.27±0.03	0.36±0.02	0.36±0.02	0.42±0.3
CO, L/min	3.0±0.2	2.6±0.2	2.5±0.2	2.3±0.1	2.6±0.3	2.6±0.4
CL L/min/m ²	4.4±0.3	3.9±0.3	3.6±0.3	3.1±0.29	3.1±0.4	2.9±0.6
ESV, ml	27.3±2.0	25.4±1.2	25.8±1.5	26.2±1.6	27.4±3.0	22.2±4.1
PVR, dynes/cm ⁵	415±34	496±42	577±32	799±55	783±56	1171±246

Table 1. Hemodynamic data from 8 piglets models of CTEPH. HR: heart rate; mSAP: mean systemic arterial pressure; RAP: right atrial pressure; PAPs: systolic pulmonary arterial pressure; PAPd: diastolic pulmonary arterial pressure; mPAP: mean pulmonary arterial pressure; PCWP: pulmonary capillary wedge pressure; CO: cardiac output; CL: cardiac index; ESV: ejection systolic volume; PVR: pulmonary vascular resistances.

Remodelling of pulmonary arteries

Bronchial circulation hypertrophy was noted in the left lung, the right lower lobe and along the mediastinal pleura. In pathology, large and numerous submucosal bronchial arteries were observed in the obstructive lungs (left lung and right lower lobe), reflecting the increase of angiogenesis in these territories. (Figure 2) Post obstructive pulmonary vasculopathy with media hypertrophy was also found in obstructed territories (left lung and right lower lobe), while overflow vasculopathy was observed in the non-obstructive territories (right upper lobe). (Figure 3) Pathology also showed the chronic obstruction of the right lower pulmonary artery lobe by an unresolved thrombus of N-butyl-2-cyanoacrylate and fibrin.

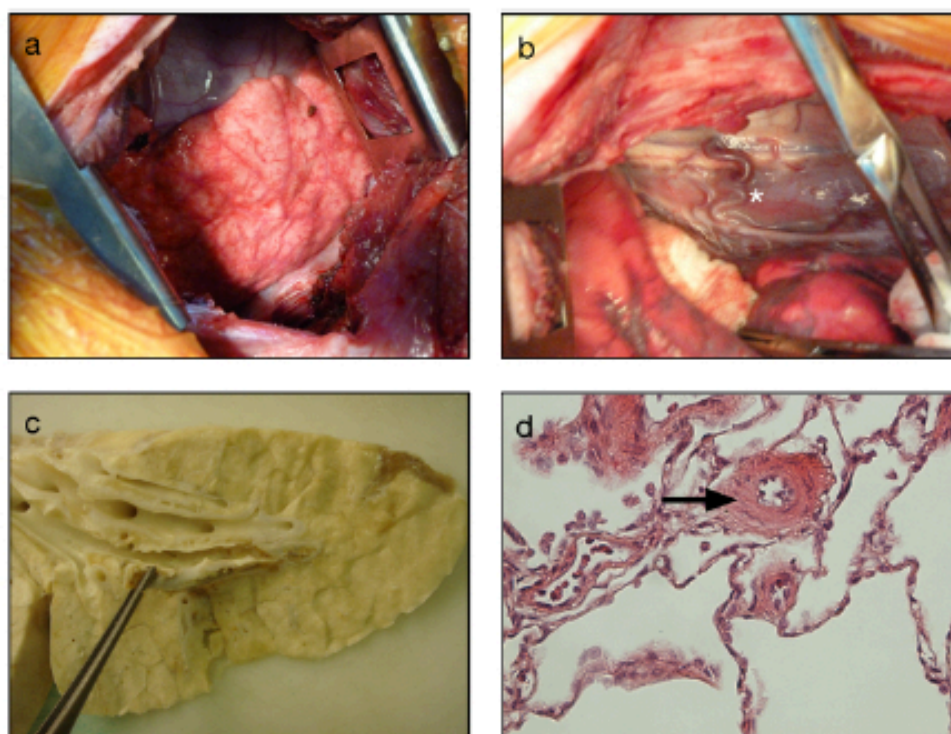


Figure 2. Vascular remodeling in the CTEPH model. Intraoperative views showing the development of bronchial arteries in the left lung and visceral pleura (A) and in the mediastinum (star, B). Gross anatomy of the harvested right lower lobe showing the unresolved intravascular clots

(C). Media hypertrophy in the small pulmonary arteries seen in light microscopy (arrow) (D). [Please click here to view a larger version of this figure.](#)

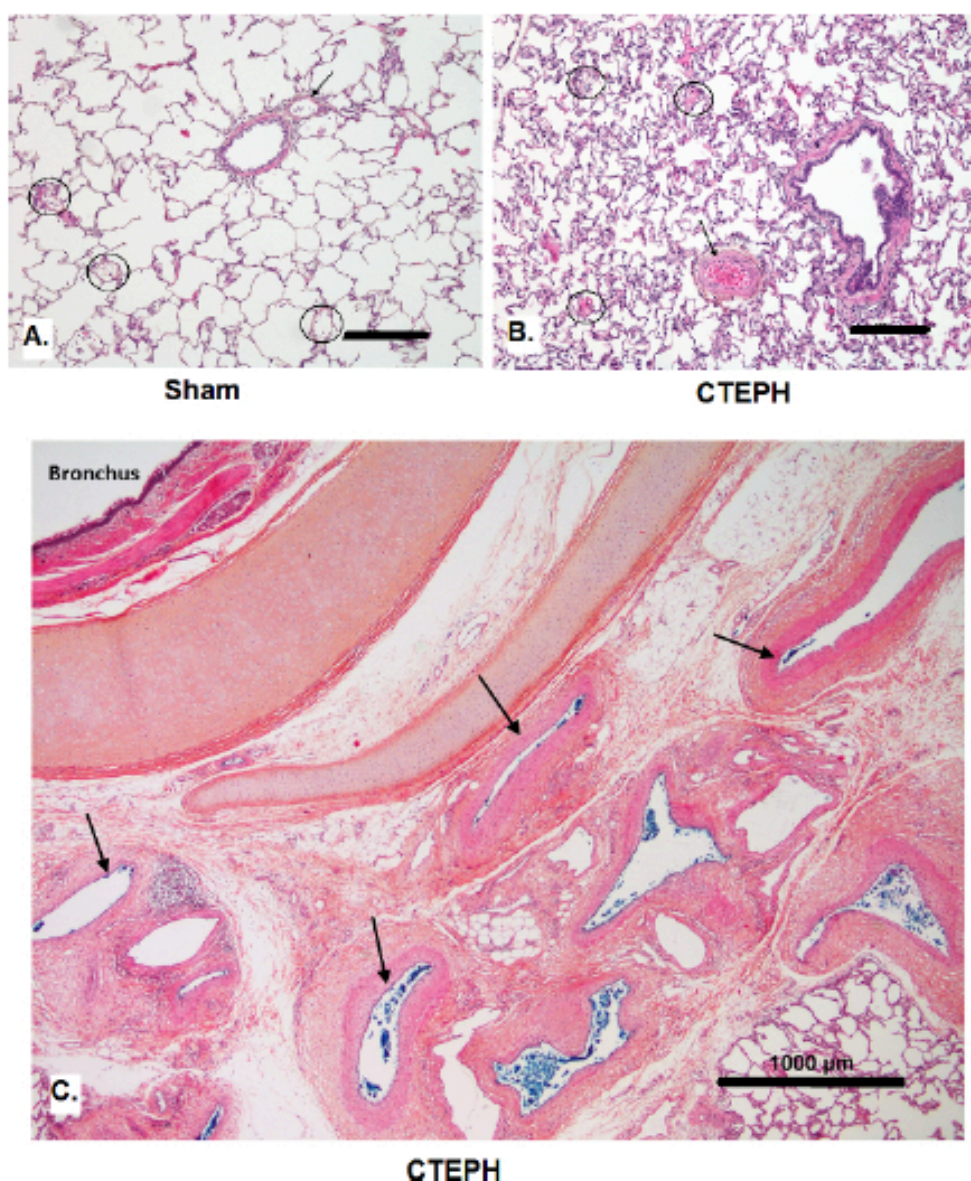


Figure 3. Comparative pulmonary vascular remodeling in Sham and CTEPH animals (Hematoxylin and eosin staining). Histology from a sham piglet (A): the pulmonary artery (arrow) and three microvessels (circles) display slender walls and no hypertrophic changes can be observed. In a CTEPH piglet after 5 weeks (B), pulmonary arteries (arrow) in the periphery of the upper right lobe show medial thickening. However, microvessels (circles) in this territory present with only very mild changes (scale bars, 200 μm). At higher magnification (C), bronchial arteries (arrows) from the upper right lobe (unobstructed territory) appear unremodeled and of normal size in a CTEPH piglet at 5 weeks (scale bar, 1,000 μm). [Please click here to view a larger version of this figure.](#)

Remodeling of right ventricle

Significant enlargement associated with right ventricular hypertrophy and fibrosis was observed after 6 weeks (Table 2 and Figure 4 and video 1 and video 2). The RV area, Right Atrial (RA) area, RV diameters were increased after repeated embolizations. The RV wall thickness also increased. RV hypertrophy was confirmed in light microscopy after heart's harvesting. In echocardiography, Tricuspid Annula Plane Systolic

Excursion (TAPSE) and Right Ventricular Fractional Area Change (RVFAC) were decreased after 6 weeks reflecting RV dysfunction in this model. RV function impairment was also found with PVL analysis with a decrease of the ventricular-arterial coupling (Table 3).

Values	Timing	
	TD (LPA ligation)	6 weeks
RV diastole area, cm ²	4.5±0.2	7.1±0.9
RV basal diameter, cm	1.5±0.8	3.7±1.3
RV free wall thickness, cm	0.3±0.02	0.59±0.04
RA area, cm ²	3.9±0.4	5.9±0.3
RVFAC, %	0.50±0.03	25.0±1.0
RV TAPSE, cm	1.6±0.2	1.11±0.07
LV EF, %	55.7±4.9	52.2±6.0

Table 2. RV remodeling in echocardiography. RVFAC: right ventricular fractional area change; TAPSE: tricuspid annular plane excursion; LV EF: left ventricular ejection fraction.

Values	Timing	
	TD (LPA ligation)	6 weeks
RV Stroke Work, mm Hg.ml ⁻¹	579±55	2248±148
RV Elastance, Ees	0.33±0.06	0.40±0.06
Pulmonary arterial Elastance, Ea	0.32±0.05	0.51±0.03
RV coupling, Ees/Ea	1.33±0.19	0.78±1.0

Table 3. Functional remodeling of right ventricle in Pressure-Volume Loops analysis.

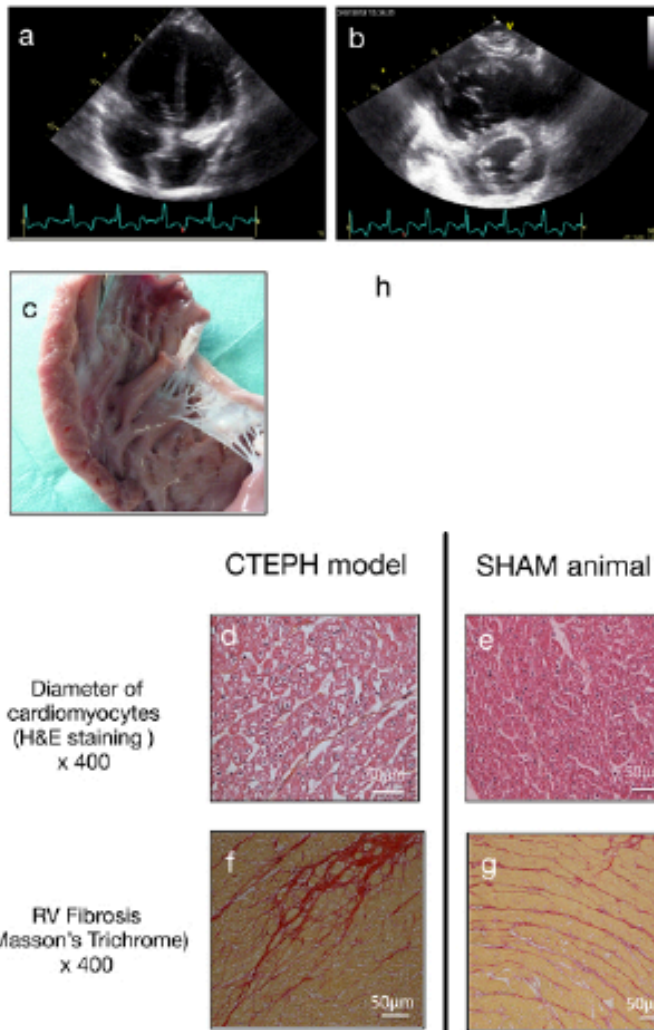
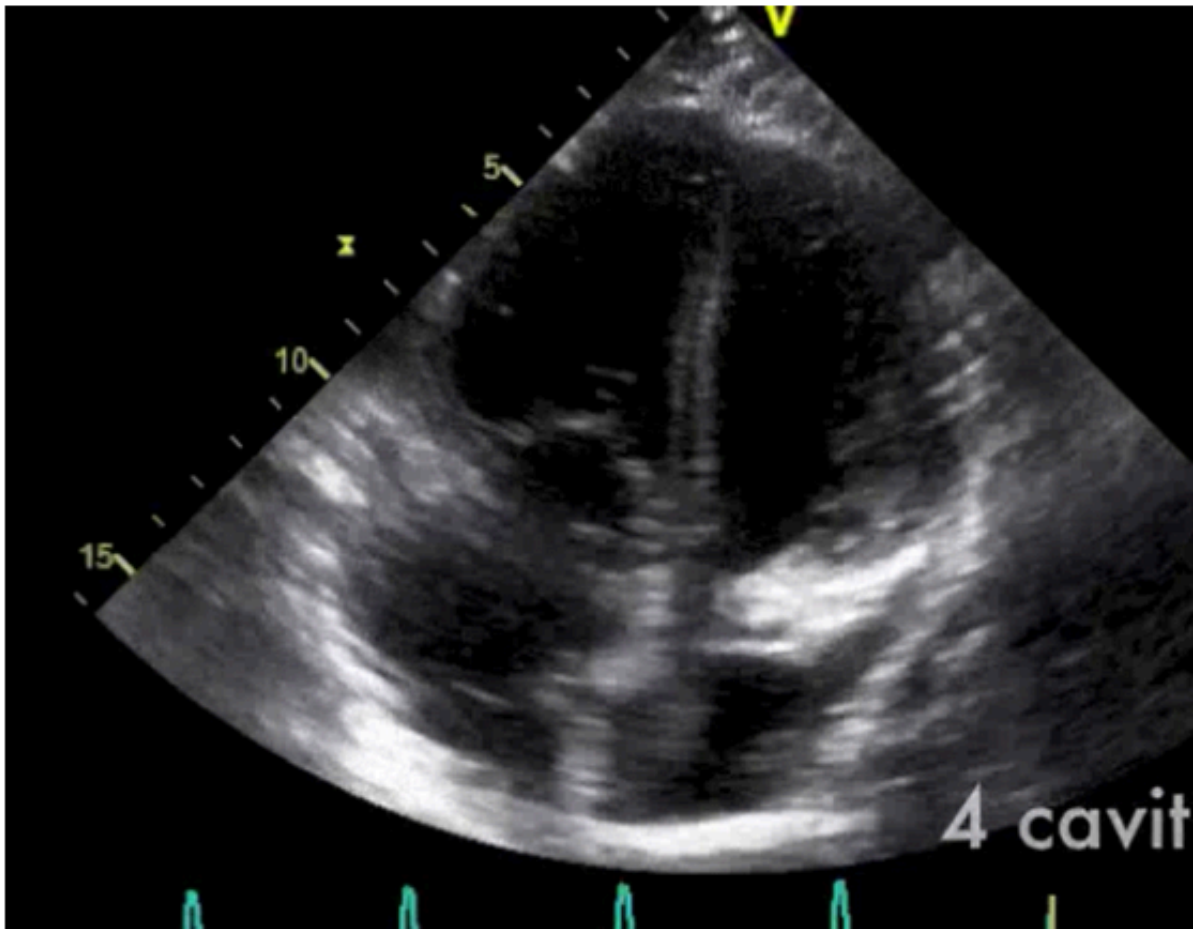
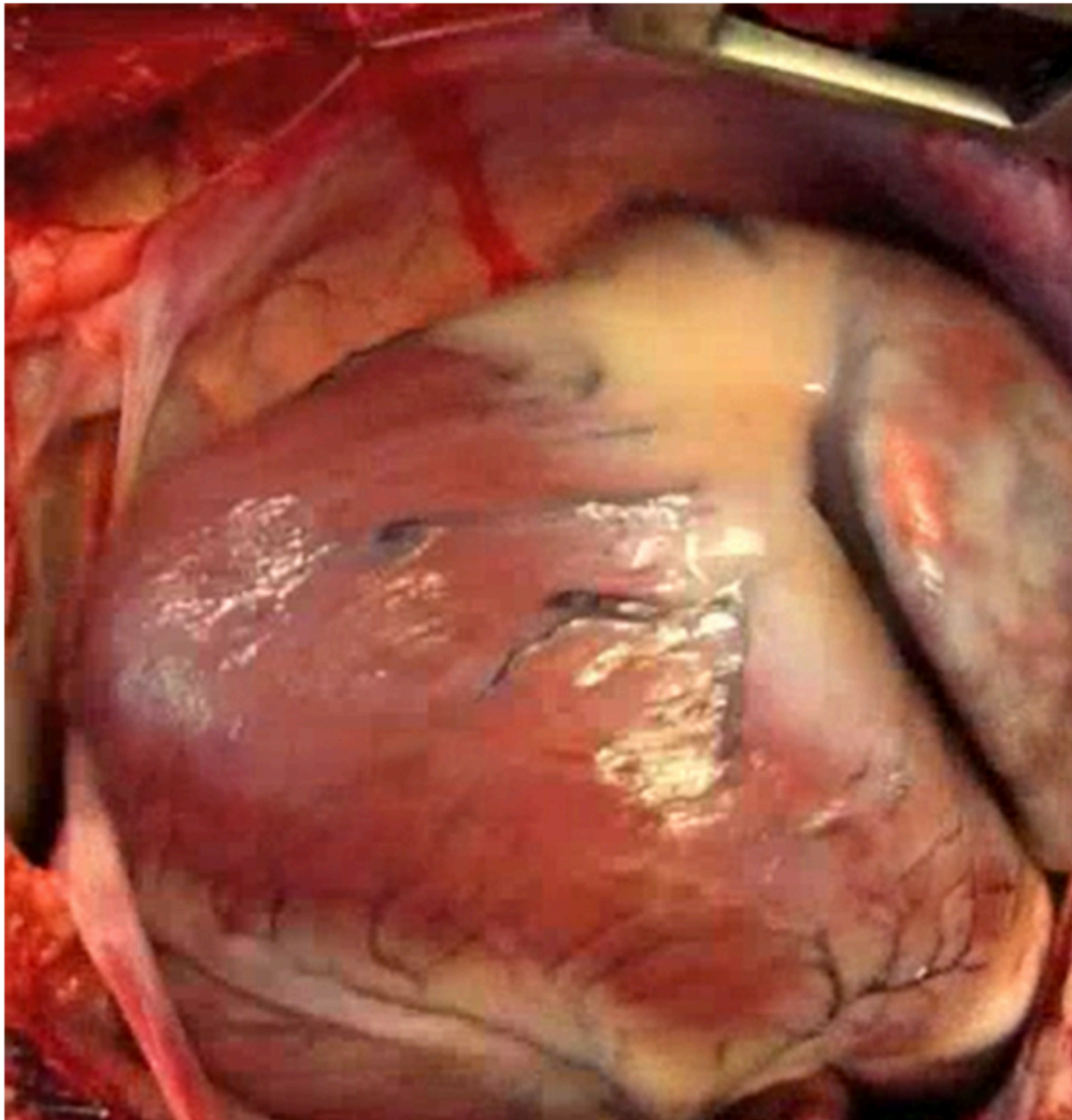


Figure 4. Right ventricular remodeling. Echocardiography showed enlargement of the right ventricle in the four cavities view (A) and short parasternal axis (B). Note the shift of the interventricular septum and the compression on the left ventricle. RV hypertrophy was confirmed macroscopically (C) and by light microscopy with enlargement of transversal axis of cardiomyocytes compared with sham (D and E). As showed in (H), the Fulton ratio correlated with the mean pulmonary arterial pressure. RV fibrosis rate was increased in the CTEPH animals compared to SHAM (F and G). [Please click here to view a larger version of this figure.](#)



Video 1: Transthoracic 4 cavities and short axis views showing enlargement of the right ventricle. [Please click here to view this video.](#)



Video 2: Operative view after median sternotomy. The dilated right ventricle fill the pericardium. [Please click here to view this video.](#)

In order to perform a genetic and metabolic study, a technique of endomyocardial biopsies of the right ventricle was developed in the present model of chronic pressure overload. This technique is safe and allows repeated fresh myocardial sampling in anesthetized piglets. Echocardiographic and fluoroscopic control reduced the risk of RV wall perforation with the biotome. The long catheter technique is a good strategy to avoid tricuspid valve injury (Figure 5).

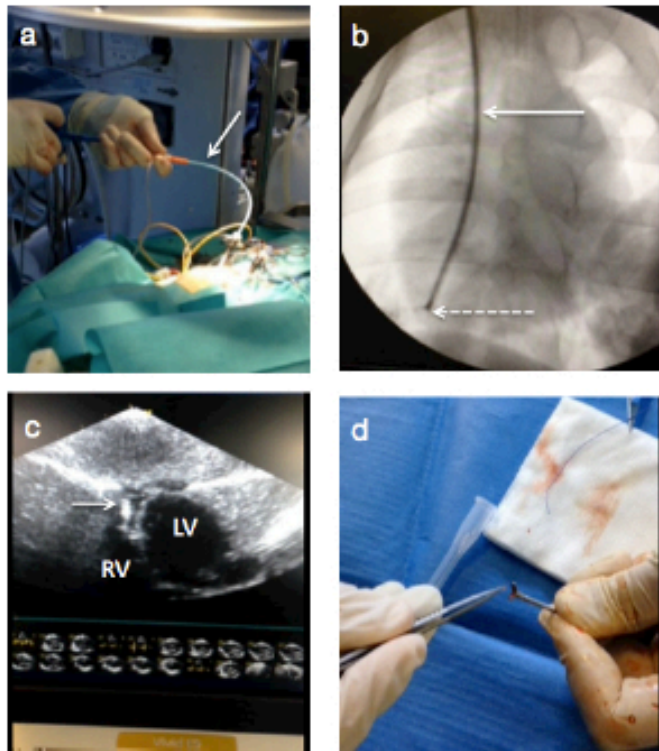


Figure 5. Endomyocardial biopsies in the CTEPH model. (A) a 55 cm jugular biotome is insert in the right ventricle through a transcutaneous 7 Fr long catheter sheath. Forceps progression was controlled with echocardiography (C) and fluoroscopy (B) and a 6mm3 myocardial piece is extracted (D). [Please click here to view a larger version of this figure.](#)

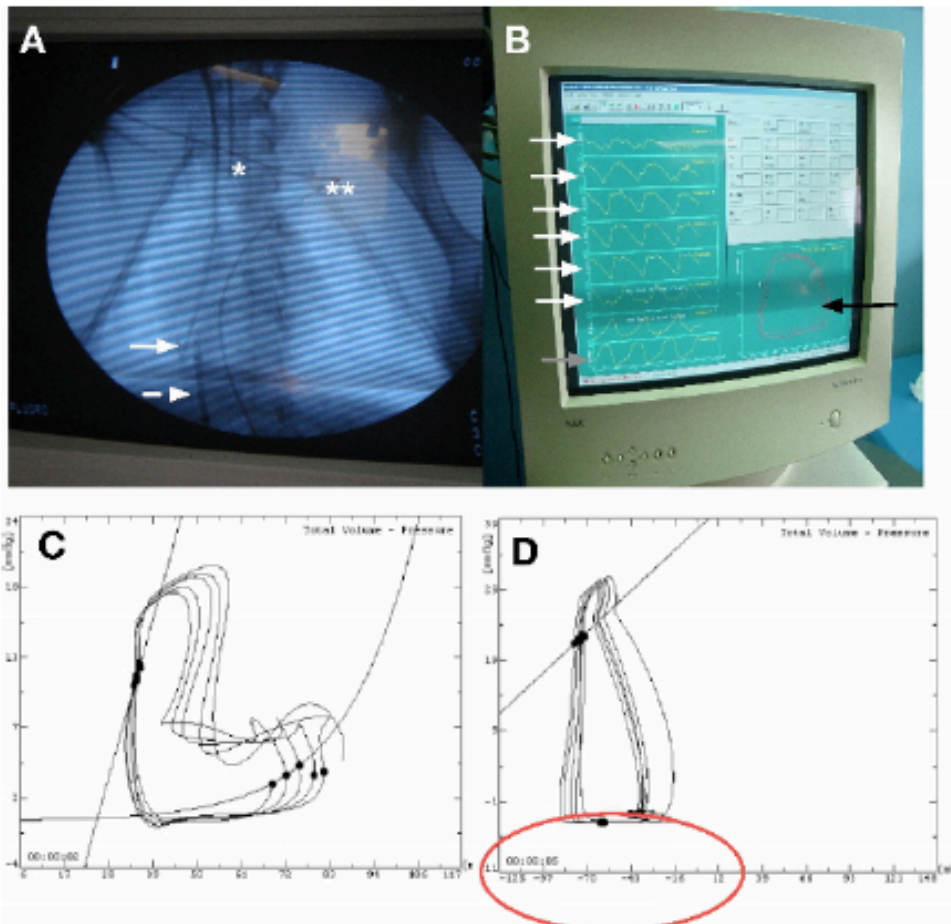


Figure 6. Appropriate placement of the conductance probe for PV loops assessment. (A) Place the end of the probe at the apex of the right ventricle under fluoroscopic guidance (solid arrow). Insert minimum 3 segments in the right ventricle and the probe has to be straight line. Insert an occlusion balloon in the inferior vena cava through the femoral vein. The end of the balloon must be just at the right atrium entry (dashed arrow) (*: Intubation probe; **: EKG wire). (B) Verify that the volume segments of the probe must be in phase in diastole and systole and the "good shape" of the loop on the screen. (C) Example of bad shape of the PV loop due to a wrong placement of the volume segments in the right ventricle. (D) Example of a bad volume calibration. The ventricular volumes are negatives. [Please click here to view a larger version of this figure.](#)

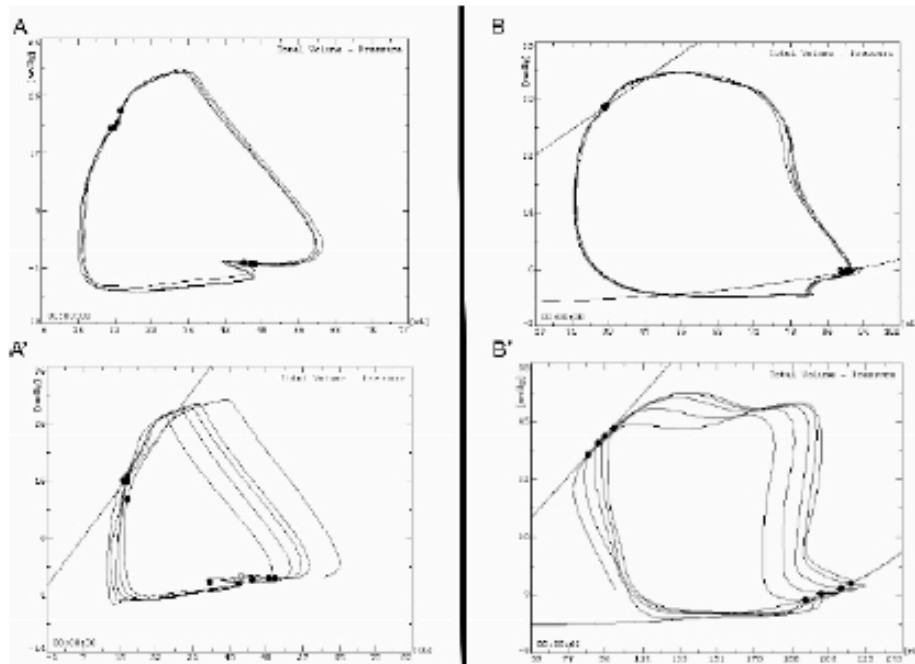


Figure 7. Example of PV loop shape at basal state and during inferior vena cava occlusion in SHAM (A and A') and CTEPH piglet (B and B'). PV loop in normal right ventricle has a triangle shape, with lower pressure and volume values compared with right ventricle under pulmonary hypertension. [Please click here to view a larger version of this figure.](#)

Discussion

As in human clinical practice, respect of asepsis rules is mandatory during all surgical procedures. In the original CTEPH piglet model described by O. Mercier *et al.*, the left pulmonary artery ligation was performed after opening the pericardium, through a median sternotomy¹⁴. Because the pericardium was left opened, the interaction between the right ventricle and the pericardium was impaired and right heart failure was delayed. Adverse effect of RV enlargement on cardiac output has been demonstrated to be significantly lower when the pericardium is open¹⁵. For this reason, it seems better not to open the pericardium at the time of the left PA ligation. Although it is a more technically demanding technique (care must be paid to preserve the phrenic nerve and the left lung) and despite the problem of pain control, left lateral thoracotomy offered the best approach for the left PA ligation outside the pericardium. As left PA ligation does not result in increased mPAP, progressive embolization of the right lower lobe PA was necessary. The second critical point of this model is the risk of massive pulmonary embolism after right lower lobe PA embolization. Maximum injection of 2 ml by 2 ml of N-butyl-2-cyanoacrylate was done and hemodynamic tolerance was appreciated between each injection. The mPAP / mPA ratio should not exceed 0.5. In addition, embolization was stopped if oxygen saturation was < 90% and/or the mPA dropped under 60 mmHg and/or the cardiac output was under 2 L/min.

Five embolizations were usually performed for each CTEPH model. The number and the frequency of the embolizations can be adjusted according to the warranted severity of induced pulmonary hypertension. Four days between 2 successive embolizations had to be respected for a better hemodynamic tolerance. Additional embolizations or a longer observation time may replicate the advanced stages of CTEPH with severe RV failure.

This model does not replicate the origin of the disease but just the consequences of chronic pulmonary vascular obstruction. There are no clues on the pathophysiology of fresh clots becoming organized and fibrous intravascular material rather than disappear.

This is the first large-animal model of chronic PH that is reproducible in a short time frame allowing further therapeutic testing. All animals increased the mPAP above 25 mm Hg within 6 weeks after the beginning of the experiment. It reproduced all the morphological, functional and biological changes seen in human CTEPH right ventricles. In addition, the pulmonary microvascular lesions were reproduced in two separate vascular territories (obstructed vs. non obstructed). At least, this model reproduced the interaction between the injured pulmonary vasculature (occluded and remodeling territories) and the right ventricle.

Several physiological studies have been based on this original and unique CTEPH model^{11,12,16}. It allows new perspectives for the understanding of the underlying mechanisms of RV failure (mitochondria, inflammation) and new therapeutic approaches (targeted, cellular or gene therapies). This model may also help to investigate mechanisms of RV recovery after surgical treatment of PH. Indeed, left lung reperfusion can be performed, reproducing surgical PA desobstruction and RV unloading. Interactions between pulmonary microvascular disease and the right ventricle would be the aim of further studies as both are interdependent and new therapy should target both of them.

Disclosures

No conflict of interest to disclose.

Acknowledgements

The authors thank the team at the Laboratory of Surgical Research, Marie Lannelongue Hospital, for technical assistance and animal care. The VividE9 cardiac ultrasound system (General Electric Medical System) was financed by a grant from the Cardio-vasculaire-Obésité Domaine D'Intérêt Majeur (CODDIM cod 100158, Région Ile-de-France, France).

References

1. Simonneau, G. *et al.* Updated clinical classification of pulmonary hypertension. *J Am Coll Cardiol.* **54** (1 Suppl), S43-S54, (2009).
2. Dartevielle, P. *et al.* Chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Eur Respir J.* **23** (4), 637-648, (2004).
3. Hoepfer, M. M., Mayer, E., Simonneau, G., & Rubin, L. J., Chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Circulation.* **113** (16), 2011-2020, (2006).
4. Galle, N., & Kim, N. H. Pulmonary microvascular disease in chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Proc Am Thorac Soc.* **3** (7), 571-576, (2006).
5. Humbert, M. *et al.* Survival in patients with idiopathic, familial, and anorexigen-associated pulmonary arterial hypertension in the modern management era. *Circulation.* **122** (2), 156-163, (2010).
6. Guilhaire, J. *et al.* Experimental models of right heart failure: a window for translational research in pulmonary hypertension. *Semin Respir Crit Care Med.* **34** (5), 689-699, (2013).
7. Mercier, O., & Fadel, E. Chronic thromboembolic pulmonary hypertension: animal models. *Eur Respir J.* **41** (5), 1200-1206, (2013).
8. Kaiser, G. M., Heuer, M. M., Fruhauf, N. R., Kuhne, C. A., & Broelsch, C. E. General handling and anesthesia for experimental surgery in pigs. *J Surg Res.* **130** (1), 73-79, (2006).
9. Flegal, M. C., & Kuhlman, S. M., Anesthesia monitoring equipment for laboratory animals. *Lab Anim (NY).* **33** (7), 31-36, (2004).
10. Guilhaire, J. *et al.* Right ventricular reserve in a piglet model of chronic pulmonary hypertension. *Eur Respir J.*, (2014).
11. Guilhaire, J. *et al.* Right ventricular plasticity in a porcine model of chronic pressure overload. *J Heart Lung Transplant.* **33** (2), 194-202, (2014).
12. Guilhaire, J. *et al.* Non-invasive indices of right ventricular function are markers of ventricular-arterial coupling rather than ventricular contractility: insights from a porcine model of chronic pressure overload. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging.* **14** (12), 1140-1149, (2013).
13. Kass, D. A., Yamazaki, T., Burkhoff, D., Maughan, W. L., & Sagawa, K., Determination of left ventricular end-systolic pressure-volume relationships by the conductance (volume) catheter technique. *Circulation.* **73** (3), 586-595 (1986).
14. Mercier, O. *et al.* Piglet model of chronic pulmonary hypertension. *Pulm Circ.* **3** (4), 908-915, (2013).
15. Brooks, H., Kirk, E. S., Volkonas, P. S., Urschel, C. W., & Sonnenblick, E. H., Performance of the right ventricle under stress: relation to right coronary flow. *J Clin Invest.* **50** (10), 2176-2183, (1971).
16. Boulate, D. *et al.* Pulmonary microvascular lesions regress in reperfused chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *J Heart Lung Transplant.*, (2014).



Available online at
ScienceDirect
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France
EM|consulte
www.em-consulte.com/en



REVIEW

Advancing knowledge of right ventricular pathophysiology in chronic pressure overload: Insights from experimental studies



Physiopathologie du ventricule droit dans la surcharge de pression chronique : données expérimentales récentes

Julien Guihaire^{a,b,*}, Pierre Emmanuel Noly^a,
Sonja Schrepfer^c, Olaf Mercier^a

^a Laboratory of Surgical Research, Marie-Lannelongue Hospital, Paris Sud University, 92350 Le Plessis Robinson, France

^b Thoracic and Cardiovascular Surgery, University Hospital of Rennes, 35033 Rennes, France

^c Transplant and Stem Cell Immunobiology Laboratory (TSI Lab), University of Hamburg, Hamburg, Germany

Received 8 April 2015; received in revised form 25 May 2015; accepted 26 May 2015
Available online 13 July 2015

KEYWORDS

Right ventricle;
Pulmonary
hypertension;
Pulmonary
circulation;

Summary The right ventricle (RV) has to face major changes in loading conditions due to cardiovascular diseases and pulmonary vascular disorders. Clinical experience supports evidence that the RV better compensates for volume than for pressure overload, and for chronic than for acute changes. For a long time, right ventricular (RV) pathophysiology has been restricted to patterns extrapolated from left heart studies. However, the two ventricles are anatomically, haemodynamically and functionally distinct. RV metabolic properties may also result in

Abbreviations: AT, angiotensin; Ea, arterial elastance; Ees, end-systolic elastance; IVA, acceleration of the myocardium during isovolumic contraction; LV, left ventricle/ventricular; MHC, myosin heavy chain; PA, pulmonary arterial; PH, pulmonary hypertension; PVR, pulmonary vascular resistance; RAAS, renin-angiotensin-aldosterone system; RV, right ventricle/ventricular; RVF, right ventricular failure; RVFAC, right ventricular fractional area change; RVMPI, right ventricular myocardial performance index; SVI, stroke volume index; TAPSE, tricuspid annular plane systolic excursion.

* Corresponding author at: Laboratory of Surgical Research, Marie-Lannelongue Hospital, Paris Sud University, 133, avenue de la Résistance, 92350 Le Plessis-Robinson, France.

E-mail address: julien.guihaire@chu-rennes.fr (J. Guihaire).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.acvd.2015.05.008>

1875-2136/© 2015 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

Ventricular-arterial coupling;
Experimental research

a different behaviour in response to pathological conditions compared with the left ventricle. In this review, current knowledge of RV pathophysiology is reported in the setting of chronic pressure overload, including recent experimental findings and emerging concepts. After a time-varying compensated period with preserved cardiac output despite overload conditions, RV failure finally occurs, leading to death. The underlying mechanisms involved in the transition from compensatory hypertrophy to maladaptive remodelling are not completely understood.

© 2015 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

MOTS CLÉS

Ventricule droit ;
Hypertension pulmonaire ;
Circulation pulmonaire ;
Couplage ventriculo-artériel ;
Recherche expérimentale

Résumé Le ventricule droit (VD) fait face à d'importantes variations de ses conditions de charge en réponse aux maladies cardiovasculaires et pathologies vasculaires pulmonaires. Le VD supporte mieux une surcharge de volume qu'une surcharge de pression, de même il s'adapte mieux aux variations progressives qu'aux changements aigus. La physiopathologie du VD a pendant longtemps été résumée à des extrapolations de la physiopathologie du ventricule gauche. Cependant les deux ventricules sont différents, tant sur le plan anatomique, hémodynamique que fonctionnel. Les caractéristiques métaboliques singulières du VD peuvent également être à l'origine d'une adaptation différente aux conditions pathologiques. Après une longue période compensatrice avec préservation du débit cardiaque, la dysfonction du VD s'installe finalement face à la surcharge chronique persistante. Les mécanismes impliqués dans la transition depuis l'hypertrophie compensatrice jusqu'au remodelage inadapté sont méconnus. Dans cette revue, les connaissances actuelles de la physiopathologie du VD dans l'hypertension pulmonaire chronique sont reportées à partir des résultats récents issus de la recherche expérimentale.

© 2015 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Background

Right heart failure is commonly related to left ventricular (LV) dysfunction. Ischaemic myocardial injury or, less frequently, arrhythmogenic dysplasia of the right ventricle (RV), congenital heart disease and chronic respiratory disease, including pulmonary vascular disorders, can also result in right ventricular failure (RVF). RVF is also a current problem in the post-operative course of heart transplantation and LV assist device implantation [1,2]. In pulmonary hypertension (PH), pulmonary vascular damage will inevitably affect the whole cardiopulmonary unit [3]. It has been appreciated over the last two decades that right ventricular (RV) dysfunction is the most important determinant of long-term outcomes in PH patients. Actually, prolonged survival is related more to RV function than to pulmonary haemodynamics per se. In studies addressing haemodynamic variables and survival in PH, high mean right atrial pressures and low cardiac output are consistently associated with poorer survival [4–6]. Despite major improvements in pharmacological management over the last 15 years, PH patients still die from RVF.

RV pathophysiology has been overlooked for many years. In the past, several experiments relegated the RV to a passive conduit, suggesting that the RV pump might be neglected. For example, Starr et al. showed that electrocautery ablation of the RV free wall in dogs was not associated with significant changes in haemodynamics, and that all animals survived [7]. For a long time, the Fontan procedure also supported the clinical evidence that RV absence

did not compromise overall heart function [8]. Physicians have recently shown clinical interest in the right heart, as RV function appears to be a prognostic factor in left heart failure, PH and other chronic respiratory disorders. Most of mechanisms involved in left heart diseases were first extrapolated to RV pathophysiology, despite the two ventricles differing in their embryology, geometry and physiology [9,10]. Recently, a new focus on RVF has emerged, which aims to improve both understanding and clinical management. In PH, there are different phenotypic abnormalities in the RV. Surprisingly, some patients share the same phenotype, whereas the RV is not exposed to the same degree of pressure overload [11]. Considering the central role of the RV in cardiopulmonary diseases, Mehra et al. suggested a comprehensive nomenclature of right heart failure, based on aetiology, anatomical injury, pathophysiology and functional status [12]. Experimentally, major efforts have been made to improve our understanding of RV remodelling. Several animal models of chronic RVF have thus been reported over the last decade to reproduce the main features of RV dysfunction [13].

The mechanisms of RVF as well as the clinically relevant variables for measuring RV function in PH are still being debated. In this paper, after a brief description of the normal RV, we first seek to overview the functional evaluation of RV contractility and reserve in the setting of chronic pressure overload. We then present current knowledge of RV remodelling related to PH. Based on experimental findings, the cellular mechanisms and molecular pathways involved in the transition from compensated RV hypertrophy to

dysfunction and failure are discussed. Finally, recent therapeutic approaches for the failing RV are considered. Isolated *ex vivo* studies of the RV will not be considered in this review.

The normal RV: embryology, morphology and physiology

The RV does not originate from the primary heart field, unlike the left ventricle (LV). Recent experiments have shown that the RV does not share the same origin as the LV, emphasizing the need for a specific comprehensive approach to each ventricle [14–17]. The RV actually originates from the secondary heart field, while the atrium and the LV develop from the primary heart field. Three separate chambers can be described in the RV: the sinus or inlet, which consists of the tricuspid valve, chordae tendineae and papillary muscles; the trabeculated apical myocardium; and the infundibulum or conus [10]. Compared with the LV, the RV has a crescent shape, with a higher capacity and a lower myocardial mass.

In utero the RV wall is thick because the pulmonary vascular resistance (PVR) is high. At birth, PVR decreases dramatically, leading to high compliance, resulting from progressive thinning of the RV free wall [10]. RV contraction can be understood as a three-step motion. The tricuspid annulus first moves toward the apex, then the apex moves toward the infundibulum. The radial contraction of the RV free wall towards the interventricular septum is the third and minor component of RV contractility; it results from marked shrinking of the deep muscle fibres. This myofibre layer is continuous between the LV and the RV; it represents one of the three anatomical elements of ventricular interdependence, along with the pericardium and the interventricular septum, explaining why the LV is involved in RV contraction (from 20% to 40% of RV contractile performance) [10].

The RV is exposed to frequent changes in venous return, influenced by respiratory variations, by the supine or orthostatic position of the body and by pathological disorders affecting filling conditions. The RV is highly distensible because of its larger shape and four times thinner free wall compared with the LV. The RV is therefore known to adapt much better to chronic volume overload than to pressure overload [18]. An increase in preload has been demonstrated to improve myocardial contraction in the left heart [19]. The Frank–Starling mechanism characterizes the increase in ventricular stroke work in response to wall stress enhancement. Because of a weak relationship between surface area and ventricular volume, the preload recruitable stroke work is moderate in the physiological RV. The Frank–Starling mechanism may only improve ventricular contraction in case of significant enlargement of the RV [18]. On the other hand, excessive volume loading may be detrimental to the RV, because of acute impairment of coronary flow within the RV free wall [20].

RV afterload is defined by pulmonary vascular load. The pulmonary vasculature is characterized by a low resistance and high compliance profile. PVR is usually linked to RV afterload in normal conditions because of easy assessment in clinical practice. However, PVR only accounts for the

resistive component of the pulmonary vascular load; as a result, PVR underestimates RV afterload by neglecting blood flow pulsatility and wave reflections through the pulmonary vasculature. Most pulmonary vascular diseases are known to disturb both components of the pulmonary vascular load. Pulmonary arterial impedance is probably the most complete measure of the pulmonary vascular load. Input impedance actually includes both static and dynamic components of RV afterload, and it may be a better predictor of long-term outcomes in PH than PVR alone [21]; its definition in the frequency domain is, however, restrictive for wide clinical use. Sunagawa et al. characterized the systemic arterial load in the time domain as effective arterial elastance (Ea) [22]. Ea is defined as the change in pressure for a change in volume, and can therefore be linked to the effective arterial load that the ventricle has to overcome during ejection. Pulmonary Ea can be determined using pressure-volume loops analysis or estimated as the ratio of stroke volume to end-systolic pressure.

Assessment of RV pump function: the importance of RV-PA coupling

As RV function is the main determinant of survival in several cardiopulmonary diseases, there is major interest in investigating the right heart. Echocardiography is the mainstay in the assessment of RV function. The main limitation is the load dependency of most of these noninvasive indices. The RV is optimally matched to pulmonary vascular load in the normal state. Afterload mismatch appears to be the most important prognostic factor for RV systolic dysfunction in pressure overload conditions [23]. Ventricular-arterial coupling is an important determinant of cardiac performance and energetics; it reflects maximal efficiency between hydraulic work production and myocardial oxygen consumption. RV-pulmonary arterial (RV-PA) coupling can be quantified in real time, using pressure-volume loops analysis, as the ratio of the RV end-systolic elastance (Ees) to the Ea (Fig. 1). Ees is defined as the slope of the end-systolic pressure-volume linear relationship obtained by changes in ventricular filling [24,25]. To be load-independent, this end-systolic relationship is studied during transient occlusion of the inferior vena cava, so that Ees is currently considered to be the most reliable measure of ventricular contractility.

Despite significant interspecies differences in basal pulmonary haemodynamics, Wauthy et al. showed that Ees/Ea changes similarly, secondary to RV pressure overload, in different animal species [26]. Furthermore, RV adaptation to changes in loading conditions is relatively preserved through mammalian spontaneous evolution [26]. Ranges of usual RV-PA coupling values among animal species are summarized in Table 1. Impairment of RV-PA coupling is reflected in an Ees/Ea ratio of < 1 in large animals, whereas the normal Ees/Ea ratio ranges from 0.5 to 0.8 in rodents. At the early stage of RV pressure overload, Ees is often increased to compensate for the elevated afterload [27,28]. However, RV-PA coupling may be decreased at that time, without RV dysfunction at rest. This is related more to an increase in Ea than to a significant decrease in Ees. When contractile performance becomes insufficient to overcome the elevated afterload,

Table 1 Right ventricular and pulmonary arterial elastances and ventricular-arterial coupling values among animal species in normal loading conditions.

Animals	Weight (kg)	Methods*	Ees (mmHg/mL)	Ea (mmHg/mL)	Ees/Ea
Rat [75]	0.20–0.25	Conductance	82 ± 53	150 ± 60	0.53 ± 0.2
Mouse [76]	0.02–0.04	Admittance	1.8 ± 0.5	2.7 ± 1.2	0.71 ± 0.27
Dog [77]	25	Single-beat	1.11 ± 0.07	1.0 ± 0.06	1.13 ± 0.08
Goat [26]	24	Single-beat	2.0 ± 0.4	1.3 ± 0.1	1.7 ± 0.3
Piglet [78]	5.7–6.1	Single-beat	1.45 ± 0.08	0.91 ± 0.07	1.62 ± 0.09
Pig [79]	20–25	Single-beat	1.4 ± 0.2	0.9 ± 0.1	1.4 ± 0.4

Ea: pulmonary arterial elastance; Ees: right ventricular end-systolic elastance.

* Methods of recording pressure-volume loops were specified as conductance or admittance catheterization, or as single-beat elastance.

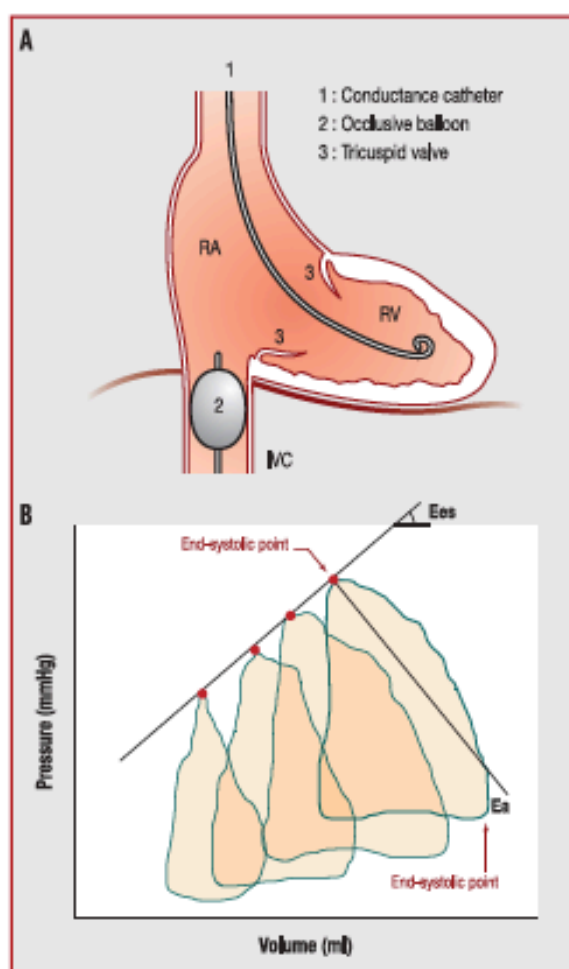


Figure 1. Pressure-volume loops in the right ventricle. A. Schematic conductance catheterization of the right ventricle (RV). B. Example of pressure-volume loops in the normal RV; transient occlusion of the inferior vena cava reduces right ventricular preload, leading to progressive decrease of right ventricular stroke volume. Ea: arterial elastance; Ees: end-systolic elastance; RA: right atrium.

RV stroke volume and RV ejection fraction decrease. RV dilatation and adverse remodelling then occur, leading to RVF [27,29].

The concept of ventricular-arterial coupling is not commonly used in clinical practice, mainly because it requires invasive and time-consuming measurement. Considerable efforts have been made to estimate the contractile performance of the RV from measurement of RV pressure and volume. Single-beat elastance is a promising method validated recently in clinical practice for the assessment of RV elastance without dramatic changes in loading conditions, using cardiac magnetic resonance imaging for volume assessment [30–32]. Several echocardiography indices of RV function have been further reported to characterize the systole, such as tricuspid annular plane systolic excursion (TAPSE), RV fractional area change (RVFAC), RV myocardial performance index (RVMPI), stroke volume index (SVI) and, more recently, acceleration of the myocardium during isovolumic contraction (IA) [33–36]. Of all these indices, Vogel et al. showed that IA may be the most relevant for RV contractility [33–36]. There were two main limitations to this study. First, IVA (as well as TAPSE, RVFAC and RVMPI) is strongly load dependent, and thus may not accurately reflect RV pump function. Second, this study validated IVA as a contractility index for the RV in a 'healthy' animal model, not in the setting of chronic RV remodelling caused by either pressure or volume overload. We recently showed in a piglet model of chronic pressure overload for the RV, that usual noninvasive measures of RV systolic function were more strongly associated with RV-PA coupling than with contractility (Ees). Despite a marked improvement in Ees, RV systolic dysfunction was observed, with a marked decrease in TAPSE, RVFAC or RVMPI. This is in accordance with our hypothesis that commonly used indices of RV function do not appear to be specific for RV contractility, but rather reflect the interaction between RV pump function and pulmonary vascular load [28]. However, the best way to assess contractile performance for the overloaded RV is still a matter of debate.

Clinical series in PH have highlighted that changes in RV function – rather than changes in pulmonary pressure or PVR – affect long-term survival dramatically [37]. Impairment of RV contractility in both longitudinal and transverse planes is often observed at an advanced stage in the overloaded RV. This functional assessment is routinely performed at rest, whereas exercise capacity is a strong predictor

of long-term outcome in cardiopulmonary diseases. RV contractile reserve has been poorly reported. Grunig et al. recently suggested that exercise-induced pulmonary artery systolic pressure increase could estimate RV contractile reserve, and may be a prognostic factor in PH [38]. Pharmacological stress using dobutamine infusion is better adapted to heart failure patients than exercise testing, especially for echocardiography Doppler measurements during stress. Sharma et al. recently studied RV reserve using low-dose dobutamine stress echocardiography in PH patients [39]. Contractile reserve for the RV was quantified as any significant changes in TAPSE and tricuspid annular systolic velocity (S'). The protocol was well tolerated in PH patients. This study showed that RV reserve was impaired in PH patients, even in those who displayed normal RV function at rest. Dobutamine stress may reveal early RV dysfunction in the setting of chronic pressure overload. These findings are in accordance with our experimental results. We recently reported that dobutamine-induced relative changes in RV stroke volume index (SVI) and Ees were lower in piglets exposed to chronic pressure overload. RV reserve, defined as any change in SVI during pharmacological stress, was strongly associated with resting ventricular-arterial coupling in this study [40]. It could be a promising predictive measure for estimating RV response to therapy, as well as a prognostic marker, as long-term survival is strongly associated with the ability of the RV to durably face the elevated afterload.

Molecular and cellular correlates of RV remodelling in chronic pressure overload

Examination of animal models provides insight into RV progressive remodelling, from compensated hypertrophy to maladaptive enlargement and failure. Most pathways have been observed previously in LV failure. A better understanding of RVF pathophysiology, especially during the transition from adaptive hypertrophy to the decompensated state, is needed to find new therapeutic targets. Cellular and molecular changes suggested to determine RV maladaptive remodelling are summarized in Table 2.

Local and systemic activities of the renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS) are involved in RV structural and functional changes. Even if neurohormonal modulation is beneficial at the early stage, persistent adrenergic overstimulation and upregulation of the RAAS are associated with disease progression and mortality in PH patients [41]. Angiotensin II (AT II) significantly impacts on myocardial remodelling. Rouleau et al. observed that RV chronic pressure overload resulted in AT II receptors uncoupling in a compensated RV hypertrophy rabbit model. This impairment of the RAAS signalling pathway led to adverse contractility performance, but could be efficiently reversed after administration of the angiotensin-converting enzyme inhibitor ramipril [42]. Systemic and myocardial elevated rates of AT II may induce cardiomyocyte hypertrophy and contractile dysfunction. Fibrosis secondary to inhibition of collagen degradation and, to a lesser extent, extracellular matrix inflammation have also been related to an increased level of AT II [43]. These adverse effects are supported by the cardioprotective action of RAAS blockage. Angiotensin-converting

Table 2 Cellular and molecular changes involved in right ventricular maladaptive remodelling.

Cardiac myocyte	↑ Length and cross-sectional area ↑ Apoptosis ↑ Necrosis
Extracellular matrix	↑ Collagen synthesis; ↓ collagen degradation ↓ Capillary density ↑ Rate of mast cells; ↑ rate of TNF- α
Contractility	↓ α -MHC; ↑ β -MHC; ↑ α -SMA ↓ SERCA-2
Mitochondrial metabolism	Glycolytic shift
Oxidative stress	Failure in antioxidative defence
Neurohormonal modulation	↓ β -adrenergic receptor density ↑ AT II receptor type 1 density Impairment of AT II receptor type 1 signalling pathway

AT: angiotensin; MHC: myosin heavy chain; SERCA-2: sarcoplasmic endoplasmic reticular calcium adenosine triphosphatase 2; SMA: smooth muscle actin; TNF: tumour necrosis factor.

enzyme inhibitors and AT II type 1 receptor blockers have been demonstrated to decrease RV expression of collagen type I and type III in rodents [44,45].

Transition from RV compensated state to RVF results not only from cardiomyocyte dysfunction, but also from adverse remodelling of the extracellular matrix. Under persistent overload conditions, extracellular matrix changes may lead to RV dysfunction. Increasing rates of myocardial fibrosis have been reported in RVF models, as previously demonstrated in PH patients, whereas only a minimal degree of fibrosis is observed in compensated RV hypertrophy [43,46]. Increased collagen synthesis occurs early in the setting of RV wall stress enhancement. This upregulation at both transcriptional and post-transcriptional levels increases dramatically during the first week of pressure overload conditions, and decreases thereafter. However, the collagen production rate still remains higher than in the normal RV because of a decreased degradation process [47]. In monocrotaline rats, Lamberts et al. suggested that increased collagen content in the myocardium may be the most important structural change before RV dysfunction in the setting of chronic pressure overload [48].

Recent animal and human studies support the growing evidence that inflammation plays a key role in heart failure pathophysiology. An increased rate of production of tumour necrosis factor alpha can impair systolic function in left heart failure [49]. If neutrophils are found in the RV myocardium early after acute increase in afterload, macrophages may be involved in progressive remodelling secondary to chronic PH [50]. We recently showed in a rat model of RV dysfunction that macrophage infiltration of the myocardium was strongly associated with systolic dysfunction characterized by significant decreases in TAPSE and RVFAC [51]. The precise role of macrophages in the pathophysiology of right heart failure needs to be further investigated.

Reversion to foetal phenotype occurs during RV hypertrophy in response to chronic pressure overload. Thompson et al. found foetal gene re-expression within the RV myocardium in response to pulmonary artery banding in cats. Upregulation of Nkx2-5 transcription factor was observed, which is usually only expressed in the growing heart. However, the precise function of this transcription factor is unknown [52]. A decrease in α -myosin heavy chain (MHC) gene expression and protein synthesis results in a compensatory increase in β -MHC [46]. This adaptive phenotype provides a lower energetic cost profile to the failing myocardium, as α -MHC is usually involved in stronger and faster contractions, whereas β -MHC accounts for lower contractile potential. We reported in our piglet model of chronic PH that ventricular-arterial uncoupling was strongly associated with upregulation of β -MHC expression. We suggested that dynamic changes in myosin expression over time may determine RV work efficiency [53]. Foetal β -MHC expression may be associated with a metabolic shift from fatty acid to glucose oxidation [54]. As described in solid tumours, suppression of the mitochondrial oxidative function has been shown in the RV myocardium exposed to chronic pressure overload [55]. If mitochondrial structural changes are observed in RV remodelling (defects, different shape and size), they have not been well correlated with the severity of RV dysfunction [43]. Hibernation mitochondrial metabolism seems, however, to be involved in the transition from compensated RV hypertrophy to maladaptive remodelling. The glycolytic phenotype resulting in RV dysfunction is associated with impaired mitochondrial electrical potential, as illustrated by an increased uptake of F-18 fluorodeoxyglucose on positron emission tomography imaging [56]. This maladaptive metabolism can be reversed by a pyruvate dehydrogenase kinase inhibitor, dichloroacetate, leading to an increase in pyruvate concentration in the mitochondria [56].

RV ischaemia is, furthermore, known to play a key role in the haemodynamic collapse related to acute severe pressure overload. Ischaemia has been reported to induce RV dysfunction in experimental acute PH because of compression of coronary vessels, resulting from elevated myocardial stretch. A loss of coronary vasodilatation reserve could also exacerbate RV contractility decline in these conditions [57]. Whether ischaemia is involved in the transition from compensated RV hypertrophy to maladaptive remodelling and failure is still a matter of debate in the overloaded RV. At an early stage, RV pressure overload may result in significant changes in coronary perfusion because of increased wall stress, especially during systole [58,59]. RV ischaemia has been investigated in PH patients without coronary artery stenosis. Significant perfusion defects were found in a small group of primary PH patients using myocardial technetium-99m scintigraphy, but they were not correlated with RV dysfunction severity [60]. Many authors think that myocardial ischaemia could be involved in the development of RVF. Recent experimental studies demonstrated that RV capillary rarefaction, with decreased expression of vascular endothelial growth factor, could be observed after prolonged elevated wall stress in different models of RV chronic dysfunction [61–63]. The findings of Bogaard et al. also support the evidence that RV chronic pressure overload is not sufficient per se to induce RVF. Oxidative stress within the

RV myocardium may be significantly increased in pulmonary vascular disease. The authors suggested that a failing antioxidant defence, influenced by unknown mediators released by the damaged pulmonary vasculature, could lead to RV dysfunction [64].

RV response to therapy

Current drugs and emerging therapies are listed in Table 3. In PH, three main categories of medication are commonly used: prostanoids, endothelin receptor antagonists and phosphodiesterase type 5 inhibitors. A recent meta-analysis based on pharmacological randomized controlled trials suggested an improvement in both exercise capacity and survival in PH patients receiving targeted therapies [65]. Improvement of RV function is poorly reported as a primary endpoint in these trials, whereas RVF remains the main cause of hospitalization and mortality in patients with chronic cardiopulmonary disease. Currently, there is no dedicated medical cure for RVF. The therapies applied to the LV are usually less beneficial for the dysfunctional RV. Moreover, the beneficial effects of approved PH drugs on RV function are mainly related to decreased afterload. Direct effects on the RV are controversial and might be deleterious. Nagendran et al. showed that myocardial expression of the endothelin axis was upregulated in the setting of RV hypertrophy, in both humans and rats exposed to chronic PH. These results suggested that endothelin receptor antagonists may worsen RV contractility, leading to irreversible RV dysfunction [66]. Long-term effects of prostacyclins and type 5 phosphodiesterase inhibitors on RV remodelling are not known.

RV contractility usually compensates for the increased afterload, and RV-PA uncoupling occurs when RV afterload increases much more than RV contractility. However, the prostanoid epoprostenol has been associated with increased mortality at 6 months, despite early improvement in exercise capacity [67]. The increase in cardiac output after PH therapy is mainly due to the increase in RV contractility. This may actually result in high myocardial oxygen consumption and may therefore be detrimental [68]. van de Veerdonk et al. reported a poor prognosis for PH patients with impaired RV systolic function despite significant pulmonary vascular response to therapy [69]. The true effects of current medications on ventricular-arterial coupling have been poorly investigated. It would be of great interest if emerging therapies improved RV-PA coupling rather than focussing only on RV contractility. The optimal characteristics of a targeted therapy for RV dysfunction are suggested in Table 4.

Adrenergic stimulation is the main endogenous mechanism for increasing cardiac work in the setting of chronic heart failure. Beta-receptor sensitivity and density are, however, reduced in the hypertrophied RV [70]. Ventricular chronic pressure overload is actually known to be the primary determinant of β -adrenoreceptor density [71,72]. The recent findings of Bogaard et al. supported experimental benefits for RV remodelling in response to treatment with β -adrenergic blocking agents, such as carvedilol and metoprolol. In two different rat models of chronic pulmonary hypertension, 4 weeks of treatment with beta-receptor

Table 3 Direct and afterload-dependent effects of pharmacological treatments in right ventricular remodelling: insights from preclinical animal models.

Drug	Afterload-independent effects	Afterload-dependent effects
PH-targeted therapies		
Phosphodiesterase-5 inhibitors [80–83]	↑ Mitochondrial activity ↓ Ventricular dilatation ↑ Contractility	↓ Myocardial fibrosis ↑ Capillary density ↑ Ventricular-arterial coupling
Prostacyclin analogues [84,85]	↑ Capillary density	↓ Myocardial fibrosis ↑ Ventricular-arterial coupling
Endothelin-1 receptor antagonists [66,86]	↓ Contractility	↓ Myocardial fibrosis
Drugs used for left ventricular dysfunction		
Levosimendan [77]	↑ Contractility	↑ Ventricular-arterial coupling (marked decreased in pulmonary arterial elastance)
Beta-blockers [61]	↓ Myocardial fibrosis ↑ Capillary density ↑ Systolic function ↓ Ventricular dilatation	Any effect on pulmonary circulation
Angiotensin-converting enzyme inhibitors [44]	↓ Myocardial fibrosis	↓ Myocardial hypertrophy
Statins [87]	↓ ROS production ↓ Myocardial inflammation ↑ Nitric oxide production	Unknown
Blockers of the renin-angiotensin-aldosterone axis [41]	↓ Myocardial fibrosis	Unknown
Emerging therapies		
Pyruvate dehydrogenase kinase inhibitor (dichloroacetate) [56]	↑ Mitochondrial oxidative activity	↑ Exercise capacity
Antioxidant (EUK-134) [88]	↓ Oxidative stress ↓ Proapoptotic signalling ↓ Myocardial fibrosis ↑ Systolic function	Any effect on pulmonary circulation
Multikinase inhibitors (sunitinib and sorafenib) [73]	↓ Cellular hypertrophy ↓ Myocardial fibrosis ↑ Systolic function	↓ Cellular hypertrophy ↓ Myocardial fibrosis ↑ Systolic function
Rho-kinase inhibitor (fasudil) [89]	Unknown	↓ Ventricular dilatation ↑ Systolic function
Inhibitors of histone deacetylases [90]	↓ Cellular hypertrophy ↓ Capillary density	↓ Endothelial and smooth muscle cell hyperplasia
Selective pulmonary SERCA-2a gene transfer [74]	Unknown	↓ Cellular hypertrophy ↓ Myocardial fibrosis

PH: pulmonary hypertension; ROS: reactive oxygen species; SERCA-2a: sarcoplasmic endoplasmic reticular calcium adenosine triphosphatase 2a.

Table 4 Characteristics of the optimal drug to treat the failing right ventricle.

Promotion of cardiomyocyte survival
Improvement in myocardial capillary density
Restoration of mitochondrial activity
Preservation of ventricular-arterial coupling without increasing myocardial oxygen consumption
Optimization of right ventricular preload and decreasing of right ventricular afterload
Prevention of myocardial fibrosis
Control of inflammatory response

blockers was associated with improvement in exercise endurance and RV systolic performance [61].

Among the new therapeutic approaches, metabolic modulation might be the most promising for restoration of impaired mitochondrial activity in chronic RV dysfunction, including the use of dichloroacetate. This orphan drug, initially employed in cancer therapy, reduces the inhibitory phosphorylation of the pyruvate dehydrogenase complex, and thus restores mitochondrial dysfunction [56]. The use of multikinase inhibitors in RV remodelling has been applied only in experimental models of compensated RV hypertrophy, and not yet in RVF [73]. Gene transfer of sarcoplasmic endoplasmic reticular calcium adenosine triphosphatase 2a (SERCA-2a) has recently been demonstrated to have *in vivo* therapeutic efficacy in a rodent model of chronic PH, as illustrated by a marked decrease in pulmonary haemodynamics and myocardial hypertrophy and fibrosis [74]. Other non-pharmacological approaches have been suggested to target the failing RV, including myocardial bioengineering, cardiac resynchronization and RV mechanical support. Further experimental investigations need to be carried out in the setting of isolated RV dysfunction.

Conclusion

Given the importance of RV function in the prognosis of chronic cardiopulmonary diseases, major experimental efforts have been made over the last two decades to improve our knowledge of RV pathophysiology. A comprehensive approach in animal models has led to new pharmacological treatments, but basic research has yet to develop a targeted therapy for the failing RV. Moreover, the question of protective phenotypes with long-term compensated hypertrophy needs to be addressed.

Disclosure of interest

The authors declare that they have no conflicts of interest concerning this article.

Sources of funding: J.G. received a travel grant from the Fédération Française de Cardiologie in 2012 for a 1-year research fellowship in the Transplant and Stem Cell Immunobiology Laboratory, Hamburg, Germany (Professor Sonja Schrepfer).

References

- [1] Klotz S, Naka Y, Oz MC, Burkhoff D. Biventricular assist device-induced right ventricular reverse structural and functional remodeling. *J Heart Lung Transplant* 2005;24:1195–201.
- [2] Klotz S, Wenzelburger F, Stypmann J, Welp H, Drees G, Schmid C, et al. Reversible pulmonary hypertension in heart transplant candidates: to transplant or not to transplant. *Ann Thorac Surg* 2006;82:1770–3.
- [3] Humbert M. Pulmonary arterial hypertension and chronic thromboembolic pulmonary hypertension: pathophysiology. *Eur Respir Rev* 2010;19:59–63.
- [4] Benza RL, Miller DP, Gomberg-Maitland M, Frantz RP, Foreman AJ, Coffey CS, et al. Predicting survival in pulmonary arterial hypertension: insights from the Registry to Evaluate Early and Long-Term Pulmonary Arterial Hypertension Disease Management (REVEAL). *Circulation* 2010;122:164–72.
- [5] Hoepfer MM, Mayer E, Simonneau G, Rubin LJ. Chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Circulation* 2006;113:2011–20.
- [6] Humbert M, Sitbon O, Chaouat A, Bertocchi M, Habib G, Gressin V, et al. Survival in patients with idiopathic, familial, and anorexia-associated pulmonary arterial hypertension in the modern management era. *Circulation* 2010;122:156–63.
- [7] Starr JW, Meade RH. The absence of conspicuous increments of venous pressure after severe damage to the RV of the dog, with the discussion with the relation between clinical congestive heart failure and heart disease. *Am Heart J* 1943;26:291–301.
- [8] Fontan F, Baudet E. Surgical repair of tricuspid atresia. *Thorax* 1971;26:240–8.
- [9] Buckingham M, Meilhac S, Zaffran S. Building the mammalian heart from two sources of myocardial cells. *Nat Rev Genet* 2005;6:826–35.
- [10] Haddad F, Hunt SA, Rosenthal DN, Murphy DJ. Right ventricular function in cardiovascular disease, part I: anatomy, physiology, aging, and functional assessment of the right ventricle. *Circulation* 2008;117:1436–48.
- [11] Simon MA, Deible C, Mathier MA, Lacomis J, Goitein O, Shroff SG, et al. Phenotyping the right ventricle in patients with pulmonary hypertension. *Clin Transl Sci* 2009;2:294–9.
- [12] Mehra MR, Park MH, Landzberg MJ, Lala A, Waxman AB. Right heart failure: toward a common language. *J Heart Lung Transplant* 2014;33:123–6.
- [13] Guihare J, Bogaard HJ, Flecher E, Noly PE, Mercier O, Haddad F, et al. Experimental models of right heart failure: a window for translational research in pulmonary hypertension. *Semin Respir Crit Care Med* 2013;34:689–99.
- [14] Kelly RG. Building the right ventricle. *Circ Res* 2007;100:943–5.
- [15] Kelly RG, Brown NA, Buckingham ME. The arterial pole of the mouse heart forms from Fgf10-expressing cells in pharyngeal mesoderm. *Dev Cell* 2001;1:435–40.
- [16] Mjaatvedt CH, Nakaoka T, Moreno-Rodriguez R, Norris RA, Kern MJ, Eisenberg CA, et al. The outflow tract of the heart is recruited from a novel heart-forming field. *Dev Biol* 2001;238:97–109.
- [17] Viragh S, Challice CE. Origin and differentiation of cardiac muscle cells in the mouse. *J Ultrastruct Res* 1973;42:1–24.
- [18] Greyson CR. Pathophysiology of right ventricular failure. *Crit Care Med* 2008;36:557–65.
- [19] Bishop VS, Horwitz LD. Quantitative assessment of cardiac pump performance. *J Physiol* 1977;269:355–70.
- [20] Dyke CM, Brunsting LA, Salter DR, Murphy CE, Abd-Elfattah A, Wechsler AS. Preload dependence of right ventricular blood flow: I. The normal right ventricle. *Ann Thorac Surg* 1987;43:478–83.
- [21] Hunter KS, Lee P-F, Lanning CJ, Ivy DD, Kirby KS, Claussen LR, et al. Pulmonary vascular input impedance is a combined measure of pulmonary vascular resistance and stiffness and predicts clinical outcomes better than pulmonary vascular resistance alone in pediatric patients with pulmonary hypertension. *Am Heart J* 2008;155:166–74.
- [22] Sunagawa K, Maughan WL, Sagawa K. Optimal arterial resistance for the maximal stroke work studied in isolated canine left ventricle. *Circ Res* 1985;56:586–95.
- [23] Ghio S, Gavazzi A, Campana C, Inerra C, Klersy C, Sebastiani R, et al. Independent and additive prognostic value of right ventricular systolic function and pulmonary artery

- pressure in patients with chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2001;37:183–8.
- [24] Sagawa K. The end-systolic pressure-volume relation of the ventricle: definition, modifications and clinical use. *Circulation* 1981;63:1223–7.
- [25] Sunagawa K, Sagawa K. Models of ventricular contraction based on time-varying elastance. *Crit Rev Biomed Eng* 1982;7:193–228.
- [26] Wauthy P, Pagnamenta A, Vassalli F, Naeije R, Brimiouille S. Right ventricular adaptation to pulmonary hypertension: an interspecies comparison. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004;286:H1441–47.
- [27] Agüero J, Ishikawa K, Hadri L, Santos-Gallego C, Fish K, Hammoudi N, et al. Characterization of right ventricular remodeling and failure in a chronic pulmonary hypertension model. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2014;307:H1204–15.
- [28] Guihaire J, Haddad F, Boulate D, Decante B, Denault AY, Wu J, et al. Noninvasive indices of right ventricular function are markers of ventricular-arterial coupling rather than ventricular contractility: insights from a porcine model of chronic pressure overload. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging* 2013;14:1140–9.
- [29] Guyton AC, Lindsey AW, Gilluly JJ. The limits of right ventricular compensation following acute increase in pulmonary circulatory resistance. *Circ Res* 1954;2:326–32.
- [30] Brimiouille S, Wauthy P, Ewalenko P, Rondelet B, Vermeulen F, Kerbaul F, et al. Single-beat estimation of right ventricular end-systolic pressure-volume relationship. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003;284:H1625–30.
- [31] Kuehne T, Saeed M, Gleason K, Turner D, Teitel D, Higgins CB, et al. Effects of pulmonary insufficiency on biventricular function in the developing heart of growing swine. *Circulation* 2003;108:2007–13.
- [32] Trip P, Kind T, van de Veerdonk MC, Marcus JT, de Man FS, Westerhof N, et al. Accurate assessment of load-independent right ventricular systolic function in patients with pulmonary hypertension. *J Heart Lung Transplant* 2013;32:50–5.
- [33] Cheung MM, Smallhorn JF, Redington AN, Vogel M. The effects of changes in loading conditions and modulation of inotropic state on the myocardial performance index: comparison with conductance catheter measurements. *Eur Heart J* 2004;25:2238–42.
- [34] Mauritz GJ, Kind T, Marcus JT, Bogaard HJ, van de Veerdonk M, Postmus PE, et al. Progressive changes in right ventricular geometric shortening and long-term survival in pulmonary arterial hypertension. *Chest* 2012;141:935–43.
- [35] Vogel M, Schmidt MR, Kristiansen SB, Cheung M, White PA, Sorensen K, et al. Validation of myocardial acceleration during isovolumic contraction as a novel noninvasive index of right ventricular contractility: comparison with ventricular pressure-volume relations in an animal model. *Circulation* 2002;105:1693–9.
- [36] Yeo TC, Dujardin KS, Tei C, Mahoney DW, McGoon MD, Seward JB. Value of a Doppler-derived index combining systolic and diastolic time intervals in predicting outcome in primary pulmonary hypertension. *Am J Cardiol* 1998;81:1157–61.
- [37] Vonk-Noordegraaf A, Haddad F, Chin KM, Forfia PR, Kawut SM, Lumens J, et al. Right heart adaptation to pulmonary arterial hypertension: physiology and pathobiology. *J Am Coll Cardiol* 2013;62:D22–33.
- [38] Grunig E, Tiede H, Enyimayew EO, Ehlik N, Seyfarth HJ, Bossone E, et al. Assessment and prognostic relevance of right ventricular contractile reserve in patients with severe pulmonary hypertension. *Circulation* 2013;128:2005–15.
- [39] Sharma T, Lau EM, Choudhary P, Torzillo PJ, Munoz PA, Simmons LR, et al. Dobutamine stress for evaluation of right ventricular reserve in pulmonary arterial hypertension. *Eur Respir J* 2015;45:700–8.
- [40] Guihaire J, Haddad F, Noly PE, Boulate D, Decante B, Dartevielle P, et al. Right ventricular reserve in a piglet model of chronic pulmonary hypertension. *Eur Respir J* 2015;45:709–17.
- [41] de Man FS, Tu L, Handoko ML, Rain S, Ruiter G, Francois C, et al. Dysregulated Renin-Angiotensin-aldosterone system contributes to pulmonary arterial hypertension. *Am J Respir Crit Care Med* 2012;186:780–9.
- [42] Rouleau JL, Kapuku G, Pelletier S, Gosselin H, Adam A, Gagnon C, et al. Cardioprotective effects of ramipril and losartan in right ventricular pressure overload in the rabbit: importance of kinins and influence on angiotensin II type 1 receptor signaling pathway. *Circulation* 2001;104:939–44.
- [43] Bogaard HJ, Abe K, Vonk-Noordegraaf A, Voelkel NF. The right ventricle under pressure: cellular and molecular mechanisms of right heart failure in pulmonary hypertension. *Chest* 2009;135:794–804.
- [44] Ahn BH, Park HK, Cho HG, Lee HA, Lee YM, Yang EK, et al. Estrogen and enalapril attenuate the development of right ventricular hypertrophy induced by monocrotaline in ovariectomized rats. *J Korean Med Sci* 2003;18:641–8.
- [45] Yoshiyama M, Takeuchi K, Hanatani A, Shimada T, Takemoto Y, Shimizu N, et al. Effect of cilazapril on ventricular remodeling assessed by Doppler-echocardiographic assessment and cardiac gene expression. *Cardiovasc Drugs Ther* 1998;12:57–70.
- [46] Lowes BD, Minobe W, Abraham WT, Rizeq MN, Bohlmeier TJ, Quaipe RA, et al. Changes in gene expression in the intact human heart. Downregulation of alpha-myosin heavy chain in hypertrophied, failing ventricular myocardium. *J Clin Invest* 1997;100:2315–24.
- [47] Bishop JE, Rhodes S, Laurent GJ, Low RB, Stirewalt WS. Increased collagen synthesis and decreased collagen degradation in right ventricular hypertrophy induced by pressure overload. *Cardiovasc Res* 1994;28:1581–5.
- [48] Lamberts RR, Caldenhoven E, Lansink M, Witte G, Vaessen RJ, St Cyr JA, et al. Preservation of diastolic function in monocrotaline-induced right ventricular hypertrophy in rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007;293:H1869–76.
- [49] Wrigley BJ, Lip GY, Shantsila E. The role of monocytes and inflammation in the pathophysiology of heart failure. *Eur J Heart Fail* 2011;13:1161–71.
- [50] Watts JA, Gellar MA, Obratzova M, Kline JA, Zagorski J. Role of inflammation in right ventricular damage and repair following experimental pulmonary embolism in rats. *Int J Exp Pathol* 2008;89:389–99.
- [51] Guihaire J, Deuse T, Fadel E, Reichenspumer H, Robbins RC, Schrepfer S. Macrophages infiltration is associated with maladaptive remodeling of the right ventricle in an experimental model of pulmonary hypertension. *J Heart Lung Transpl* 2014;33:S228.
- [52] Thompson JT, Rackley MS, O'Brien TX. Upregulation of the cardiac homeobox gene *Nkx2-5* (CSX) in feline right ventricular pressure overload. *Am J Physiol* 1998;274:H1569–73.
- [53] Guihaire J, Haddad F, Boulate D, Capderou A, Decante B, Flecher E, et al. Right ventricular plasticity in a porcine model of chronic pressure overload. *J Heart Lung Transplant* 2014;33:194–202.
- [54] Watts JA, Marchick MR, Kline JA. Right ventricular heart failure from pulmonary embolism: key distinctions from chronic pulmonary hypertension. *J Cardiac Fail* 2010;16:250–9.
- [55] Michelakis ED, Webster L, Mackey JR. Dichloroacetate (DCA) as a potential metabolic-targeting therapy for cancer. *Br J Cancer* 2008;99:989–94.
- [56] Piao L, Fang YH, Cadete VJ, Wietholt C, Urboniene D, Toth PT, et al. The inhibition of pyruvate dehydrogenase kinase

- improves impaired cardiac function and electrical remodeling in two models of right ventricular hypertrophy: resuscitating the hibernating right ventricle. *J Mol Med* 2010;88:47–60.
- [57] Vlahakes GJ, Turley K, Hoffman JI. The pathophysiology of failure in acute right ventricular hypertension: hemodynamic and biochemical correlations. *Circulation* 1981;63:87–95.
- [58] Morimont P, Lambermont B, Ghuyens A, Gerard P, Kolh P, Lancellotti P, et al. Effective arterial elastance as an index of pulmonary vascular load. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2008;294:H2736–42.
- [59] Saouti N, Westerhof N, Postmus PE, Vonk-Noordegraaf A. The arterial load in pulmonary hypertension. *Eur Respir Rev* 2010;19:197–203.
- [60] Gomez A, Bialostozky D, Zajarias A, Santos E, Palomar A, Martinez ML, et al. Right ventricular ischemia in patients with primary pulmonary hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2001;38:1137–42.
- [61] Bogaard HJ, Natarajan R, Mizuno S, Abbate A, Chang PJ, Chau VQ, et al. Adrenergic receptor blockade reverses right heart remodeling and dysfunction in pulmonary hypertensive rats. *Am J Respir Crit Care Med* 2010;182:652–60.
- [62] Noly PE, Haddad F, Mercier O, Dorfmueller P, Decante B, Dartevielle P, et al. Role of angiogenesis in the right ventricle remodeling in response to pulmonary hypertension. *J Heart Lung Transpl* 2013;32:578.
- [63] Rondelet B, Dewachter C, Kerbaul F, Kang X, Fessler P, Brimiouille S, et al. Prolonged overcirculation-induced pulmonary arterial hypertension as a cause of right ventricular failure. *Eur Heart J* 2012;33:1017–26.
- [64] Bogaard HJ, Natarajan R, Henderson SC, Long CS, Kraskauskas D, Smithson L, et al. Chronic pulmonary artery pressure elevation is insufficient to explain right heart failure. *Circulation* 2009;120:1951–60.
- [65] Galie N, Rubin L, Simonneau G. Developing a heart score: next steps. *Am J Cardiol* 2012;110:495–515.
- [66] Nagendran J, Sutendra G, Paterson I, Champion HC, Webster L, Chiu B, et al. Endothelin axis is upregulated in human and rat right ventricular hypertrophy. *Circ Res* 2013;112:347–54.
- [67] Califf RM, Adams KF, McKenna WJ, Gheorghiade M, Uretsky BF, McNulty SE, et al. A randomized controlled trial of epoprostenol therapy for severe congestive heart failure: the Flolan International Randomized Survival Trial (FIRST). *Am Heart J* 1997;134:44–54.
- [68] Gomez-Arroyo J, Sandoval J, Simon MA, Dominguez-Cano E, Voetkel NF, Bogaard HJ. Treatment for pulmonary arterial hypertension-associated right ventricular dysfunction. *Ann Am Thorac Soc* 2014;11:1101–15.
- [69] van de Veerdonk MC, Kind T, Marcus JT, Mauritz GJ, Heymans MW, Bogaard HJ, et al. Progressive right ventricular dysfunction in patients with pulmonary arterial hypertension responding to therapy. *J Am Coll Cardiol* 2011;58:2511–9.
- [70] Pela G, Missale C, Raddino R, Condorelli E, Spano PF, Visioli O. Beta 1- and beta 2-receptors are differentially desensitized in an experimental model of heart failure. *J Cardiovasc Pharmacol* 1990;16:839–46.
- [71] Bristow MR, Minobe W, Rasmussen R, Larrabee P, Skerf L, Klein JW, et al. Beta-adrenergic neuroeffector abnormalities in the failing human heart are produced by local rather than systemic mechanisms. *J Clin Invest* 1992;89:803–15.
- [72] Bristow MR, Minobe WA, Reynolds MW, Port JD, Rasmussen R, Ray PE, et al. Reduced beta 1 receptor messenger RNA abundance in the failing human heart. *J Clin Invest* 1993;92:2737–45.
- [73] Kojonazarov B, Sydykov A, Pullamsetti SS, Luitel H, Dahal BK, Kosanovic D, et al. Effects of multikinase inhibitors on pressure overload-induced right ventricular remodeling. *Int J Cardiol* 2013;167:2630–7.
- [74] Hadri L, Kratiian RG, Benard L, Maron BA, Dorfmueller P, Ladage D, et al. Therapeutic efficacy of AAV1.SERCA2a in monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension. *Circulation* 2013;128:512–23.
- [75] Hessel MH, Steendijk P, den Adel B, Schutte CI, van der Laarse A. Characterization of right ventricular function after monocrotaline-induced pulmonary hypertension in the intact rat. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006;291:H2424–30.
- [76] Tabima DM, Hacker TA, Chesler NC. Measuring right ventricular function in the normal and hypertensive mouse hearts using admittance-derived pressure-volume loops. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2010;299:H2069–75.
- [77] Kerbaul F, Gariboldi V, Giorgi R, Mekkaoui C, Guiéu R, Fessler P, et al. Effects of levosimendan on acute pulmonary embolism-induced right ventricular failure. *Crit Care Med* 2007;35:1948–54.
- [78] Rondelet B, Kerbaul F, Motte S, van Beneden R, Remelink M, Brimiouille S, et al. Bosentan for the prevention of overcirculation-induced experimental pulmonary arterial hypertension. *Circulation* 2003;107:1329–35.
- [79] Lambermont B, Segers P, Ghuyens A, Tchanu-Sato V, Morimont P, Dagne JM, et al. Comparison between single-beat and multiple-beat methods for estimation of right ventricular contractility. *Crit Care Med* 2004;32:1886–90.
- [80] Borgdorff MA, Bartelds B, Dickinson MG, Boersma B, Weij M, Zandvoort A, et al. Sildenafil enhances systolic adaptation, but does not prevent diastolic dysfunction, in the pressure-loaded right ventricle. *Eur J Heart Fail* 2012;14:1067–74.
- [81] Mouchaers KT, Schalij I, Versteilen AM, Hadi AM, van Nieuw Amerongen GP, van Hinsbergh VW, et al. Endothelin receptor blockade combined with phosphodiesterase-5 inhibition increases right ventricular mitochondrial capacity in pulmonary arterial hypertension. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2009;297:H200–7.
- [82] Nagendran J, Archer SL, Soliman D, Gurtu V, Moudgil R, Haromy A, et al. Phosphodiesterase type 5 is highly expressed in the hypertrophied human right ventricle, and acute inhibition of phosphodiesterase type 5 improves contractility. *Circulation* 2007;116:238–48.
- [83] Schafer S, Ellinghaus P, Janssen W, Kramer F, Lustig K, Milting H, et al. Chronic inhibition of phosphodiesterase 5 does not prevent pressure overload-induced right ventricular remodeling. *Cardiovasc Res* 2009;82:30–9.
- [84] Schermuly RT, Kreiselmeier KP, Ghofrani HA, Samidurai A, Pullamsetti S, Weissmann N, et al. Antiremodeling effects of iloprost and the dual-selective phosphodiesterase 3/4 inhibitor tolfenetrine in chronic experimental pulmonary hypertension. *Circ Res* 2004;94:1101–8.
- [85] van Albeda ME, Berger RM, Niggebrugge M, van Veghel R, Cromme-Dijkhuis AH, Schoemaker RG. Prostacyclin therapy increases right ventricular capillarisation in a model for flow-associated pulmonary hypertension. *Eur J Pharmacol* 2006;549:107–16.
- [86] Yuyama H, Koakutsu A, Fujiyasu N, Tanahashi M, Fujimori A, Sato S, et al. Effects of selective endothelin ET(A) receptor antagonists on endothelin-1-induced potentiation of cancer pain. *Eur J Pharmacol* 2004;492:177–82.
- [87] Jasinska-Stroschein M, Owczarek J, Wesolowska A, Orszulak-Michalak D. Rosuvastatin, sildenafil and their combination in monocrotaline-induced pulmonary hypertension in rat. *Acta Pharm* 2014;64:345–53.
- [88] Redout EM, van der Toorn A, Zuidwijk MJ, van de Kolk CW, van Echteld CJ, Musters RJ, et al. Antioxidant treatment attenuates pulmonary arterial hypertension-induced heart failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2010;298:H1038–47.



Right ventricular reserve in a piglet model of chronic pulmonary hypertension

Julien Guihaire¹, François Haddad², Pierre-Emmanuel Noly¹, David Boulate¹, Benoit Decante¹, Philippe Dartevelle¹, Marc Humbert³, Jean-Philippe Verhoye⁴, Olaf Mercier¹ and Elie Fadel¹

Affiliations: ¹Laboratory of Surgical Research and INSERM U999, University of Paris-Sud, Marie Lannelongue Hospital, Le Plessis Robinson, France. ²Division of Cardiovascular Medicine, Stanford University, Palo Alto, CA, USA. ³University of Paris-Sud, Faculté de médecine, Kremlin-Bicêtre, AP-HP, Service de Pneumologie et Réanimation Respiratoire, Hôpital Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, INSERM U999, Marie Lannelongue Hospital, Le Plessis-Robinson, France. ⁴Dept of Thoracic and Cardiovascular Surgery, University Hospital of Rennes, Rennes, France.

Correspondence: Julien Guihaire, Laboratory of Surgical Research and Inserm U999, University of Paris-Sud, Marie Lannelongue Hospital, 133 avenue de la Résistance, 92350 Le Plessis Robinson, France.
E-mail: julien.guichaire@chu-rennes.fr

ABSTRACT Right ventricular (RV) response to exercise or pharmacological stress is not well documented in pulmonary hypertension (PH). We investigated the relationship between RV reserve and ventricular-arterial coupling.

Surgical ligation of the left pulmonary artery was performed in 13 Large White piglets (PH group), thereafter weekly embolisations of the right lower lobe were performed for 5 weeks. A control group of six piglets underwent sham procedures. Right heart catheterisation and echocardiography were performed at week 6. Pressure-volume loops were recorded before and after dobutamine infusion.

Induction of experimental PH resulted in a higher mean±SD pulmonary artery pressure (34±9 versus 14±2 mmHg; $p<0.01$) and in a lower ventricular-arterial coupling efficiency (0.66±0.18 versus 1.24±0.17; $p<0.01$) compared with controls at 6 weeks. Dobutamine-induced relative changes in RV stroke volume index (SVI) and end-systolic elastance were lower in the PH group (mean±SD 47±5% versus 20±5%, $p<0.01$, and 81±37% versus 32±14%, $p<0.01$, respectively). Change in SVI was strongly associated with resting ventricular-arterial coupling ($R^2=0.74$; $p<0.01$).

RV reserve was associated with ventricular-arterial coupling in a porcine model of chronic pressure overload.



@ERSpublications

Dobutamine testing in right ventricular pressure overload: a potentially useful method to assess contractile reserve <http://ow.ly/E9NMK>

This article has supplementary material available from erj.ersjournals.com

Received: May 01 2014 | Accepted after revision: Nov 06 2014

Support statement This work was supported by the "Association chirurgicale pour le développement et l'amélioration des techniques de dépistage et de traitement des maladies cardio-vasculaires" (ADETEC, Suresnes, France). The Vivid E9 cardiac ultrasound system (General Electric Medical System) was financed by a grant from the "Cardio-vasculaire-Obésité Domaine D'Intérêt Majeur" (CODDIM cod100158, Région Ile-de-France, France).

Conflict of interest Disclosures can be found alongside the online version of this article at erj.ersjournals.com

Copyright ©ERS 2014

Introduction

Survival in patients with pulmonary hypertension (PH) is closely related to right ventricular (RV) function [1–3]. In haemodynamics-based studies, low cardiac index (CI) and increased right atrial pressure (RAP) at rest are strong predictors of outcome [4]. While the majority of studies have focused on evaluating RV function at rest, in recent years there has been a renewed interest in evaluating the dynamic response of the right ventricle to either exercise or pharmacological stimulation [5–7]. NOOTENS *et al.* [8] were the first to describe the significant decrease in contractile reserve in patients with PH. In their study, RV ejection fraction failed to increase and actually decreased with exercise in the majority of patients with moderate-to-severe pulmonary vascular disease.

Currently, the physiological correlates of contractile reserve in the chronic RV pressure overload state are not well understood. In this experimental study, we sought to determine whether contractile reserve in PH is strongly associated with ventricular-arterial coupling. Ventricular-arterial coupling is a measure that relates ventricular contractility to ventricular afterload and is currently the reference metric for functional ventricular adaptation [9, 10]. For this study, we hypothesised that RV contractile reserve in the chronic pressure overload state would represent a good surrogate marker for ventricular-arterial coupling. We also sought to determine whether contractile reserve is associated with β -myosin heavy chain (β -MHC) expression.

Materials and methods

Experimental model of chronic PH

After premedication with ketamine hydrochloride 15 mg·kg⁻¹ intramuscularly, general anaesthesia was induced with propofol 1% and maintained using continuous isoflurane inhalation for all procedures (surgery, right heart catheterisation, conductance measurements and echocardiography). Pancuronium bromide 2 mg was administered intravenously for muscle relaxation. Mechanical ventilation via endotracheal intubation was performed at a rate of 10 breaths per minute, with a tidal volume of 15–20 mL·kg⁻¹ and a pulmonary end-expiratory pressure of 5 cmH₂O (Servo 900; Siemens-Elema AB, Solna, Sweden). Inspired oxygen fraction was adjusted to obtain stable peripheral oxygen saturation up to 95% during all procedures. 13 2-month-old Large White piglets underwent a ligation of the left pulmonary artery through midline sternotomy (PH group). Thereafter, percutaneous puncture of the brachiocephalic vein was carried out weekly to perform pulmonary embolisations once per week for 5 weeks using a 4-Fr lumen catheter. A soft tissue adhesive, N-butyl-2-cyanoacrylate (Histoacryl; B-Braun, Tuttlingen, Germany), was then injected under fluoroscopic guidance to progressively occlude the segmental arteries of the right lower lobe. As previously reported, the animals developed PH associated with RV remodelling and dysfunction after 5 weeks [11]. Sham surgical procedures were performed in six piglets (Sham group). The pericardium was kept open in both groups. At week 6, PH animals were randomly allocated to either a surgical reperfusion of the left lung using a short bypass between the pulmonary artery trunk and the left pulmonary artery (reperfusion group, n=6), or no treatment (HYPPE group, n=7). The research protocol was approved by the Institutional Committee on Animal Welfare. All animals received humane care in compliance with the "Principles of Laboratory Animal Care" formulated by the National Society for Medical Research and the "Guide for the Care and Use of Laboratory Animals" prepared by the Institute of Laboratory Animal Resources and published by the National Institutes of Health (NIH Publication No. 86-23, revised 1996). The study was performed in the Laboratory of Surgical Research of Marie Lannelongue Hospital, University of Paris-Sud, Le Plessis Robinson, France.

Right heart catheterisation

Pulmonary haemodynamics including heart rate, RAP, systolic and mean pulmonary artery pressure (sPAP and mPAP) and cardiac output were derived by thermodilution under general anaesthesia at week 6 in all animals using a 7-Fr catheter (Edwards LifeSciences, Irvine, CA, USA). Total pulmonary resistance (TPR) was expressed in dyn·s⁻¹·cm⁻⁵ and calculated as follows: $TPR = ((mPAP) \times 80) / \text{cardiac output}$. Cardiac output was indexed to the body surface area (BSA) to define CI following the equation of KELLEY *et al.* [12] for piglets: $BSA \text{ (cm}^2\text{)} = 734 \times \text{weight}^{0.66}$. Cardiac power index was calculated as follows: $mPAP \times CI$.

Conductance measurements

Synchronous pressure and volume signals were recorded at weeks 6 and 12 using a 4-Fr conductance-catheter (CD Leycom, Zoetermeer, the Netherlands) inserted in the right ventricle as previously reported [11, 13]. Another pressure sensitive catheter (Pulsion Medical Systems, Munich, Germany) was inserted in the right femoral artery to continuously monitor mean systemic blood pressure. Baseline measurements for stroke volume, maximal (dP/dt_{max}) and minimal rates of rise of RV pressure, relaxation time constant (τ) and RV stroke work were recorded. Stroke volume was indexed to BSA (SVI). An 8-Fr balloon-tipped catheter was introduced through the right femoral vein and positioned under fluoroscopic guidance in the inferior vena cava, just below the right atrial cavity (20-mm occlusion

balloon catheter; Boston Scientific/Medi-Tech, Watertown, MA, USA). It was inflated to transiently reduce RV inflow and assess end-systolic pressure-volume relationships. End-systolic elastance of the right ventricle (E_{es}) was defined by the slope of the end-systolic pressure-volume relationship. Pulmonary arterial elastance (E_a) was calculated as the ratio of RV end-systolic pressure to stroke volume. The E_{es}/E_a ratio determined the efficiency of RV-pulmonary arterial (RV-PA) coupling. Measurements (heart rate, stroke volume, dp/dt_{max} and E_{es}) were repeated after 3 min of low-dose dobutamine infusion ($5 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$). Different metrics of RV contractile reserve were reported, reflecting relative changes in indices of systolic function: 1) $(\text{SVI after stress} - \text{SVI at rest})/\text{SVI at rest}$; 2) $(dp/dt_{max} \text{ after stress} - dp/dt_{max} \text{ at rest})/dp/dt_{max} \text{ at rest}$; and 3) $(E_{es} \text{ after stress} - E_{es} \text{ at rest})/E_{es} \text{ at rest}$. We also defined three categories with respect to the degree of RV-PA coupling: moderate-to-severe ($E_{es}/E_a < 0.7$), mild ($0.7 < E_{es}/E_a < 1$) and normal (E_{es}/E_a).

Echography of the right ventricle

Echocardiography (Vivid E9; GE Medical Systems, Milwaukee, WI, USA) was performed at week 6 under general anaesthesia for measurement of the maximal transverse RV end-diastolic diameter (RVEDD) on a 4-chamber view (B-mode), as well as the RV end-diastolic area indexed to BSA (RVEDAI). The RV fractional area change (RVFAC) was defined as the percentage change in area between end-diastole and end-systole (two-dimensional quantification). The RV myocardial performance index was calculated as the ratio of isovolumic contraction and relaxation time divided by contraction time (pulse doppler of the pulmonary and tricuspid valves). The tricuspid annular plane systolic excursion (TAPSE) was measured using M-mode as the maximal excursion of the lateral part of the tricuspid annulus.

Reverse transcriptase PCR assay

Animals were euthanised at week 12 for procurement of the right ventricle. Total RNA was prepared and quantified according to a method we previously described [14]. Reverse transcriptase (RT)-PCR was performed for brain natriuretic peptide (BNP) and β -MHC with pig-specific primers (#Ss03392423_m1 and #Ss03392411_m1, respectively; Applied Biosystems, Villebon sur Yvette, France). Tissue expression of β -MHC and BNP was normalised to that of 18S gene in each sample.

Statistical analysis

Continuous variables are presented as mean \pm SD. Non-normally distributed variables were log transformed before analysis. Differences between study groups were detected using one-way ANOVA. Within groups, changes after pharmacological stimulation were evaluated using paired *t*-tests. Relationships between different modalities of RV contractility assessment and RV-PA coupling or with noninvasive indices of RV function were approached using linear regression. $p < 0.05$ was considered significant. All data were analysed using Prism statistical software (GraphPad, La Jolla, CA, USA).

Results

Haemodynamics and RV remodelling after induction of experimental PH

Characteristics of the study groups at week 6 are listed in table 1.

Left pulmonary artery ligation combined with embolisation of the segmental arteries of the right lower lobe for 5 weeks resulted in significant changes in pulmonary haemodynamics as illustrated by the higher RAP, mPAP and TPR among PH animals. Heart rate and CI were not different between the PH and sham groups, while cardiac power index and RV stroke work were higher at 6 weeks after induction of experimental PH. Chronic pressure overload was associated with RV enlargement as shown by the higher values of RVEDD and RVEDAI among PH animals. Moreover, RV systolic dysfunction was observed in PH animals as illustrated by the lower RVFAC and TAPSE compared with controls. The RVFAC/sPAP and TAPSE/sPAP ratios were significantly lower in the PH group. Similarly, we observed a linear relationship between RVFAC and sPAP, and between TAPSE and sPAP at rest (fig. S1). Resting parameters of RV systolic function were weakly associated with E_{es}/E_a (TAPSE: $R^2 = 0.41$, $p < 0.01$; SVI: $R^2 = 0.22$, $p = 0.04$; dp/dt_{max} : $R^2 = 0.39$, $p < 0.01$; E_{es} : $R^2 = 0.42$, $p < 0.01$), except for RVFAC ($R^2 = 0.82$; $p < 0.01$).

RV contractile reserve

At rest, indices of RV contractility, including dp/dt_{max} and E_{es} , were significantly higher in the PH group. Impairment of ventricular-arterial coupling was, however, observed in this group since the increased E_{es} did not compensate for the increase in E_a . Changes in RV haemodynamics after pharmacological stress at week 6 are shown in figure 1. Dobutamine infusion ($5 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$) resulted in a significant increase in heart rate (101 ± 16 versus 131 ± 17 beats $\cdot\text{min}^{-1}$; $p < 0.01$), SVI (41.5 ± 6.6 versus 50.1 ± 7.8 mL; $p < 0.01$) and CI (3.2 ± 1.1 versus 4.7 ± 1.3 L $\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$; $p < 0.01$) in the PH group. Similarly pharmacological stress was associated with an improvement in RV contractility as measured by E_{es} (0.53 ± 0.08 versus 0.70 ± 0.12 mmHg $\cdot\text{mL}^{-1}$;

TABLE 1 Resting haemodynamics, right ventricular (RV) remodelling and function at 6 weeks

	PH group	Sham group	p-value
Subjects n	13	6	
Body weight kg	31.9±5.6	30.6±2.2	0.59
Mean blood pressure mmHg	63±13	70±11	0.25
Heart rate beats·min⁻¹	100±16	101±13	0.93
Right heart catheterisation			
RAP mmHg	8±2	5±2	0.01
RV end-diastolic pressure	13±5	5±3	<0.01
Mean PAP mmHg	34±9	14±2	<0.01
Cardiac index L·min ⁻¹ ·m ⁻²	3.2±1.0	3.2±0.2	0.93
TPR dyn·s·cm ⁻⁵	993±572	349±61	0.01
Cardiac power index W·m ⁻²	108±42	45±6	<0.01
Conductance measurements			
SVI mL·m ⁻²	41±7	44±5	0.49
RV stroke work mmHg·mL ⁻¹	1853±851	881±265	0.03
dP/dt _{max} mmHg·s ⁻¹	540±141	306±72	<0.01
dP/dt _{min} mmHg·s ⁻¹	-738±299	-244±65	<0.01
E _{es} mmHg·mL ⁻¹	0.54±0.09	0.37±0.05	<0.01
E _a mmHg·mL ⁻¹	0.88±0.35	0.32±0.06	<0.01
E _{es} /E _a	0.66±0.18	1.24±0.17	<0.01
Tau ms	34±4	18±7	<0.01
Echocardiography			
LVEF %	51±2	62±3	<0.01
RV end-diastolic diameter cm	2.1±0.6	1.4±0.3	0.02
RV end-diastolic area index cm ² ·m ⁻²	11.0±2.4	4.6±0.6	<0.01
RVFAC	0.25±0.04	0.51±0.08	<0.01
RV myocardial performance index	0.62±0.17	0.30±0.04	<0.01
TAPSE cm	1.4±0.4	2.0±0.2	<0.01
RVFAC/sPAP mm·mmHg ⁻¹	0.63±0.05	3.05±0.32	<0.01
TAPSE/sPAP mm·mmHg ⁻¹	0.34±0.09	1.07±0.15	<0.01

Data are presented as mean±sd, unless otherwise stated. Statistical significance was set at p<0.05. PH: pulmonary hypertension; RAP: right atrial pressure; PAP: pulmonary artery pressure; TPR: total pulmonary resistance; SVI: stroke volume index; dP/dt_{max}: maximum rate of rise of RV pressure; dP/dt_{min}: minimum rate of rise of RV pressure; E_{es}: end-systolic elastance; E_a: arterial elastance; LVEF: left ventricular ejection fraction; RVFAC: RV fractional area change; TAPSE: tricuspid annular plane systolic excursion; sPAP: systolic PAP.

p<0.01) and higher dP/dt_{max} (540±141 versus 1079±353 mmHg·s⁻¹; p<0.01) compared with measurements at rest. This increase in E_{es} was, however, insufficient to improve RV-PA coupling in PH animals (0.66±0.18 versus 0.55±0.21; p=0.14), while E_{es}/E_a was higher in sham animals after dobutamine infusion at week 6 (1.23±0.17 versus 2.14±0.55; p=0.01).

Relationships between indices of RV contractile reserve, RV functional indices and ventricular-arterial coupling

Pharmacological stress resulted in a marked increase in SVI, dP/dt_{max} and E_{es} in both groups. The relative changes during dobutamine stimulation were, however, higher in controls compared with PH animals (SVI: 47±5% versus 20±5%, p<0.01; dP/dt_{max}: 214±55% versus 95±51%, p<0.01; E_{es}: 81±37% versus 32±14%, p<0.01) (fig. 2).

The relationships between indices of RV contractile reserve and traditional indices of RV function at rest are listed in table 2. The RVFAC at rest was more strongly associated with SVI reserve, E_{es} reserve and dP/dt_{max} reserve through linear relationships, than the TAPSE and RVMPI. The TAPSE was not associated with relative changes in E_{es} after dobutamine infusion (R²=0.172; p=0.078).

The lower the E_{es}/E_a ratio was, the lower the SVI was in response to dobutamine (fig. 3a). The relationships between indices of contractile reserve and RV-PA coupling at rest (E_{es}/E_a) were better approximated by a linear approach (fig. 3b-d). Impairment of RV-PA coupling (E_{es}/E_a<1) was associated with lower changes in SVI and dP/dt_{max} after dobutamine stimulation. Resting E_{es}/E_a was more strongly associated with relative changes in SVI (R²=0.74; p<0.01) and in dP/dt_{max} (R²=0.70; p<0.01), than with relative change in E_{es} (R²=0.36; p<0.01).

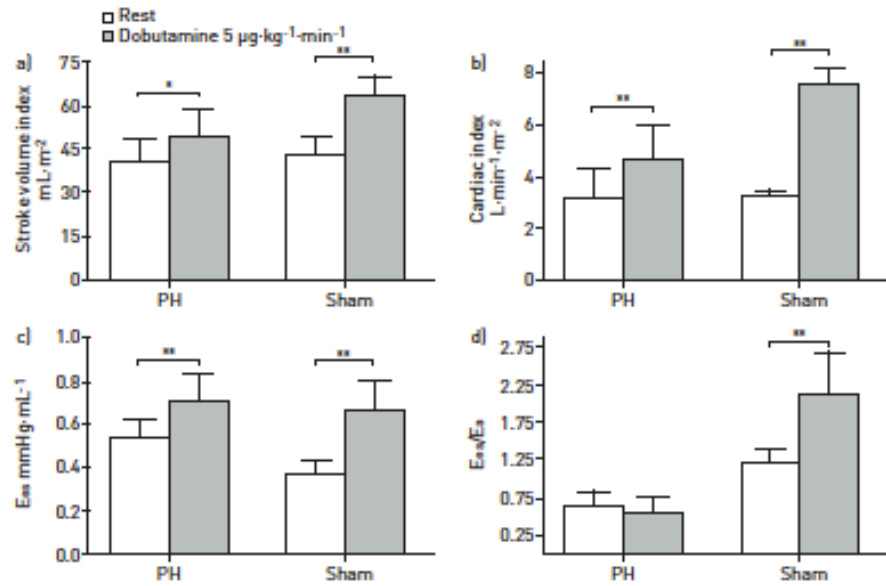


FIGURE 1 Changes in right ventricular haemodynamics during a pharmacological stress test. a) Stroke volume index, b) cardiac index, c) end-systolic elastance (E_{es}) and d) E_{es} /pulmonary arterial elastance (E_a). Pulmonary hypertension (PH) group $n=13$; sham group $n=6$. *: $p<0.05$; **: $p<0.01$ for comparison between resting and exercise variables in each group.

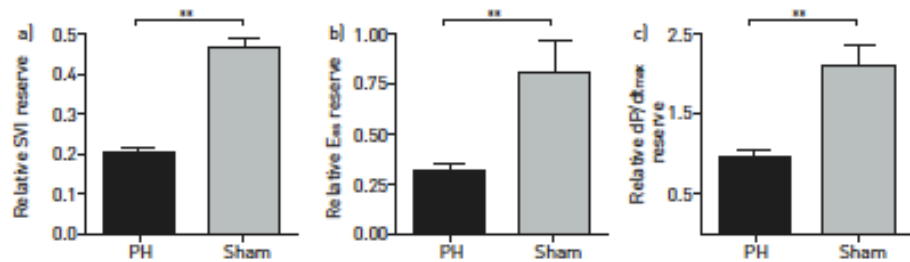


FIGURE 2 Comparison of different metric of right ventricular contractile reserve between the pulmonary hypertension (PH) and sham groups. a) Relative stroke volume index (SVI), defined as relative SVI = (maximum SVI - SVI at rest) / SVI at rest. b) Relative end-systolic elastance (E_{es}), defined as relative E_{es} = (maximum E_{es} - E_{es} at rest) / E_{es} at rest. c) Relative maximum rate of rise of right ventricular pressure (dP/dt_{max}), defined as relative dP/dt_{max} = (maximum dP/dt - dP/dt at rest) / dP/dt at rest. PH group $n=13$; sham group $n=6$. **: $p<0.01$ for between group comparisons.

TABLE 2 Relationships between noninvasive indices of right ventricular (RV) function at rest and new indices of RV contractile reserve at 6 weeks

Indices of RV function	SVI reserve		E_{es} reserve		dP/dt_{max} reserve	
	R^2	p-value	R^2	p-value	R^2	p-value
TAPSE	0.462	0.001	0.172	0.078	0.296	0.018
RVMPI	0.560	<0.001	0.313	0.013	0.462	0.001
RVFAC	0.699	<0.001	0.316	0.012	0.573	<0.001

Associations were approximated using a linear approach. Statistical significance was set at $p<0.05$. SVI: stroke volume index; E_{es} : end-systolic elastance; dP/dt_{max} : maximum rate of rise of RV pressure; TAPSE: tricuspid annular plane systolic excursion; RVMPI: RV myocardial performance index; RVFAC: RV fractional area change.

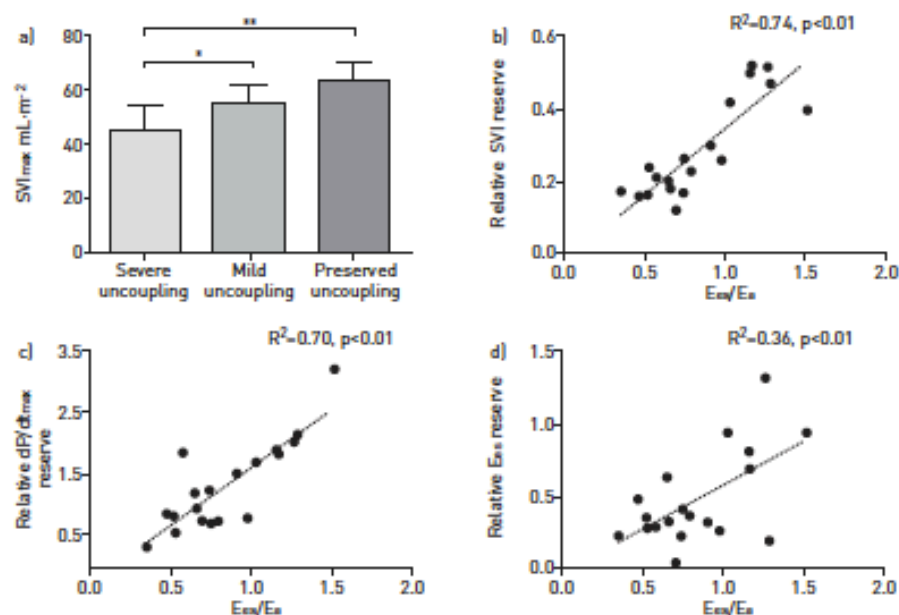


FIGURE 3 Relationships between indices of right ventricular (RV) contractile reserve and resting ventricular-arterial coupling (E_{es}/E_a). a) The more ventricular-arterial coupling impairment the lower the stroke volume index response to dobutamine stimulation (SVI_{max}) was. Severe uncoupling was defined as $E_{es}/E_a < 0.7$; moderate uncoupling as $0.7 < E_{es}/E_a < 1.0$; and preserved coupling as $E_{es}/E_a > 1$. Relationships between E_{es}/E_a and b) relative SVI reserve, c) relative maximum rate of rise of right ventricular pressure (dP/dt_{max}) reserve, and d) relative E_{es} reserve were best approximated using a linear approach. $n=19$. E_{es} : end-systolic distance; E_a : pulmonary arterial distance. *: $p < 0.05$; **: $p < 0.01$ for comparison between groups.

Relationship between gene expression and RV reserve

At 12 weeks, PH animals who did not receive any treatment at 6 weeks had a higher level of gene expression for BNP and when compared with the reperfusion group (BNP: 2.55 ± 1.49 versus 1.80 ± 1.47 , $p < 0.01$; β -MHC: 1.58 ± 0.43 versus 1.31 ± 0.27 , $p = 0.02$) (fig. 4a and b). Considering the relationships between gene expression and RV systolic reserve, as illustrated by SVI after dobutamine stimulation at 12 weeks, we observed a trend for an inverse relationship between BNP expression and RV reserve ($R^2 = 0.343$; $p = 0.05$). The relationship between β -MHC expression and maximum SVI was best estimated using a linear approach ($R^2 = 0.65$; $p < 0.01$). The strongest relationship between RV gene expression and RV reserve was observed with β -MHC (fig. 4c and d).

Discussion

The main finding of our study is that in chronic RV pressure overload states, a decrease in RV contractile reserve is strongly associated with impairment in ventricular-arterial coupling. These physiological observations have clinical implications for both screening and management of patients with PH.

Emphasis in PH has recently changed from focusing on either the pulmonary vasculature or the right ventricle to focusing on the cardiopulmonary unit. Insights from an analysis of pressure-volume loops have demonstrated that a ventricle that adapts well to chronic PH is able to increase its contractility to match the increase in afterload [15]. Ventricular-arterial coupling is the metric of choice to analyse this matching between contractility and afterload. Consistent with previous clinical and experimental studies, we have found that altered ventricular-arterial coupling is common in the presence of chronic pressure overload states of the right ventricle [16].

Our study demonstrates that, in the setting of a chronic pressure overload state, RV contractile reserve may be a more sensitive marker of haemodynamic ventricular dysfunction. In fact, while SVI and CI were not significantly decreased at rest in the PH group, contractile reserve measured by peak or relative changes in SVI or CI were significantly impaired. The impairment in contractile reserve was also reflected by a lower relative increase in more specific indices of contractility, such as E_{es} and dP/dt_{max} , in the PH group. To the best of our knowledge, this is the first report of a strong relationship between contractile reserve and resting

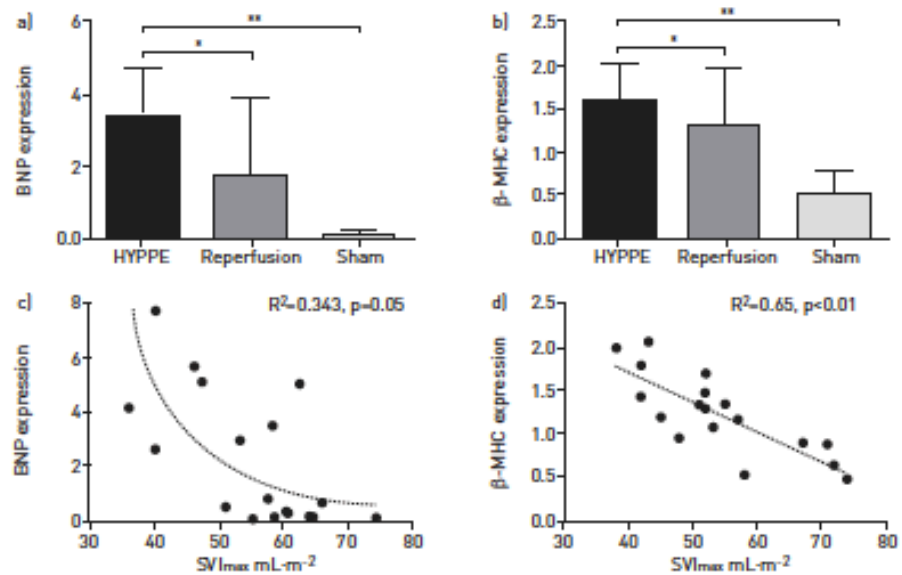


FIGURE 4 Molecular patterns of the pressure-overloaded right ventricle and relationships with right ventricular (RV) reserve. a) Brain natriuretic peptide (BNP) and b) β -myosin heavy chain (β -MHC) are overexpressed at 12 weeks in HYPPE group ($n=7$) compared with the reperfusion ($n=6$) and sham groups ($n=6$). RV gene expression of c) BNP and d) β -MHC were inversely associated with stroke volume index measured after dobutamine stimulation (SVI_{max}), through a non-linear and a linear relationship, respectively. *: $p<0.05$; **: $p<0.01$ for comparison between resting and exercise variables in each group.

ventricular-arterial coupling in an experimental model of RV dysfunction. Several studies have previously demonstrated that functional changes during exercise are adaptive if the ventricle is energetically efficient, which is usually observed with an E_{es}/E_a ratio of 1–2 [17, 18]. Our findings are in accordance with studies showing that patients with PH have an impairment of power transfer and ventricular efficiency during exercise [11, 19]. Among functional indices at rest, RVFAC showed the best correlation to ventricular-arterial coupling and contractile reserve, indicating that, if reliably measured, it could be a useful parameter for outcome or for screening. Our findings are in accordance with clinical results recently reported by RAJNA *et al.* [20]. They showed that RVFAC better reflects RV systolic function than TAPSE when the pericardium is kept open. Practically, however, there may be more variability in the measure of RVFAC and recent outcome studies carried out by FINE *et al.* [21] suggest that RV longitudinal strain, which was not measured in the current study, is a stronger correlate of survival than RVFAC in prevalent cases of PH.

Although this was not specifically analysed in the study, several mechanisms can contribute to the decreased contractile reserve to dobutamine. First, the decrease in β 1-adrenergic receptor density in chronic RV pressure overload could explain, in part, the decrease in responsiveness to dobutamine. Secondly, the decrease in capillary density in the presence of a hypertrophied ventricle could contribute to perfusion abnormalities and inefficient myocardial oxygen utilisation leading to impaired contractile reserve [22–26]. Thirdly, a metabolic shift from fatty acid to glucose oxidation has been further described in the stressed right ventricle [27–29]. In terms of cellular mechanisms, we analysed BNP and β -MHC expression. Not surprisingly, BNP expression was inversely associated with RV contractile reserve measured by peak SVI. Combined with a significant increase in RVEDD and RVEDAI in PH animals, this result suggests that RV enlargement is strongly associated with impaired response to dobutamine in our large animal model. By contrast, we showed that β -MHC expression was higher in animals with low contractile reserve. β -MHC is mainly involved in weak contractions with slow shortening velocity, and may not play a major role in RV contractility in response to acute pharmacological stress [30]. We previously reported that β -MHC is upregulated after 12 weeks in our model of chronic RV pressure overload [14]. The present findings suggest that impaired RV contractile reserve is associated with increased β -MHC expression in the setting of chronic pressure overload.

Clinical implications

This study has two main clinical implications. First, low-dose infusion of dobutamine may be used in practice as a pharmacological stress to measure RV reserve. Secondly, the study highlights that contractile

reserve could be more useful than resting parameters for risk stratification. In a recent study, BLUMBERG *et al.* [31] showed that CI at peak exercise was more strongly associated with outcome than resting parameters. In the present study, CI was increased in the PH group after dobutamine infusion, but to a lesser extent compared with controls. Our results suggest that indices of RV contractile reserve may be relevant markers of RV dysfunction in chronic pressure overload conditions. However, further studies are needed to document the incremental value of contractile reserve to measures of RV strain or RV remodelling, which will require a large sample size. The study also points to the fact that for the management of patients with severe RV failure and PAH, low dose dobutamine may not significantly increase stroke volume and the majority of the increase in CI will be through a chronotropic response. The lusitropic effects of dobutamine could also help improve systemic or renal congestion.

Study limitations

The study has several limitations. First, the pericardium was opened in the model, which may decrease the effects of ventricular interdependence [32]. In fact, the adverse effects of RV enlargement on left ventricular function have been demonstrated to be significantly lower when the pericardium is open. Decreased left ventricular ejection fraction in PH animals may, in part, explain moderate changes in SVI and CI after dobutamine infusion in this group compared with controls, even if SVI and CI were not different between the groups at rest. Secondly, we did not use cardiac magnetic resonance imaging for more accurate measurement of RV volumes and function. The strength of our study was the ability to perform echocardiography, conductance measurements and the pharmacological stress test in PH animals in 2 h, allowing us to analyse the relationships between invasive and noninvasive indices of RV function. Thirdly, we did not report the value of the preload-recruitable stroke work, which would have helped to discriminate the load-dependency of RV contractile performance. Another limitation is related to the effects of halogenated anaesthesia on ventricular-arterial coupling efficiency. KERBAUL *et al.* [33] showed that isoflurane markedly impairs RV-PA coupling both by increasing RV afterload and by decreasing RV contractility. This limitation needs, however, to be balanced with the recognition that all animals (PH and sham groups) underwent the same anaesthetic protocol.

Conclusion

We report for the first time a strong relationship between ventricular-arterial coupling and RV contractile reserve in a porcine model of chronic pressure overload. This relationship offers a physiological basis to use contractile reserve as a surrogate marker of ventricular-arterial coupling in the chronic RV pressure overload state. Furthermore, the relationship explains the lower responsiveness to dobutamine in patients with severe baseline impairment in ventricular-arterial coupling.

References

- Humbert M. Pulmonary arterial hypertension and chronic thromboembolic pulmonary hypertension: pathophysiology. *Eur Respir Rev* 2010; 19: 59–63.
- Bogaard HJ, Abe K, Vonk Noordegraaf A, *et al.* The right ventricle under pressure: cellular and molecular mechanisms of right-heart failure in pulmonary hypertension. *Chest* 2009; 135: 794–804.
- Vonk-Noordegraaf A, Haddad F, Chin KM, *et al.* Right heart adaptation to pulmonary arterial hypertension: physiology and pathobiology. *J Am Coll Cardiol* 2013; 62: Suppl. 25, D22–D33.
- Humbert M, Sitbon O, Chaouat A, *et al.* Survival in patients with idiopathic, familial, and anorexigen-associated pulmonary arterial hypertension in the modern management era. *Circulation* 2010; 122: 156–163.
- Haddad F, Doyle R, Murphy DJ, *et al.* Right ventricular function in cardiovascular disease, part II: pathophysiology, clinical importance, and management of right ventricular failure. *Circulation* 2008; 117: 1717–1731.
- Haddad F, Vrtovc B, Ashley EA, *et al.* The concept of ventricular reserve in heart failure and pulmonary hypertension: an old metric that brings us one step closer in our quest for prediction. *Curr Opin Cardiol* 2011; 26: 123–131.
- Grüning E, Tiede H, Enyimayew BO, *et al.* Assessment and prognostic relevance of right ventricular contractile reserve in patients with severe pulmonary hypertension. *Circulation* 2013; 128: 2005–2015.
- Nootens M, Wolfciel CJ, Chomka EV, *et al.* Understanding right and left ventricular systolic function and interactions at rest and with exercise in primary pulmonary hypertension. *Am J Cardiol* 1995; 75: 374–377.
- Brimouille S, Wauthy P, Ewalenko P, *et al.* Single-beat estimation of right ventricular end-systolic pressure-volume relationship. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003; 284: H1625–H1630.
- Vonk Noordegraaf A, Galis N. The role of the right ventricle in pulmonary arterial hypertension. *Eur Respir Rev* 2011; 20: 243–253.
- Guihaire J, Haddad F, Boulate D, *et al.* Non-invasive indices of right ventricular function are markers of ventricular-arterial coupling rather than ventricular contractility: insights from a porcine model of chronic pressure overload. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging* 2013; 14: 1140–1149.
- Kelley KW, Curtis SE, Marzan GT, *et al.* Body surface area of female swine. *J Anim Sci* 1973; 36: 927–930.
- Dickstein ML, Yano O, Spotnitz HM, *et al.* Assessment of right ventricular contractile state with the conductance catheter technique in the pig. *Cardiovasc Res* 1995; 29: 820–826.
- Guihaire J, Haddad F, Boulate D, *et al.* Right ventricular plasticity in a porcine model of chronic pressure overload. *J Heart Lung Transplant* 2014; 33: 194–202.

- 15 Kuehne T, Yilmaz S, Steendijk P, et al. Magnetic resonance imaging analysis of right ventricular pressure-volume loops: *in vivo* validation and clinical application in patients with pulmonary hypertension. *Circulation* 2004; 110: 2010–2016.
- 16 Kussmaul WG, Noordegraaf A, Lasley WK. Right ventricular-pulmonary arterial interactions. *Ann Biomed Eng* 1992; 20: 63–80.
- 17 Lambermont B, D'Orto V. The role of right ventricular-pulmonary arterial coupling to differentiate between effects of inotropic agents in experimental right heart failure. *Crit Care Med* 2006; 34: 2864–2865.
- 18 Montmont P, Lambermont B, Ghuyssen A, et al. Effective arterial elastance as an index of pulmonary vascular load. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2008; 294: H2736–H2742.
- 19 Naeije R, Chesler N. Pulmonary circulation at exercise. *Compr Physiol* 2012; 2: 711–741.
- 20 Raina A, Vaidya A, Gertz ZM, et al. Marked changes in right ventricular contractile pattern after cardiothoracic surgery: implications for post-surgical assessment of right ventricular function. *J Heart Lung Transplant* 2013; 32: 777–783.
- 21 Fine NM, Chen I, Bartiansen PM, et al. Outcome prediction by quantitative right ventricular function assessment in 575 subjects evaluated for pulmonary hypertension. *Circ Cardiovasc Imaging* 2013; 6: 711–721.
- 22 Wong YY, Ruiters G, Lubberink M, et al. Right ventricular failure in idiopathic pulmonary arterial hypertension is associated with inefficient myocardial oxygen utilization. *Circ Heart Fail* 2011; 4: 700–706.
- 23 Wong YY, Westerhof N, Ruiters G, et al. Systolic pulmonary artery pressure and heart rate are main determinants of oxygen consumption in the right ventricular myocardium of patients with idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Eur J Heart Fail* 2011; 13: 1290–1295.
- 24 Tomanek RJ. Response of the coronary vasculature to myocardial hypertrophy. *J Am Coll Cardiol* 1990; 15: 528–533.
- 25 Gómez A, Blalostozky D, Zajarías A, et al. Right ventricular ischemia in patients with primary pulmonary hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2001; 38: 1137–1142.
- 26 Chin KM, Kim NH, Rubin LJ. The right ventricle in pulmonary hypertension. *Coron Artery Dis* 2005; 16: 13–18.
- 27 Wong YY, Rajmakers P, van Campen J, et al. ¹¹C-acetate clearance as an index of oxygen consumption of the right myocardium in idiopathic pulmonary arterial hypertension: a validation study using ¹⁵O-labeled tracers and PET. *J Nucl Med* 2013; 54: 1258–1262.
- 28 Bodi V, Hussler O, Sanchis J, et al. Contractile reserve and extent of transmural necrosis in the setting of myocardial stunning: comparison at cardiac MR imaging. *Radiology* 2010; 255: 755–763.
- 29 Mélon PG, de Landsheere CM, Deguelde C, et al. Relation between contractile reserve and positron emission tomographic patterns of perfusion and glucose utilization in chronic ischemic left ventricular dysfunction: implications for identification of myocardial viability. *J Am Coll Cardiol* 1997; 30: 1651–1659.
- 30 Lowes BD, Minobe W, Abraham WT, et al. Changes in gene expression in the intact human heart. Downregulation of alpha-myosin heavy chain in hypertrophied, failing ventricular myocardium. *J Clin Invest* 1997; 100: 2315–2324.
- 31 Blumberg FC, Arzt M, Lange T, et al. Impact of right ventricular reserve on exercise capacity and survival in patients with pulmonary hypertension. *Eur J Heart Fail* 2013; 15: 771–775.
- 32 Brookes C, Ravn H, White P, et al. Acute right ventricular dilatation in response to ischemia significantly impairs left ventricular systolic performance. *Circulation* 1999; 100: 761–767.
- 33 Kerbaul F, Rondelet B, Motte S, et al. Isoflurane and desflurane impair right ventricular-pulmonary arterial coupling in dogs. *Anesthesiology* 2004; 101: 1357–1362.

Congrès annuel du Printemps de la Cardiologie – Marseille 2013



Role of angiogenesis in the right ventricle remodeling in response to pulmonary hypertension



Pierre-Emmanuel Noly MD MSc^{2,3,1}, Olaf Mercier MD PhD^{1,2,3,4}, François Haddad MD^{3,5,6,2}, Julien Guihaire MD MSc^{2,3}, Peter Dorfmueller MD^{1,2,3,6,3}, Julien Guihaire MD MSc^{2,3,1}, Matthieu Glorion MD MSc^{2,3,1}, Florence Lecerf BSc², Benoit Decante MSc², Saadia Eddahibi PhD^{2,4}, Philippe Dartevelle MD^{1,2,3,4}, Elie Fadel MD PhD^{1,2,3,4}

¹Paris-Sud University, Medicine Faculty, Kremlin-Bicêtre, France ; ²INSERM U999, Hypertension Artérielle Pulmonaire: Physiopathologie et Innovation Thérapeutique, Centre Chirurgical Marie Lannelongue, Le Plessis-Robinson, France ; ³Surgical Research Lab, Centre Chirurgical Marie Lannelongue, Le Plessis-Robinson, France ; ⁴Department of Thoracic and Vascular Surgery and Heart-Lung Transplantation, Centre Chirurgical Marie Lannelongue, Le Plessis Robinson ; ⁵Division of Cardiovascular Medicine, Stanford University, Palo Alto, California, USA ; ⁶Department of Pathology, Centre Chirurgical Marie Lannelongue, Le Plessis Robinson, France

Background:

Right ventricular (RV) remodeling consisting of RV hypertrophy and increase in contractility occurs in response to pulmonary hypertension (PH). In congenital heart disease (CHD), the right ventricle remains compensated longer than in other types of PH. We hypothesized that better matched myocardial angiogenesis contributes to delay the transition to RV failure in CHD.

Methods:

We induced chronic Pulmonary Hypertension over 20 weeks period in a Shunt group (n=5) by creating an aorto-to-pulmonary shunt (Figure 2) and in a chronic thrombo-embolic PH (HYPPE group, n=5) by ligating the left pulmonary artery (PA) followed by weekly embolizations to progressively occlude the segmental arteries of the right lower lobe (Figure 3). In the Sham group (n=5), the pigs were studied 20 weeks after a left PA dissection. We assessed hemodynamic using right heart catheterization and RV structural and functional remodelling using echocardiography and pressure-volume loops measurement (Figure 1). Myocardial angiogenesis of the RV was studied by measuring capillary density (CD), VEGF-A and HIF-1 α expression.

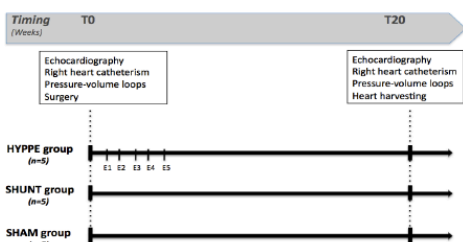


Figure 1: Design of the study.

Fifteen piglets were randomized in 3 groups. Right Ventricular function was assessed just before (T0) and 20 weeks (T20) after surgery. Pulmonary pressure, cardiac index, vascular pulmonary resistances were assessed with right heart catheterism. Systolic function of the RV was assessed with echocardiography. Contractility (elasticance), Stroke Work and right ventriculo-arterial coupling were measured from pressure-volume loops acquisitions. Hearts were harvested for histological, molecular study of the RV. E1 to E5: embolizations of the right lower lobe.

Results:

At 20 weeks, mean PA pressure (26.8 ± 1.4 mm Hg vs 22.8 ± 0.9 mm Hg, $p=ns$) and RV stroke work (SW) (2192 ± 255 mm Hg/ml vs 2110 ± 211 mm Hg/ml, $p=ns$) were not significantly different in the HYPPE and SHUNT groups but significantly more elevated when compared to the Sham group (1440 ± 0.8 mm Hg/ml and 1174 ± 44 mm Hg/ml, $p < 0.01$).

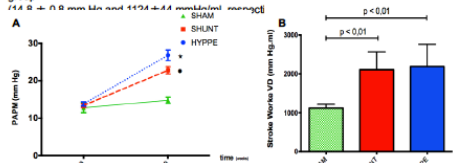
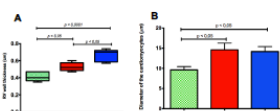


Figure 4: Pulmonary pressure measured with Swan-Ganz (A) and RVSW calculated from P-V loops (B) RV afterload was increased in both SHUNT and HYPPE groups. ($\star p < 0.05$ HYPPE versus SHAM; $\bullet p < 0.05$ SHUNT versus SHAM)

Although RV wall thickness was similarly increased in both PH groups when compared to Sham ($p < 0.001$) (Figure 5), RVMPI and RVFAC values were only impaired in HYPPE animals ($p < 0.05$). Similarly, the RV elastance was significantly increased ($p < 0.05$) and the ventriculo-arterial coupling was decreased ($p < 0.05$) only in the HYPPE group (Figure 6). The capillary density was increased only in the SHUNT group (Figure 7). HIF-1 α and VEGF-A expression remained unchanged.

Figure 5: RV hypertrophy characterised in echocardiography (A) and optic microscopy (B) The diameter of the cardiomyocytes was similarly increased in both PH groups ($p < 0.05$).



Aim of the study:

To compare the RV structural and functional remodelling and RV angiogenesis in two different experimental models of pulmonary hypertension in piglets.

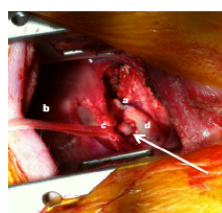


Figure 2: systemic-to-pulmonary shunt in piglets.

We performed a modified Blalock-Taussig shunt using arterial graft (with arrow) harvested from left supra aortic artery (a). A bypass is performed between the thoracic aorta (l) and the pulmonary trunk (c) through a left thoracotomy. (b) pericardium

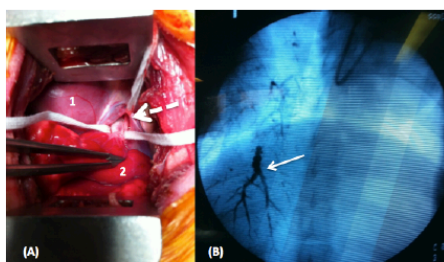


Figure 3: Experimental model of chronic thrombo-embolic pulmonary hypertension in piglets.

At baseline, we perform a ligation of the left pulmonary artery (dotted arrow) through a left thoracotomy (A). After one week, repeated embolizations of right lower lobe pulmonary arteries with tissue glue (n-butyl-2-cyanoacrylate), under fluoroscopic guidance (B) are performed once a week during 5 weeks (unbroken arrow). Pulmonary arterial pressure increase progressively and PH and RV remodeling are obtained after 6 weeks evolution. Section (A): 1: pericardium; 2: left upper pulmonary lobe

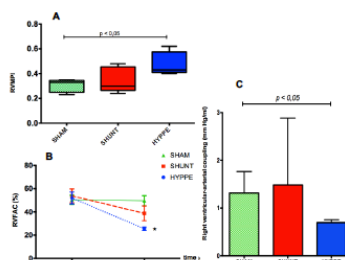


Figure 6: RV systolic indices impairment in echocardiography: RV fractional area change (B) and RV myocardial index of performance (A). Alteration of the right ventriculo-arterial coupling hown the maladaptive function of the RV in the HYPPE group (C).

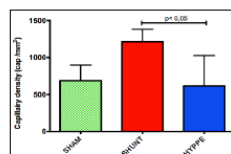
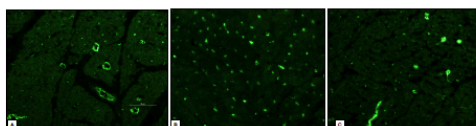


Figure 7: Myocardial capillary density in right ventricle (Von Willebrand Factor antibody staining in fluorescence) The capillary density was only increased in the adaptive model (SHUNT) compared to the maladaptive model (HYPPE) and sham. A: SHAM; B: SHUNT; C: HYPPE

Conclusion:

In PH induced by systemic to pulmonary shunt, the transition from RV compensated hypertrophy to RV failure is delayed compared to similar PH in a CTEPH model. Myocardial angiogenesis or capillary density appears to be preserved in the right ventricle of shunt models

Acknowledgement:

RÉFÉRENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

1. ElMaghawry M, Zanatta A, Zampieri F. The discovery of pulmonary circulation: From Imhotep to William Harvey. *Glob Cardiol Sci Pract* 2014;**2014**:103-116.
2. Aird WC. Discovery of the cardiovascular system: from Galen to William Harvey. *J Thromb Haemost* 2011;**9 Suppl 1**:118-129.
3. Starr I, Jeffers WA, Meade RH, Jr. The absence of conspicuous increments of venous pressure after severe damage to the right ventricle of the dog, with a discussion of the relation between clinical congestive failure and heart disease. *American Heart Journal* 1943;**26**:291-301.
4. Fontan F, Baudet E. Surgical repair of tricuspid atresia. *Thorax* 1971;**26**:240-248.
5. Gewillig M, Brown SC. The Fontan circulation after 45 years: update in physiology. *Heart* 2016;**102**:1081-1086.
6. Goldstein JA, Vlahakes GJ, Verrier ED, Schiller NB, Tyberg JV, Ports TA, Parmley WW, Chatterjee K. The role of right ventricular systolic dysfunction and elevated intrapericardial pressure in the genesis of low output in experimental right ventricular infarction. *Circulation* 1982;**65**:513-522.
7. D'Alonzo GE, Barst RJ, Ayres SM, Bergofsky EH, Brundage BH, Detre KM, Fishman AP, Goldring RM, Groves BM, Kernis JT, et al. Survival in patients with primary pulmonary hypertension. Results from a national prospective registry. *Ann Intern Med* 1991;**115**:343-349.
8. Mehta SR, Eikelboom JW, Natarajan MK, Diaz R, Yi C, Gibbons RJ, Yusuf S. Impact of right ventricular involvement on mortality and morbidity in patients with inferior myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2001;**37**:37-43.
9. Bristow MR, Zisman LS, Lowes BD, Abraham WT, Badesch DB, Groves BM, Voelkel NF, Lynch DM, Quaife RA. The pressure-overloaded right ventricle in pulmonary hypertension. *Chest* 1998;**114**:101S-106S.
10. Voelkel NF, Quaife RA, Leinwand LA, Barst RJ, McGoon MD, Meldrum DR, Dupuis J, Long CS, Rubin LJ, Smart FW, Suzuki YJ, Gladwin M, Denholm EM, Gail DB, National Heart L, Blood Institute Working Group on C, Molecular Mechanisms of Right Heart F. Right ventricular function and failure: report of a National Heart, Lung, and Blood Institute

- working group on cellular and molecular mechanisms of right heart failure. *Circulation* 2006;**114**:1883-1891.
11. Badesch DB, Champion HC, Sanchez MA, Hoeper MM, Loyd JE, Manes A, McGoon M, Naeije R, Olschewski H, Oudiz RJ, Torbicki A. Diagnosis and assessment of pulmonary arterial hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2009;**54**:S55-66.
 12. Simonneau G, Robbins IM, Beghetti M, Channick RN, Delcroix M, Denton CP, Elliott CG, Gaine SP, Gladwin MT, Jing ZC, Krowka MJ, Langleben D, Nakanishi N, Souza R. Updated clinical classification of pulmonary hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2009;**54**:S43-54.
 13. Ponikowski P, Voors AA, Anker SD, Bueno H, Cleland JG, Coats AJ, Falk V, Gonzalez-Juanatey JR, Harjola VP, Jankowska EA, Jessup M, Linde C, Nihoyannopoulos P, Parissis JT, Pieske B, Riley JP, Rosano GM, Ruilope LM, Ruschitzka F, Rutten FH, van der Meer P, Authors/Task Force M. 2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: The Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC) Developed with the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *Eur Heart J* 2016;**37**:2129-2200.
 14. Campo A, Mathai SC, Le Pavec J, Zaiman AL, Hummers LK, Boyce D, Houston T, Lechtzin N, Chami H, Girgis RE, Hassoun PM. Outcomes of hospitalisation for right heart failure in pulmonary arterial hypertension. *Eur Respir J* 2011;**38**:359-367.
 15. McLaughlin VV, Presberg KW, Doyle RL, Abman SH, McCrory DC, Fortin T, Ahearn G, American College of Chest P. Prognosis of pulmonary arterial hypertension: ACCP evidence-based clinical practice guidelines. *Chest* 2004;**126**:78S-92S.
 16. Cantor WJ, Harrison DA, Moussadji JS, Connelly MS, Webb GD, Liu P, McLaughlin PR, Siu SC. Determinants of survival and length of survival in adults with Eisenmenger syndrome. *Am J Cardiol* 1999;**84**:677-681.
 17. Van De Bruaene A, De Meester P, Voigt JU, Delcroix M, Pasquet A, De Backer J, De Pauw M, Naeije R, Vachiery JL, Paelinck B, Morissens M, Budts W. Right ventricular function in patients with Eisenmenger syndrome. *Am J Cardiol* 2012;**109**:1206-1211.
 18. Haddad F, Ashley E, Michelakis ED. New insights for the diagnosis and management of right ventricular failure, from molecular imaging to targeted right ventricular therapy. *Current opinion in cardiology* 2010;**25**:131-140.

19. Humbert M, Sitbon O, Chaouat A, Bertocchi M, Habib G, Gressin V, Yaici A, Weitzenblum E, Cordier JF, Chabot F, Dromer C, Pison C, Reynaud-Gaubert M, Haloun A, Laurent M, Hachulla E, Cottin V, Degano B, Jais X, Montani D, Souza R, Simonneau G. Survival in patients with idiopathic, familial, and anorexigen-associated pulmonary arterial hypertension in the modern management era. *Circulation* 2010;**122**:156-163.
20. Archer SL, Fang YH, Ryan JJ, Piao L. Metabolism and bioenergetics in the right ventricle and pulmonary vasculature in pulmonary hypertension. *Pulm Circ* 2013;**3**:144-152.
21. Piao L, Fang YH, Parikh K, Ryan JJ, Toth PT, Archer SL. Cardiac glutaminolysis: a maladaptive cancer metabolism pathway in the right ventricle in pulmonary hypertension. *J Mol Med (Berl)* 2013;**91**:1185-1197.
22. Schleich JM, Abdulla T, Summers R, Houyel L. An overview of cardiac morphogenesis. *Arch Cardiovasc Dis* 2013;**106**:612-623.
23. Mjaatvedt CH, Nakaoka T, Moreno-Rodriguez R, Norris RA, Kern MJ, Eisenberg CA, Turner D, Markwald RR. The outflow tract of the heart is recruited from a novel heart-forming field. *Dev Biol* 2001;**238**:97-109.
24. Abu-Issa R, Waldo K, Kirby ML. Heart fields: one, two or more? *Dev Biol* 2004;**272**:281-285.
25. Waldo KL, Kumiski DH, Wallis KT, Stadt HA, Hutson MR, Platt DH, Kirby ML. Conotruncal myocardium arises from a secondary heart field. *Development* 2001;**128**:3179-3188.
26. Houyel L. Embryologie du coeur normal. In: SAS EM, ed. Paris, 2009:1-26.
27. Voelkel NF. The Right Ventricle in Health and Disease. In: Rounds SIS, ed. Respiratory Medicine, Humana Press ed: Springer, 2015:303-313.
28. Gittenberger-de Groot AC, Bartelings MM, Poelmann RE, Haak MC, Jongbloed MR. Embryology of the heart and its impact on understanding fetal and neonatal heart disease. *Semin Fetal Neonatal Med* 2013;**18**:237-244.
29. Kirby ML, Waldo KL. Neural crest and cardiovascular patterning. *Circ Res* 1995;**77**:211-215.
30. Scherptong RW, Jongbloed MR, Wisse LJ, Vicente-Steijn R, Bartelings MM, Poelmann RE, Schalij MJ, Gittenberger-De Groot AC. Morphogenesis of outflow tract rotation during cardiac development: the pulmonary push concept. *Dev Dyn* 2012;**241**:1413-1422.

31. Gao Y, Raj JU. Regulation of the pulmonary circulation in the fetus and newborn. *Physiol Rev* 2010;**90**:1291-1335.
32. Hunter LE, Simpson JM. Prenatal screening for structural congenital heart disease. *Nat Rev Cardiol* 2014;**11**:323-334.
33. Taegtmeyer H, Sen S, Vela D. Return to the fetal gene program: a suggested metabolic link to gene expression in the heart. *Ann N Y Acad Sci* 2010;**1188**:191-198.
34. Ascutto RJ, Ross-Ascutto NT. Substrate metabolism in the developing heart. *Semin Perinatol* 1996;**20**:542-563.
35. Haddad F, Hunt SA, Rosenthal DN, Murphy DJ. Right ventricular function in cardiovascular disease, part I: Anatomy, physiology, aging, and functional assessment of the right ventricle. *Circulation* 2008;**117**:1436-1448.
36. Benza R, Biederman R, Murali S, Gupta H. Role of cardiac magnetic resonance imaging in the management of patients with pulmonary arterial hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2008;**52**:1683-1692.
37. Ho SY, Nihoyannopoulos P. Anatomy, echocardiography, and normal right ventricular dimensions. *Heart* 2006;**92 Suppl 1**:i2-13.
38. Schlesinger MJ, Zoll PM, Wessler S. The conus artery; a third coronary artery. *Am Heart J* 1949;**38**:823-836, illust.
39. Dell'Italia LJ. Anatomy and physiology of the right ventricle. *Cardiol Clin* 2012;**30**:167-187.
40. Dell'Italia LJ. The right ventricle: anatomy, physiology, and clinical importance. *Curr Probl Cardiol* 1991;**16**:653-720.
41. Brown SB, Raina A, Katz D, Szerlip M, Wiegers SE, Forfia PR. Longitudinal shortening accounts for the majority of right ventricular contraction and improves after pulmonary vasodilator therapy in normal subjects and patients with pulmonary arterial hypertension. *Chest* 2011;**140**:27-33.
42. Naeije R, Badagliacca R. The overloaded right heart and ventricular interdependence. *Cardiovasc Res* 2017;**113**:1474-1485.
43. Santamore WP, Dell'Italia LJ. Ventricular interdependence: significant left ventricular contributions to right ventricular systolic function. *Prog Cardiovasc Dis* 1998;**40**:289-308.

44. Pennington DG, Merjavy JP, Swartz MT, Codd JE, Barner HB, Lagunoff D, Bashiti H, Kaiser GC, Willman VL. The importance of biventricular failure in patients with postoperative cardiogenic shock. *Ann Thorac Surg* 1985;**39**:16-26.
45. Miyamoto AT, Tanaka S, Matloff JM. Right ventricular function during left heart bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1983;**85**:49-53.
46. Ishihara T, Ferrans VJ, Jones M, Boyce SW, Kawanami O, Roberts WC. Histologic and ultrastructural features of normal human parietal pericardium. *Am J Cardiol* 1980;**46**:744-753.
47. Shabetai R. The pericardium: an essay on some recent developments. *Am J Cardiol* 1978;**42**:1036-1043.
48. Shirato K, Shabetai R, Bhargava V, Franklin D, Ross J, Jr. Alteration of the left ventricular diastolic pressure-segment length relation produced by the pericardium. Effects of cardiac distension and afterload reduction in conscious dogs. *Circulation* 1978;**57**:1191-1198.
49. Tyberg JV, Misbach GA, Glantz SA, Moores WY, Parmley WW. A mechanism for shifts in the diastolic, left ventricular, pressure-volume curve: the role of the pericardium. *Eur J Cardiol* 1978;**7 Suppl**:163-175.
50. Belenkie I, Sas R, Mitchell J, Smith ER, Tyberg JV. Opening the pericardium during pulmonary artery constriction improves cardiac function. *J Appl Physiol (1985)* 2004;**96**:917-922.
51. Lamberts RR, Vaessen RJ, Westerhof N, Stienen GJ. Right ventricular hypertrophy causes impairment of left ventricular diastolic function in the rat. *Basic Res Cardiol* 2007;**102**:19-27.
52. Greyson CR. Pathophysiology of right ventricular failure. *Crit Care Med* 2008;**36**:S57-65.
53. Goldstein JA, Barzilai B, Rosamond TL, Eisenberg PR, Jaffe AS. Determinants of hemodynamic compromise with severe right ventricular infarction. *Circulation* 1990;**82**:359-368.
54. Haddad F, Doyle R, Murphy DJ, Hunt SA. Right ventricular function in cardiovascular disease, part II: pathophysiology, clinical importance, and management of right ventricular failure. *Circulation* 2008;**117**:1717-1731.

55. Santamore WP, Amooore JN. Buffering of respiratory variations in venous return by right ventricle: a theoretical analysis. *Am J Physiol* 1994;**267**:H2163-2170.
56. Denault AY, Haddad F, Jacobsohn E, Deschamps A. Perioperative right ventricular dysfunction. *Curr Opin Anaesthesiol* 2013;**26**:71-81.
57. Huez S, Brimiouille S, Naeije R, Vachiery JL. Feasibility of routine pulmonary arterial impedance measurements in pulmonary hypertension. *Chest* 2004;**125**:2121-2128.
58. Miyamoto S, Nagaya N, Satoh T, Kyotani S, Sakamaki F, Fujita M, Nakanishi N, Miyatake K. Clinical correlates and prognostic significance of six-minute walk test in patients with primary pulmonary hypertension. Comparison with cardiopulmonary exercise testing. *American journal of respiratory and critical care medicine* 2000;**161**:487-492.
59. Chemla D, Castelain V, Provencher S, Humbert M, Simonneau G, Herve P. Evaluation of various empirical formulas for estimating mean pulmonary artery pressure by using systolic pulmonary artery pressure in adults. *Chest* 2009;**135**:760-768.
60. Azarian R, Wartski M, Collignon MA, Parent F, Herve P, Sors H, Simonneau G. Lung perfusion scans and hemodynamics in acute and chronic pulmonary embolism. *J Nucl Med* 1997;**38**:980-983.
61. Champion HC, Michelakis ED, Hassoun PM. Comprehensive invasive and noninvasive approach to the right ventricle-pulmonary circulation unit: state of the art and clinical and research implications. *Circulation* 2009;**120**:992-1007.
62. Castelain V, Herve P, Lecarpentier Y, Duroux P, Simonneau G, Chemla D. Pulmonary artery pulse pressure and wave reflection in chronic pulmonary thromboembolism and primary pulmonary hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2001;**37**:1085-1092.
63. Sunagawa K, Maughan WL, Sagawa K. Optimal arterial resistance for the maximal stroke work studied in isolated canine left ventricle. *Circ Res* 1985;**56**:586-595.
64. Sunagawa K, Sagawa K, Maughan WL. Ventricular interaction with the loading system. *Ann Biomed Eng* 1984;**12**:163-189.
65. Sunagawa K, Yamada A, Senda Y, Kikuchi Y, Nakamura M, Shibahara T, Nose Y. Estimation of the hydromotive source pressure from ejecting beats of the left ventricle. *IEEE Trans Biomed Eng* 1980;**27**:299-305.
66. Morimont P, Lambermont B, Ghuysen A, Gerard P, Kolh P, Lancellotti P, Tchana-Sato V, Desai T, D'Orio V. Effective arterial elastance as an index of pulmonary vascular load. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2008;**294**:H2736-2742.

67. Milnor WR, Conti CR, Lewis KB, O'Rourke MF. Pulmonary arterial pulse wave velocity and impedance in man. *Circ Res* 1969;**25**:637-649.
68. Suga H. Ventricular energetics. *Physiol Rev* 1990;**70**:247-277.
69. Suga H, Sagawa K, Shoukas AA. Load independence of the instantaneous pressure-volume ratio of the canine left ventricle and effects of epinephrine and heart rate on the ratio. *Circ Res* 1973;**32**:314-322.
70. Maughan WL, Shoukas AA, Sagawa K, Weisfeldt ML. Instantaneous pressure-volume relationship of the canine right ventricle. *Circ Res* 1979;**44**:309-315.
71. Dell'Italia LJ. Reperfusion for right ventricular infarction. *N Engl J Med* 1998;**338**:978-980.
72. Burkhoff D, Mirsky I, Suga H. Assessment of systolic and diastolic ventricular properties via pressure-volume analysis: a guide for clinical, translational, and basic researchers. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2005;**289**:H501-512.
73. Guihaire J, Noly PE, Schrepfer S, Mercier O. Advancing knowledge of right ventricular pathophysiology in chronic pressure overload: Insights from experimental studies. *Arch Cardiovasc Dis* 2015;**108**:519-529.
74. Dell'Italia LJ, Walsh RA. Application of a time varying elastance model to right ventricular performance in man. *Cardiovasc Res* 1988;**22**:864-874.
75. Tedford RJ, Mudd JO, Girgis RE, Mathai SC, Zaiman AL, Houston-Harris T, Boyce D, Kelemen BW, Bacher AC, Shah AA, Hummers LK, Wigley FM, Russell SD, Saggari R, Saggari R, Maughan WL, Hassoun PM, Kass DA. Right ventricular dysfunction in systemic sclerosis-associated pulmonary arterial hypertension. *Circ Heart Fail* 2013;**6**:953-963.
76. Brimiouille S, Wauthy P, Ewalenko P, Rondelet B, Vermeulen F, Kerbaul F, Naeije R. Single-beat estimation of right ventricular end-systolic pressure-volume relationship. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003;**284**:H1625-1630.
77. Takeuchi M, Igarashi Y, Tomimoto S, Odake M, Hayashi T, Tsukamoto T, Hata K, Takaoka H, Fukuzaki H. Single-beat estimation of the slope of the end-systolic pressure-volume relation in the human left ventricle. *Circulation* 1991;**83**:202-212.
78. Kuehne T, Yilmaz S, Steendijk P, Moore P, Groenink M, Saaed M, Weber O, Higgins CB, Ewert P, Fleck E, Nagel E, Schulze-Neick I, Lange P. Magnetic resonance imaging analysis of right ventricular pressure-volume loops: in vivo validation and clinical application in patients with pulmonary hypertension. *Circulation* 2004;**110**:2010-2016.

79. Trip P, Kind T, van de Veerdonk MC, Marcus JT, de Man FS, Westerhof N, Vonk-Noordegraaf A. Accurate assessment of load-independent right ventricular systolic function in patients with pulmonary hypertension. *J Heart Lung Transplant* 2013;**32**:50-55.
80. P. Morimont BL, A. Ghuysen, P. Gerard, P. Kolh, V. D'Orio. Le couplage ventriculoartériel: du concept aux applications cliniques. *Réanimation* 2009;**18**:201-206.
81. Guihaire J, Haddad F, Boulate D, Capderou A, Decante B, Flecher E, Eddahibi S, Dorfmueller P, Herve P, Humbert M, Verhoye JP, Dartevelle P, Mercier O, Fadel E. Right ventricular plasticity in a porcine model of chronic pressure overload. *J Heart Lung Transplant* 2014;**33**:194-202.
82. Guihaire J, Haddad F, Boulate D, Decante B, Denault AY, Wu J, Herve P, Humbert M, Dartevelle P, Verhoye JP, Mercier O, Fadel E. Non-invasive indices of right ventricular function are markers of ventricular-arterial coupling rather than ventricular contractility: insights from a porcine model of chronic pressure overload. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging* 2013;**14**:1140-1149.
83. Kass DA, Kelly RP. Ventriculo-arterial coupling: concepts, assumptions, and applications. *Ann Biomed Eng* 1992;**20**:41-62.
84. Sanz J, Conroy J, Narula J. Imaging of the right ventricle. *Cardiol Clin* 2012;**30**:189-203.
85. Sanz J, Garcia-Alvarez A, Fernandez-Friera L, Nair A, Mirelis JG, Sawit ST, Pinney S, Fuster V. Right ventriculo-arterial coupling in pulmonary hypertension: a magnetic resonance study. *Heart* 2012;**98**:238-243.
86. Amsallem M, Kuznetsova T, Hanneman K, Denault A, Haddad F. Right heart imaging in patients with heart failure: a tale of two ventricles. *Current opinion in cardiology* 2016;**31**:469-482.
87. Amsallem M, Sweatt AJ, Aymami MC, Kuznetsova T, Selej M, Lu H, Mercier O, Fadel E, Schnittger I, McConnell MV, Rabinovitch M, Zamanian RT, Haddad F. Right Heart End-Systolic Remodeling Index Strongly Predicts Outcomes in Pulmonary Arterial Hypertension: Comparison With Validated Models. *Circ Cardiovasc Imaging* 2017;**10**.
88. Glower DD, Spratt JA, Snow ND, Kabas JS, Davis JW, Olsen CO, Tyson GS, Sabiston DC, Jr., Rankin JS. Linearity of the Frank-Starling relationship in the intact heart: the concept of preload recruitable stroke work. *Circulation* 1985;**71**:994-1009.

89. Ventura-Clapier R, Garnier A, Veksler V. Energy metabolism in heart failure. *J Physiol* 2004;**555**:1-13.
90. Ventura-Clapier R, Garnier A, Veksler V, Joubert F. Bioenergetics of the failing heart. *Biochim Biophys Acta* 2011;**1813**:1360-1372.
91. Sztark F, Payen JF, Piriou V, Rigoulet M, Ventura-Clapier R, Mazat JP, Leverve X, Janvier G. [Cellular energy metabolism: physiologic and pathologic aspects]. *Ann Fr Anesth Reanim* 1999;**18**:261-269.
92. De Sousa E, Veksler V, Minajeva A, Kaasik A, Mateo P, Mayoux E, Hoerter J, Bigard X, Serrurier B, Ventura-Clapier R. Subcellular creatine kinase alterations. Implications in heart failure. *Circ Res* 1999;**85**:68-76.
93. Gibbs CL. Cardiac energetics. *Physiol Rev* 1978;**58**:174-254.
94. Saks V, Favier R, Guzun R, Schlattner U, Wallimann T. Molecular system bioenergetics: regulation of substrate supply in response to heart energy demands. *J Physiol* 2006;**577**:769-777.
95. Stanley WC, Recchia FA, Lopaschuk GD. Myocardial substrate metabolism in the normal and failing heart. *Physiol Rev* 2005;**85**:1093-1129.
96. Young LH, Coven DL, Russell RR, 3rd. Cellular and molecular regulation of cardiac glucose transport. *J Nucl Cardiol* 2000;**7**:267-276.
97. Young LH, Renfu Y, Russell R, Hu X, Caplan M, Ren J, Shulman GI, Sinusas AJ. Low-flow ischemia leads to translocation of canine heart GLUT-4 and GLUT-1 glucose transporters to the sarcolemma in vivo. *Circulation* 1997;**95**:415-422.
98. Simonsen S, Kjekshus JK. The effect of free fatty acids on myocardial oxygen consumption during atrial pacing and catecholamine infusion in man. *Circulation* 1978;**58**:484-491.
99. Xu KY, Zweier JL, Becker LC. Functional coupling between glycolysis and sarcoplasmic reticulum Ca²⁺ transport. *Circ Res* 1995;**77**:88-97.
100. Depre C, Rider MH, Hue L. Mechanisms of control of heart glycolysis. *Eur J Biochem* 1998;**258**:277-290.
101. Hue L, Taegtmeyer H. The Randle cycle revisited: a new head for an old hat. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2009;**297**:E578-591.
102. Lopaschuk GD, Ussher JR, Folmes CD, Jaswal JS, Stanley WC. Myocardial fatty acid metabolism in health and disease. *Physiol Rev* 2010;**90**:207-258.

103. Stanley WC, Lopaschuk GD, Hall JL, McCormack JG. Regulation of myocardial carbohydrate metabolism under normal and ischaemic conditions. Potential for pharmacological interventions. *Cardiovasc Res* 1997;**33**:243-257.
104. Wisneski JA, Gertz EW, Neese RA, Gruenke LD, Craig JC. Dual carbon-labeled isotope experiments using D-[6-14C] glucose and L-[1,2,3-13C3] lactate: a new approach for investigating human myocardial metabolism during ischemia. *J Am Coll Cardiol* 1985;**5**:1138-1146.
105. Wisneski JA, Gertz EW, Neese RA, Gruenke LD, Morris DL, Craig JC. Metabolic fate of extracted glucose in normal human myocardium. *J Clin Invest* 1985;**76**:1819-1827.
106. Galluzzi L, Kepp O, Kroemer G. Mitochondria: master regulators of danger signalling. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2012;**13**:780-788.
107. McKenzie M, Liolitsa D, Hanna MG. Mitochondrial disease: mutations and mechanisms. *Neurochem Res* 2004;**29**:589-600.
108. Lane N, Martin W. The energetics of genome complexity. *Nature* 2010;**467**:929-934.
109. Schatz G. The protein import system of mitochondria. *J Biol Chem* 1996;**271**:31763-31766.
110. Rimbaud S, Garnier A, Ventura-Clapier R. Mitochondrial biogenesis in cardiac pathophysiology. *Pharmacol Rep* 2009;**61**:131-138.
111. Archer SL. Mitochondrial dynamics--mitochondrial fission and fusion in human diseases. *N Engl J Med* 2013;**369**:2236-2251.
112. Palmer JW, Tandler B, Hoppel CL. Biochemical properties of subsarcolemmal and interfibrillar mitochondria isolated from rat cardiac muscle. *J Biol Chem* 1977;**252**:8731-8739.
113. Brdiczka D, Wallimann T. The importance of the outer mitochondrial compartment in regulation of energy metabolism. *Mol Cell Biochem* 1994;**133-134**:69-83.
114. Perkins GA, Frey TG. Recent structural insight into mitochondria gained by microscopy. *Micron* 2000;**31**:97-111.
115. D'Andrea A, La Gerche A, Golia E, Padalino R, Calabro R, Russo MG, Bossone E. Physiologic and pathophysiologic changes in the right heart in highly trained athletes. *Herz* 2015;**40**:369-378.

116. La Gerche A, Burns AT, Mooney DJ, Inder WJ, Taylor AJ, Bogaert J, Macisaac AI, Heidebuchel H, Prior DL. Exercise-induced right ventricular dysfunction and structural remodelling in endurance athletes. *Eur Heart J* 2012;**33**:998-1006.
117. Poh KK, Ton-Nu TT, Neilan TG, Tournoux FB, Picard MH, Wood MJ. Myocardial adaptation and efficiency in response to intensive physical training in elite speedskaters. *Int J Cardiol* 2008;**126**:346-351.
118. Ujka K, Bastiani L, D'Angelo G, Catuzzo B, Tonacci A, Mrakic-Sposta S, Vezzoli A, Giardini G, Pratali L. Enhanced Right-Chamber Remodeling in Endurance Ultra-Trail Athletes Compared to Marathon Runners Detected by Standard and Speckle-Tracking Echocardiography. *Front Physiol* 2017;**8**:527.
119. Morgan JA, John R, Lee BJ, Oz MC, Naka Y. Is severe right ventricular failure in left ventricular assist device recipients a risk factor for unsuccessful bridging to transplant and post-transplant mortality. *Ann Thorac Surg* 2004;**77**:859-863.
120. Dang NC, Topkara VK, Mercado M, Kay J, Kruger KH, Aboodi MS, Oz MC, Naka Y. Right heart failure after left ventricular assist device implantation in patients with chronic congestive heart failure. *J Heart Lung Transplant* 2006;**25**:1-6.
121. Kukucka M, Stepanenko A, Potapov E, Krabatsch T, Redlin M, Mladenow A, Kuppe H, Hetzer R, Habazettl H. Right-to-left ventricular end-diastolic diameter ratio and prediction of right ventricular failure with continuous-flow left ventricular assist devices. *J Heart Lung Transplant* 2011;**30**:64-69.
122. Yancy CW, Jessup M, Bozkurt B, Butler J, Casey DE, Jr., Drazner MH, Fonarow GC, Geraci SA, Horwich T, Januzzi JL, Johnson MR, Kasper EK, Levy WC, Masoudi FA, McBride PE, McMurray JJ, Mitchell JE, Peterson PN, Riegel B, Sam F, Stevenson LW, Tang WH, Tsai EJ, Wilkoff BL, American College of Cardiology F, American Heart Association Task Force on Practice G. 2013 ACCF/AHA guideline for the management of heart failure: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *J Am Coll Cardiol* 2013;**62**:e147-239.
123. Harjola VP, Mebazaa A, Celutkiene J, Bettex D, Bueno H, Chioncel O, Crespo-Leiro MG, Falk V, Filippatos G, Gibbs S, Leite-Moreira A, Lassus J, Masip J, Mueller C, Mullens W, Naeije R, Nordegraaf AV, Parissis J, Riley JP, Ristic A, Rosano G, Rudiger A, Ruschitzka F, Seferovic P, Sztrymf B, Vieillard-Baron A, Yilmaz MB, Konstantinides S. Contemporary management of acute right ventricular failure: a statement from the Heart Failure

- Association and the Working Group on Pulmonary Circulation and Right Ventricular Function of the European Society of Cardiology. *Eur J Heart Fail* 2016;**18**:226-241.
124. Hrymak C, Strumpher J, Jacobsohn E. Acute Right Ventricle Failure in the Intensive Care Unit: Assessment and Management. *Can J Cardiol* 2017;**33**:61-71.
125. Mertens LL, Friedberg MK. Imaging the right ventricle--current state of the art. *Nat Rev Cardiol* 2010;**7**:551-563.
126. Walmsley J, van Everdingen W, Cramer MJ, Prinzen FW, Delhaas T, Lumens J. Combining computer modelling and cardiac imaging to understand right ventricular pump function. *Cardiovasc Res* 2017;**113**:1486-1498.
127. Kapur NK, Esposito ML, Bader Y, Morine KJ, Kiernan MS, Pham DT, Burkhoff D. Mechanical Circulatory Support Devices for Acute Right Ventricular Failure. *Circulation* 2017;**136**:314-326.
128. Kormos RL, Teuteberg JJ, Pagani FD, Russell SD, John R, Miller LW, Massey T, Milano CA, Moazami N, Sundareswaran KS, Farrar DJ, HeartMate IICI. Right ventricular failure in patients with the HeartMate II continuous-flow left ventricular assist device: incidence, risk factors, and effect on outcomes. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2010;**139**:1316-1324.
129. Lopez M, Amaral CF, Lopes JA, Silva OA. [Criteria for admission and discharge in the intensive treatment of acute myocardial infarction]. *Arq Bras Cardiol* 1981;**37**:167-170.
130. Morine KJ, Kiernan MS, Pham DT, Paruchuri V, Denofrio D, Kapur NK. Pulmonary Artery Pulsatility Index Is Associated With Right Ventricular Failure After Left Ventricular Assist Device Surgery. *J Card Fail* 2016;**22**:110-116.
131. Korabathina R, Heffernan KS, Paruchuri V, Patel AR, Mudd JO, Prutkin JM, Orr NM, Weintraub A, Kimmelstiel CD, Kapur NK. The pulmonary artery pulsatility index identifies severe right ventricular dysfunction in acute inferior myocardial infarction. *Catheter Cardiovasc Interv* 2012;**80**:593-600.
132. Drakos SG, Janicki L, Horne BD, Kfoury AG, Reid BB, Clayson S, Horton K, Haddad F, Li DY, Renlund DG, Fisher PW. Risk factors predictive of right ventricular failure after left ventricular assist device implantation. *Am J Cardiol* 2010;**105**:1030-1035.
133. Aschauer S, Kammerlander AA, Zotter-Tufaro C, Ristl R, Pfaffenberger S, Bachmann A, Duca F, Marzluf BA, Bonderman D, Mascherbauer J. The right heart in heart failure with

- preserved ejection fraction: insights from cardiac magnetic resonance imaging and invasive haemodynamics. *Eur J Heart Fail* 2016;**18**:71-80.
134. Pouleur H, Lefevre J, van Eyll C, Jaumin PM, Charlier AA. Significance of pulmonary input impedance in right ventricular performance. *Cardiovasc Res* 1978;**12**:617-629.
 135. Haddad F, Peterson T, Fuh E, Kudelko KT, de Jesus Perez V, Skhiri M, Vagelos R, Schnittger I, Denault AY, Rosenthal DN, Doyle RL, Zamanian RT. Characteristics and outcome after hospitalization for acute right heart failure in patients with pulmonary arterial hypertension. *Circ Heart Fail* 2011;**4**:692-699.
 136. Robitaille A, Denault AY, Couture P, Belisle S, Fortier A, Guertin MC, Carrier M, Martineau R. Importance of relative pulmonary hypertension in cardiac surgery: the mean systemic-to-pulmonary artery pressure ratio. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2006;**20**:331-339.
 137. Saydain G, Awan A, Manickam P, Kleinow P, Badr S. Pulmonary Hypertension an Independent Risk Factor for Death in Intensive Care Unit: Correlation of Hemodynamic Factors with Mortality. *Clin Med Insights Circ Respir Pulm Med* 2015;**9**:27-33.
 138. Beaubien-Souligny W, Bouchard J, Desjardins G, Lamarche Y, Liszkowski M, Robillard P, Denault A. Extracardiac Signs of Fluid Overload in the Critically Ill Cardiac Patient: A Focused Evaluation Using Bedside Ultrasound. *Can J Cardiol* 2017;**33**:88-100.
 139. Faber MJ, Dalinghaus M, Lankhuizen IM, Steendijk P, Hop WC, Schoemaker RG, Duncker DJ, Lamers JM, Helbing WA. Right and left ventricular function after chronic pulmonary artery banding in rats assessed with biventricular pressure-volume loops. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006;**291**:H1580-1586.
 140. Guihaire J, Haddad F, Noly PE, Boulate D, Decante B, Dartevelle P, Humbert M, Verhoye JP, Mercier O, Fadel E. Right ventricular reserve in a piglet model of chronic pulmonary hypertension. *Eur Respir J* 2015;**45**:709-717.
 141. Rudski LG, Lai WW, Afilalo J, Hua L, Handschumacher MD, Chandrasekaran K, Solomon SD, Louie EK, Schiller NB. Guidelines for the echocardiographic assessment of the right heart in adults: a report from the American Society of Echocardiography endorsed by the European Association of Echocardiography, a registered branch of the European Society of Cardiology, and the Canadian Society of Echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr* 2010;**23**:685-713; quiz 786-688.

142. Dandel M, Hetzer R. Echocardiographic assessment of the right ventricle: Impact of the distinctly load dependency of its size, geometry and performance. *Int J Cardiol* 2016;**221**:1132-1142.
143. Forfia PR, Vachieri JL. Echocardiography in pulmonary arterial hypertension. *Am J Cardiol* 2012;**110**:S16-24.
144. Venkatachalam S, Wu G, Ahmad M. Echocardiographic assessment of the right ventricle in the current era: Application in clinical practice. *Echocardiography* 2017.
145. Forfia PR, Fisher MR, Mathai SC, Houston-Harris T, Hemnes AR, Borlaug BA, Chamera E, Corretti MC, Champion HC, Abraham TP, Girgis RE, Hassoun PM. Tricuspid annular displacement predicts survival in pulmonary hypertension. *American journal of respiratory and critical care medicine* 2006;**174**:1034-1041.
146. Ghio S, Gavazzi A, Campana C, Inserra C, Klersy C, Sebastiani R, Arbustini E, Recusani F, Tavazzi L. Independent and additive prognostic value of right ventricular systolic function and pulmonary artery pressure in patients with chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2001;**37**:183-188.
147. Mazurek JA, Vaidya A, Mathai SC, Roberts JD, Forfia PR. Follow-up tricuspid annular plane systolic excursion predicts survival in pulmonary arterial hypertension. *Pulm Circ* 2017;**7**:361-371.
148. Ghio S, Klersy C, Magrini G, D'Armini AM, Scelsi L, Raineri C, Pasotti M, Serio A, Campana C, Vigano M. Prognostic relevance of the echocardiographic assessment of right ventricular function in patients with idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Int J Cardiol* 2010;**140**:272-278.
149. Meluzin J, Spinarova L, Bakala J, Toman J, Krejci J, Hude P, Kara T, Soucek M. Pulsed Doppler tissue imaging of the velocity of tricuspid annular systolic motion; a new, rapid, and non-invasive method of evaluating right ventricular systolic function. *Eur Heart J* 2001;**22**:340-348.
150. Vogel M, Schmidt MR, Kristiansen SB, Cheung M, White PA, Sorensen K, Redington AN. Validation of myocardial acceleration during isovolumic contraction as a novel noninvasive index of right ventricular contractility: comparison with ventricular pressure-volume relations in an animal model. *Circulation* 2002;**105**:1693-1699.

151. Bruch C, Schmermund A, Marin D, Katz M, Bartel T, Schaar J, Erbel R. Tei-index in patients with mild-to-moderate congestive heart failure. *Eur Heart J* 2000;**21**:1888-1895.
152. Tei C, Ling LH, Hodge DO, Bailey KR, Oh JK, Rodeheffer RJ, Tajik AJ, Seward JB. New index of combined systolic and diastolic myocardial performance: a simple and reproducible measure of cardiac function--a study in normals and dilated cardiomyopathy. *J Cardiol* 1995;**26**:357-366.
153. Ryan JJ, Huston J, Kutty S, Hatton ND, Bowman L, Tian L, Herr JE, Johri AM, Archer SL. Right ventricular adaptation and failure in pulmonary arterial hypertension. *Can J Cardiol* 2015;**31**:391-406.
154. Shimada YJ, Shiota M, Siegel RJ, Shiota T. Accuracy of right ventricular volumes and function determined by three-dimensional echocardiography in comparison with magnetic resonance imaging: a meta-analysis study. *J Am Soc Echocardiogr* 2010;**23**:943-953.
155. Ryo K, Goda A, Onishi T, Delgado-Montero A, Tayal B, Champion HC, Simon MA, Mathier MA, Gladwin MT, Gorcsan J, 3rd. Characterization of right ventricular remodeling in pulmonary hypertension associated with patient outcomes by 3-dimensional wall motion tracking echocardiography. *Circ Cardiovasc Imaging* 2015;**8**.
156. Cameli M, Righini FM, Lisi M, Bennati E, Navarri R, Lunghetti S, Padeletti M, Cameli P, Tsioulpas C, Bernazzali S, Maccherini M, Sani G, Henein M, Mondillo S. Comparison of right versus left ventricular strain analysis as a predictor of outcome in patients with systolic heart failure referred for heart transplantation. *Am J Cardiol* 2013;**112**:1778-1784.
157. Amsallem M, Boulate D, Aymami M, Guihaire J, Selej M, Huo J, Denault AY, McConnell MV, Schnittger I, Fadel E, Mercier O, Zamanian RT, Haddad F. Load Adaptability in Patients With Pulmonary Arterial Hypertension. *Am J Cardiol* 2017;**120**:874-882.
158. Kubba S, Davila CD, Forfia PR. Methods for Evaluating Right Ventricular Function and Ventricular-Arterial Coupling. *Prog Cardiovasc Dis* 2016;**59**:42-51.
159. Vonk Noordegraaf A, Westerhof BE, Westerhof N. The Relationship Between the Right Ventricle and its Load in Pulmonary Hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2017;**69**:236-243.
160. Guazzi M, Bandera F, Pelissero G, Castelvechio S, Menicanti L, Ghio S, Temporelli PL, Arena R. Tricuspid annular plane systolic excursion and pulmonary arterial systolic

- pressure relationship in heart failure: an index of right ventricular contractile function and prognosis. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2013;**305**:H1373-1381.
161. Dandel M, Potapov E, Krabatsch T, Stepanenko A, Low A, Vierecke J, Knosalla C, Hetzer R. Load dependency of right ventricular performance is a major factor to be considered in decision making before ventricular assist device implantation. *Circulation* 2013;**128**:S14-23.
162. Gulati A, Ismail TF, Jabbour A, Alpendurada F, Guha K, Ismail NA, Raza S, Khwaja J, Brown TD, Morarji K, Liodakis E, Roughton M, Wage R, Pakrashi TC, Sharma R, Carpenter JP, Cook SA, Cowie MR, Assomull RG, Pennell DJ, Prasad SK. The prevalence and prognostic significance of right ventricular systolic dysfunction in nonischemic dilated cardiomyopathy. *Circulation* 2013;**128**:1623-1633.
163. Vonk-Noordegraaf A, Souza R. Cardiac magnetic resonance imaging: what can it add to our knowledge of the right ventricle in pulmonary arterial hypertension? *Am J Cardiol* 2012;**110**:25S-31S.
164. McLure LE, Peacock AJ. Cardiac magnetic resonance imaging for the assessment of the heart and pulmonary circulation in pulmonary hypertension. *Eur Respir J* 2009;**33**:1454-1466.
165. van Wolferen SA, Marcus JT, Boonstra A, Marques KM, Bronzwaer JG, Spreeuwenberg MD, Postmus PE, Vonk-Noordegraaf A. Prognostic value of right ventricular mass, volume, and function in idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Eur Heart J* 2007;**28**:1250-1257.
166. Kawut SM, Lima JA, Barr RG, Chahal H, Jain A, Tandri H, Praestgaard A, Bagiella E, Kizer JR, Johnson WC, Kronmal RA, Bluemke DA. Sex and race differences in right ventricular structure and function: the multi-ethnic study of atherosclerosis-right ventricle study. *Circulation* 2011;**123**:2542-2551.
167. Freed BH, Gomberg-Maitland M, Chandra S, Mor-Avi V, Rich S, Archer SL, Jamison EB, Jr., Lang RM, Patel AR. Late gadolinium enhancement cardiovascular magnetic resonance predicts clinical worsening in patients with pulmonary hypertension. *J Cardiovasc Magn Reson* 2012;**14**:11.
168. Garcia-Alvarez A, Garcia-Lunar I, Pereda D, Fernandez-Jimenez R, Sanchez-Gonzalez J, Mirelis JG, Nuno-Ayala M, Sanchez-Quintana D, Fernandez-Friera L, Garcia-Ruiz JM, Pizarro G, Agüero J, Campelos P, Castella M, Sabate M, Fuster V, Sanz J, Ibanez B.

- Association of myocardial T1-mapping CMR with hemodynamics and RV performance in pulmonary hypertension. *JACC Cardiovasc Imaging* 2015;**8**:76-82.
169. Reiter G, Reiter U, Kovacs G, Kainz B, Schmidt K, Maier R, Olschewski H, Rienmueller R. Magnetic resonance-derived 3-dimensional blood flow patterns in the main pulmonary artery as a marker of pulmonary hypertension and a measure of elevated mean pulmonary arterial pressure. *Circ Cardiovasc Imaging* 2008;**1**:23-30.
170. Reiter U, Reiter G, Kovacs G, Stalder AF, Gulsun MA, Greiser A, Olschewski H, Fuchsjager M. Evaluation of elevated mean pulmonary arterial pressure based on magnetic resonance 4D velocity mapping: comparison of visualization techniques. *PLoS One* 2013;**8**:e82212.
171. Ahmadi A, Ohira H, Mielniczuk LM. FDG PET imaging for identifying pulmonary hypertension and right heart failure. *Curr Cardiol Rep* 2015;**17**:555.
172. Bokhari S, Raina A, Rosenweig EB, Schulze PC, Bokhari J, Einstein AJ, Barst RJ, Johnson LL. PET imaging may provide a novel biomarker and understanding of right ventricular dysfunction in patients with idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Circ Cardiovasc Imaging* 2011;**4**:641-647.
173. Oikawa M, Kagaya Y, Otani H, Sakuma M, Demachi J, Suzuki J, Takahashi T, Nawata J, Ido T, Watanabe J, Shirato K. Increased [18F]fluorodeoxyglucose accumulation in right ventricular free wall in patients with pulmonary hypertension and the effect of epoprostenol. *J Am Coll Cardiol* 2005;**45**:1849-1855.
174. Can MM, Kaymaz C, Tanboga IH, Tokgoz HC, Canpolat N, Turkyilmaz E, Sonmez K, Ozdemir N. Increased right ventricular glucose metabolism in patients with pulmonary arterial hypertension. *Clin Nucl Med* 2011;**36**:743-748.
175. Piao L, Fang YH, Cadete VJ, Wietholt C, Urboniene D, Toth PT, Marsboom G, Zhang HJ, Haber I, Rehman J, Lopaschuk GD, Archer SL. The inhibition of pyruvate dehydrogenase kinase improves impaired cardiac function and electrical remodeling in two models of right ventricular hypertrophy: resuscitating the hibernating right ventricle. *J Mol Med (Berl)* 2010;**88**:47-60.
176. Sutendra G, Dromparis P, Paulin R, Zervopoulos S, Haromy A, Nagendran J, Michelakis ED. A metabolic remodeling in right ventricular hypertrophy is associated with decreased angiogenesis and a transition from a compensated to a decompensated state in pulmonary hypertension. *J Mol Med (Berl)* 2013;**91**:1315-1327.

177. Wong YY, Raijmakers P, van Campen J, van der Laarse WJ, Knaapen P, Lubberink M, Ruiter G, Vonk Noordegraaf A, Lammertsma AA. 11C-Acetate clearance as an index of oxygen consumption of the right myocardium in idiopathic pulmonary arterial hypertension: a validation study using 15O-labeled tracers and PET. *J Nucl Med* 2013;**54**:1258-1262.
178. van de Veerdonk MC, Marcus JT, Bogaard HJ, Vonk Noordegraaf A. State of the art: advanced imaging of the right ventricle and pulmonary circulation in humans (2013 Grover Conference series). *Pulm Circ* 2014;**4**:158-168.
179. Simonneau G, Gatzoulis MA, Adatia I, Celermajer D, Denton C, Ghofrani A, Gomez Sanchez MA, Krishna Kumar R, Landzberg M, Machado RF, Olschewski H, Robbins IM, Souza R. Updated clinical classification of pulmonary hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2013;**62**:D34-41.
180. Galie N, Humbert M, Vachiery JL, Gibbs S, Lang I, Torbicki A, Simonneau G, Peacock A, Vonk Noordegraaf A, Beghetti M, Ghofrani A, Gomez Sanchez MA, Hansmann G, Klepetko W, Lancellotti P, Matucci M, McDonagh T, Pierard LA, Trindade PT, Zompatori M, Hoeper M, Aboyans V, Vaz Carneiro A, Achenbach S, Agewall S, Allanore Y, Asteggiano R, Paolo Badano L, Albert Barbera J, Bouvaist H, Bueno H, Byrne RA, Carerj S, Castro G, Erol C, Falk V, Funck-Brentano C, Gorenflo M, Granton J, lung B, Kiely DG, Kirchhof P, Kjellstrom B, Landmesser U, Lekakis J, Lionis C, Lip GY, Orfanos SE, Park MH, Piepoli MF, Ponikowski P, Revel MP, Rigau D, Rosenkranz S, Voller H, Luis Zamorano J. 2015 ESC/ERS Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension: The Joint Task Force for the Diagnosis and Treatment of Pulmonary Hypertension of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Respiratory Society (ERS): Endorsed by: Association for European Paediatric and Congenital Cardiology (AEPC), International Society for Heart and Lung Transplantation (ISHLT). *Eur Heart J* 2016;**37**:67-119.
181. van der Bruggen CEE, Tedford RJ, Handoko ML, van der Velden J, de Man FS. RV pressure overload: from hypertrophy to failure. *Cardiovasc Res* 2017;**113**:1423-1432.
182. Thenappan T, Shah SJ, Rich S, Tian L, Archer SL, Gomberg-Maitland M. Survival in pulmonary arterial hypertension: a reappraisal of the NIH risk stratification equation. *Eur Respir J* 2010;**35**:1079-1087.

183. Lee WT, Ling Y, Sheares KK, Pepke-Zaba J, Peacock AJ, Johnson MK. Predicting survival in pulmonary arterial hypertension in the UK. *Eur Respir J* 2012;**40**:604-611.
184. Haddad F, Spruijt OA, Denault AY, Mercier O, Brunner N, Furman D, Fadel E, Bogaard HJ, Schnittger I, Vrtovec B, Wu JC, de Jesus Perez V, Vonk-Noordegraaf A, Zamanian RT. Right Heart Score for Predicting Outcome in Idiopathic, Familial, or Drug- and Toxin-Associated Pulmonary Arterial Hypertension. *JACC Cardiovasc Imaging* 2015;**8**:627-638.
185. Mahapatra S, Nishimura RA, Sorajja P, Cha S, McGoon MD. Relationship of pulmonary arterial capacitance and mortality in idiopathic pulmonary arterial hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2006;**47**:799-803.
186. Fine NM, Chen L, Bastiansen PM, Frantz RP, Pellikka PA, Oh JK, Kane GC. Outcome prediction by quantitative right ventricular function assessment in 575 subjects evaluated for pulmonary hypertension. *Circ Cardiovasc Imaging* 2013;**6**:711-721.
187. Adir Y, Guazzi M, Offer A, Temporelli PL, Cannito A, Ghio S. Pulmonary hemodynamics in heart failure patients with reduced or preserved ejection fraction and pulmonary hypertension: Similarities and disparities. *Am Heart J* 2017;**192**:120-127.
188. Guazzi M, Naeije R. Pulmonary Hypertension in Heart Failure: Pathophysiology, Pathobiology, and Emerging Clinical Perspectives. *J Am Coll Cardiol* 2017;**69**:1718-1734.
189. Hoepfer MM, Lam CSP, Vachiery JL, Bauersachs J, Gerges C, Lang IM, Bonderman D, Olsson KM, Gibbs JSR, Dorfmueller P, Guazzi M, Galie N, Manes A, Handoko ML, Vonk-Noordegraaf A, Lankeit M, Konstantinides S, Wachter R, Opitz C, Rosenkranz S. Pulmonary hypertension in heart failure with preserved ejection fraction: a plea for proper phenotyping and further research. *Eur Heart J* 2017;**38**:2869-2873.
190. Meyer P, Filippatos GS, Ahmed MI, Iskandrian AE, Bittner V, Perry GJ, White M, Aban IB, Mujib M, Dell'Italia LJ, Ahmed A. Effects of right ventricular ejection fraction on outcomes in chronic systolic heart failure. *Circulation* 2010;**121**:252-258.
191. Dupont M, Mullens W, Skouri HN, Abrahams Z, Wu Y, Taylor DO, Starling RC, Tang WH. Prognostic role of pulmonary arterial capacitance in advanced heart failure. *Circ Heart Fail* 2012;**5**:778-785.
192. Aronson D, Darawsha W, Atamna A, Kaplan M, Makhoul BF, Mutlak D, Lessick J, Carasso S, Reisner S, Agmon Y, Dragu R, Azzam ZS. Pulmonary hypertension, right ventricular

- function, and clinical outcome in acute decompensated heart failure. *J Card Fail* 2013;**19**:665-671.
193. Al-Naamani N, Preston IR, Paulus JK, Hill NS, Roberts KE. Pulmonary Arterial Capacitance Is an Important Predictor of Mortality in Heart Failure With a Preserved Ejection Fraction. *JACC Heart Fail* 2015;**3**:467-474.
 194. Bellavia D, Iacovoni A, Scardulla C, Moja L, Pilato M, Kushwaha SS, Senni M, Clemenza F, Agnese V, Falletta C, Romano G, Maalouf J, Dandel M. Prediction of right ventricular failure after ventricular assist device implant: systematic review and meta-analysis of observational studies. *Eur J Heart Fail* 2017;**19**:926-946.
 195. Kavarana MN, Pessin-Minsley MS, Urtecho J, Catanese KA, Flannery M, Oz MC, Naka Y. Right ventricular dysfunction and organ failure in left ventricular assist device recipients: a continuing problem. *The Annals of thoracic surgery* 2002;**73**:745-750.
 196. Pettinari M, Jacobs S, Rega F, Verbelen T, Droogne W, Meyns B. Are right ventricular risk scores useful? *Eur J Cardiothorac Surg* 2012;**42**:621-626.
 197. Rich JD. Right ventricular failure in patients with left ventricular assist devices. *Cardiol Clin* 2012;**30**:291-302.
 198. Lee S, Kamdar F, Madlon-Kay R, Boyle A, Colvin-Adams M, Pritzker M, John R. Effects of the HeartMate II continuous-flow left ventricular assist device on right ventricular function. *J Heart Lung Transplant* 2010;**29**:209-215.
 199. Mangi AA. Right ventricular dysfunction in patients undergoing left ventricular assist device implantation: predictors, management, and device utilization. *Cardiol Clin* 2011;**29**:629-637.
 200. Sugiki H, Nakashima K, Vermes E, Loisanche D, Kirsch M. Temporary right ventricular support with Impella Recover RD axial flow pump. *Asian Cardiovasc Thorac Ann* 2009;**17**:395-400.
 201. Noly PE, Kirsch M, Quessard A, Leger P, Pavie A, Amour J, Leprince P. Temporary right ventricular support following left ventricle assist device implantation: a comparison of two techniques. *Interact Cardiovasc Thorac Surg* 2014;**19**:49-55.
 202. Schopka S, Haneya A, Rupprecht L, Camboni D, Schmid C, Hilker M. Temporary right heart assist: a minimally invasive approach. *Artif Organs* 2012;**36**:700-704.
 203. Ritchie M, Waggoner AD, Davila-Roman VG, Barzilai B, Trulock EP, Eisenberg PR. Echocardiographic characterization of the improvement in right ventricular function in

- patients with severe pulmonary hypertension after single-lung transplantation. *J Am Coll Cardiol* 1993;**22**:1170-1174.
204. Reesink HJ, Marcus JT, Tulevski, II, Jamieson S, Kloek JJ, Vonk Noordegraaf A, Bresser P. Reverse right ventricular remodeling after pulmonary endarterectomy in patients with chronic thromboembolic pulmonary hypertension: utility of magnetic resonance imaging to demonstrate restoration of the right ventricle. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2007;**133**:58-64.
205. Bhatia SJ, Kirshenbaum JM, Shemin RJ, Cohn LH, Collins JJ, Di Sesa VJ, Young PJ, Mudge GH, Jr., Sutton MG. Time course of resolution of pulmonary hypertension and right ventricular remodeling after orthotopic cardiac transplantation. *Circulation* 1987;**76**:819-826.
206. Eltzhig HK, Mihaljevic T, Byrne JG, Ehlers R, Smith B, Shernan SK. Echocardiographic evidence of right ventricular remodeling after transplantation. *Ann Thorac Surg* 2002;**74**:584-586.
207. Rich S, Pogoriler J, Husain AN, Toth PT, Gomberg-Maitland M, Archer SL. Long-term effects of epoprostenol on the pulmonary vasculature in idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Chest* 2010;**138**:1234-1239.
208. Wong YY, Ruitter G, Lubberink M, Raijmakers PG, Knaapen P, Marcus JT, Boonstra A, Lammertsma AA, Westerhof N, van der Laarse WJ, Vonk-Noordegraaf A. Right ventricular failure in idiopathic pulmonary arterial hypertension is associated with inefficient myocardial oxygen utilization. *Circ Heart Fail* 2011;**4**:700-706.
209. Westerhof BE, Saouti N, van der Laarse WJ, Westerhof N, Vonk Noordegraaf A. Treatment strategies for the right heart in pulmonary hypertension. *Cardiovasc Res* 2017;**113**:1465-1473.
210. Voelkel NF, Gomez-Arroyo J, Abbate A, Bogaard HJ, Nicolls MR. Pathobiology of pulmonary arterial hypertension and right ventricular failure. *Eur Respir J* 2012;**40**:1555-1565.
211. Bogaard HJ, Abe K, Vonk Noordegraaf A, Voelkel NF. The right ventricle under pressure: cellular and molecular mechanisms of right-heart failure in pulmonary hypertension. *Chest* 2009;**135**:794-804.
212. Piao L, Marsboom G, Archer SL. Mitochondrial metabolic adaptation in right ventricular hypertrophy and failure. *J Mol Med (Berl)* 2010;**88**:1011-1020.

213. Hein S, Arnon E, Kostin S, Schonburg M, Elsasser A, Polyakova V, Bauer EP, Klovekorn WP, Schaper J. Progression from compensated hypertrophy to failure in the pressure-overloaded human heart: structural deterioration and compensatory mechanisms. *Circulation* 2003;**107**:984-991.
214. Ryan JJ, Archer SL. The right ventricle in pulmonary arterial hypertension: disorders of metabolism, angiogenesis and adrenergic signaling in right ventricular failure. *Circ Res* 2014;**115**:176-188.
215. Ryan JJ, Archer SL. Emerging concepts in the molecular basis of pulmonary arterial hypertension: part I: metabolic plasticity and mitochondrial dynamics in the pulmonary circulation and right ventricle in pulmonary arterial hypertension. *Circulation* 2015;**131**:1691-1702.
216. Andersen S, Andersen A, Nielsen-Kudsk JE. The renin-angiotensin-aldosterone-system and right heart failure in congenital heart disease. *Int J Cardiol Heart Vasc* 2016;**11**:59-65.
217. de Man FS, Handoko ML, van Ballegoij JJ, Schaliij I, Bogaards SJ, Postmus PE, van der Velden J, Westerhof N, Paulus WJ, Vonk-Noordegraaf A. Bisoprolol delays progression towards right heart failure in experimental pulmonary hypertension. *Circ Heart Fail* 2012;**5**:97-105.
218. de Man FS, Tu L, Handoko ML, Rain S, Ruiter G, Francois C, Schaliij I, Dorfmueller P, Simonneau G, Fadel E, Perros F, Boonstra A, Postmus PE, van der Velden J, Vonk-Noordegraaf A, Humbert M, Eddahibi S, Guignabert C. Dysregulated renin-angiotensin-aldosterone system contributes to pulmonary arterial hypertension. *American journal of respiratory and critical care medicine* 2012;**186**:780-789.
219. Rouleau JL, Kapuku G, Pelletier S, Gosselin H, Adam A, Gagnon C, Lambert C, Meloche S. Cardioprotective effects of ramipril and losartan in right ventricular pressure overload in the rabbit: importance of kinins and influence on angiotensin II type 1 receptor signaling pathway. *Circulation* 2001;**104**:939-944.
220. Bogaard HJ, Natarajan R, Henderson SC, Long CS, Kraskauskas D, Smithson L, Ockaili R, McCord JM, Voelkel NF. Chronic pulmonary artery pressure elevation is insufficient to explain right heart failure. *Circulation* 2009;**120**:1951-1960.

221. Ciarka A, Doan V, Velez-Roa S, Naeije R, van de Borne P. Prognostic significance of sympathetic nervous system activation in pulmonary arterial hypertension. *American journal of respiratory and critical care medicine* 2010;**181**:1269-1275.
222. Bogaard HJ, Natarajan R, Mizuno S, Abbate A, Chang PJ, Chau VQ, Hoke NN, Kraskauskas D, Kasper M, Salloum FN, Voelkel NF. Adrenergic receptor blockade reverses right heart remodeling and dysfunction in pulmonary hypertensive rats. *American journal of respiratory and critical care medicine* 2010;**182**:652-660.
223. Thompson JT, Rackley MS, O'Brien TX. Upregulation of the cardiac homeobox gene Nkx2-5 (CSX) in feline right ventricular pressure overload. *Am J Physiol* 1998;**274**:H1569-1573.
224. Lowes BD, Minobe W, Abraham WT, Rizeq MN, Bohlmeyer TJ, Quaife RA, Roden RL, Dutcher DL, Robertson AD, Voelkel NF, Badesch DB, Groves BM, Gilbert EM, Bristow MR. Changes in gene expression in the intact human heart. Downregulation of alpha-myosin heavy chain in hypertrophied, failing ventricular myocardium. *J Clin Invest* 1997;**100**:2315-2324.
225. Bishop JE, Rhodes S, Laurent GJ, Low RB, Stirewalt WS. Increased collagen synthesis and decreased collagen degradation in right ventricular hypertrophy induced by pressure overload. *Cardiovasc Res* 1994;**28**:1581-1585.
226. Norbert F. Voelkel DS. *The Right Ventricle in Health and Disease*. Springer, 2015.
227. Haupt HM, Hutchins GM, Moore GW. Right ventricular infarction: role of the moderator band artery in determining infarct size. *Circulation* 1983;**67**:1268-1272.
228. Gomez A, Bialostozky D, Zajarias A, Santos E, Palomar A, Martinez ML, Sandoval J. Right ventricular ischemia in patients with primary pulmonary hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2001;**38**:1137-1142.
229. van Wolferen SA, Marcus JT, Westerhof N, Spreeuwenberg MD, Marques KM, Bronzwaer JG, Henkens IR, Gan CT, Boonstra A, Postmus PE, Vonk-Noordegraaf A. Right coronary artery flow impairment in patients with pulmonary hypertension. *Eur Heart J* 2008;**29**:120-127.
230. Brooks H, Kirk ES, Vokonas PS, Urschel CW, Sonnenblick EH. Performance of the right ventricle under stress: relation to right coronary flow. *J Clin Invest* 1971;**50**:2176-2183.
231. Salisbury PF. Coronary artery pressure and strength of right ventricular contraction. *Circ Res* 1955;**3**:633-638.

232. Klima UP, Guerrero JL, Vlahakes GJ. Myocardial perfusion and right ventricular function. *Ann Thorac Cardiovasc Surg* 1999;**5**:74-80.
233. Guyton AC, Lindsey AW, Gilluly JJ. The limits of right ventricular compensation following acute increase in pulmonary circulatory resistance. *Circ Res* 1954;**2**:326-332.
234. Shiojima I, Sato K, Izumiya Y, Schiekofer S, Ito M, Liao R, Colucci WS, Walsh K. Disruption of coordinated cardiac hypertrophy and angiogenesis contributes to the transition to heart failure. *J Clin Invest* 2005;**115**:2108-2118.
235. Friehs I, del Nido PJ. Increased susceptibility of hypertrophied hearts to ischemic injury. *Ann Thorac Surg* 2003;**75**:S678-684.
236. Izumiya Y, Shiojima I, Sato K, Sawyer DB, Colucci WS, Walsh K. Vascular endothelial growth factor blockade promotes the transition from compensatory cardiac hypertrophy to failure in response to pressure overload. *Hypertension* 2006;**47**:887-893.
237. Marcus ML, Koyanagi S, Harrison DG, Doty DB, Hiratzka LF, Eastham CL. Abnormalities in the coronary circulation that occur as a consequence of cardiac hypertrophy. *Am J Med* 1983;**75**:62-66.
238. Sano M, Minamino T, Toko H, Miyauchi H, Orimo M, Qin Y, Akazawa H, Tateno K, Kayama Y, Harada M, Shimizu I, Asahara T, Hamada H, Tomita S, Molkentin JD, Zou Y, Komuro I. p53-induced inhibition of Hif-1 causes cardiac dysfunction during pressure overload. *Nature* 2007;**446**:444-448.
239. Zimmerman HA. The coronary circulation in patients with severe emphysema, cor pulmonale, cyanotic congenital heart disease, and severe anemia. *Dis Chest* 1952;**22**:269-273.
240. Hopkins WE. The remarkable right ventricle of patients with Eisenmenger syndrome. *Coron Artery Dis* 2005;**16**:19-25.
241. Hopkins WE, Waggoner AD. Severe pulmonary hypertension without right ventricular failure: the unique hearts of patients with Eisenmenger syndrome. *Am J Cardiol* 2002;**89**:34-38.
242. Hopkins WE, Ochoa LL, Richardson GW, Trulock EP. Comparison of the hemodynamics and survival of adults with severe primary pulmonary hypertension or Eisenmenger syndrome. *J Heart Lung Transplant* 1996;**15**:100-105.

243. Murray PA, Vatner SF. Reduction of maximal coronary vasodilator capacity in conscious dogs with severe right ventricular hypertrophy. *Circ Res* 1981;**48**:25-33.
244. Archie JP, Fixler DE, Ulliyot DJ, Buckberg GD, Hoffman JI. Regional myocardial blood flow in lambs with concentric right ventricular hypertrophy. *Circ Res* 1974;**34**:143-154.
245. Drakos SG, Kfoury AG, Hammond EH, Reid BB, Revelo MP, Rasmusson BY, Whitehead KJ, Salama ME, Selzman CH, Stehlik J, Clayson SE, Bristow MR, Renlund DG, Li DY. Impact of mechanical unloading on microvasculature and associated central remodeling features of the failing human heart. *J Am Coll Cardiol* 2010;**56**:382-391.
246. Handoko ML, de Man FS, Happe CM, Schaliij I, Musters RJ, Westerhof N, Postmus PE, Paulus WJ, van der Laarse WJ, Vonk-Noordegraaf A. Opposite effects of training in rats with stable and progressive pulmonary hypertension. *Circulation* 2009;**120**:42-49.
247. Zeisberg EM, Tarnavski O, Zeisberg M, Dorfman AL, McMullen JR, Gustafsson E, Chandraker A, Yuan X, Pu WT, Roberts AB, Neilson EG, Sayegh MH, Izumo S, Kalluri R. Endothelial-to-mesenchymal transition contributes to cardiac fibrosis. *Nat Med* 2007;**13**:952-961.
248. Carmeliet P. Angiogenesis in health and disease. *Nat Med* 2003;**9**:653-660.
249. Fong GH. Mechanisms of adaptive angiogenesis to tissue hypoxia. *Angiogenesis* 2008;**11**:121-140.
250. Pugh CW, Ratcliffe PJ. Regulation of angiogenesis by hypoxia: role of the HIF system. *Nat Med* 2003;**9**:677-684.
251. Pugh CW, Ratcliffe PJ. The von Hippel-Lindau tumor suppressor, hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1) degradation, and cancer pathogenesis. *Semin Cancer Biol* 2003;**13**:83-89.
252. Toyota E, Matsunaga T, Chilian WM. Myocardial angiogenesis. *Mol Cell Biochem* 2004;**264**:35-44.
253. Harris AL. Hypoxia--a key regulatory factor in tumour growth. *Nat Rev Cancer* 2002;**2**:38-47.
254. Semenza GL, Nejfelt MK, Chi SM, Antonarakis SE. Hypoxia-inducible nuclear factors bind to an enhancer element located 3' to the human erythropoietin gene. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1991;**88**:5680-5684.
255. Wigerup C, Pahlman S, Bexell D. Therapeutic targeting of hypoxia and hypoxia-inducible factors in cancer. *Pharmacol Ther* 2016;**164**:152-169.

256. Masoud GN, Li W. HIF-1 α pathway: role, regulation and intervention for cancer therapy. *Acta Pharm Sin B* 2015;**5**:378-389.
257. Maxwell PH, Wiesener MS, Chang GW, Clifford SC, Vaux EC, Cockman ME, Wykoff CC, Pugh CW, Maher ER, Ratcliffe PJ. The tumour suppressor protein VHL targets hypoxia-inducible factors for oxygen-dependent proteolysis. *Nature* 1999;**399**:271-275.
258. Ferrara N, Gerber HP, LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med* 2003;**9**:669-676.
259. Tammela T, Enholm B, Alitalo K, Paavonen K. The biology of vascular endothelial growth factors. *Cardiovasc Res* 2005;**65**:550-563.
260. Choi CY, Chan DA, Paulmurugan R, Sutphin PD, Le QT, Koong AC, Zundel W, Gambhir SS, Giaccia AJ. Molecular imaging of hypoxia-inducible factor 1 α and von Hippel-Lindau interaction in mice. *Mol Imaging* 2008;**7**:139-146.
261. Choi YH, Cowan DB, Nathan M, Poutias D, Stamm C, del Nido PJ, McGowan FX, Jr. Myocardial hypertrophy overrides the angiogenic response to hypoxia. *PLoS One* 2008;**3**:e4042.
262. Drake JJ, Bogaard HJ, Mizuno S, Clifton B, Xie B, Gao Y, Dumur CI, Fawcett P, Voelkel NF, Natarajan R. Molecular signature of a right heart failure program in chronic severe pulmonary hypertension. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2011;**45**:1239-1247.
263. Piao L, Sidhu VK, Fang YH, Ryan JJ, Parikh KS, Hong Z, Toth PT, Morrow E, Kutty S, Lopaschuk GD, Archer SL. FOXO1-mediated upregulation of pyruvate dehydrogenase kinase-4 (PDK4) decreases glucose oxidation and impairs right ventricular function in pulmonary hypertension: therapeutic benefits of dichloroacetate. *J Mol Med (Berl)* 2013;**91**:333-346.
264. Weinhouse S. On respiratory impairment in cancer cells. *Science* 1956;**124**:267-269.
265. Battiprolu PK, Hojaye B, Jiang N, Wang ZV, Luo X, Iglewski M, Shelton JM, Gerard RD, Rothermel BA, Gillette TG, Lavandero S, Hill JA. Metabolic stress-induced activation of FoxO1 triggers diabetic cardiomyopathy in mice. *J Clin Invest* 2012;**122**:1109-1118.
266. Hamilton DJ. Mechanisms of disease: is mitochondrial function altered in heart failure? *Methodist Debaquey Cardiovasc J* 2013;**9**:44-48.
267. Daicho T, Yagi T, Abe Y, Ohara M, Marunouchi T, Takeo S, Tanonaka K. Possible involvement of mitochondrial energy-producing ability in the development of right

- ventricular failure in monocrotaline-induced pulmonary hypertensive rats. *J Pharmacol Sci* 2009;**111**:33-43.
268. Puigserver P, Wu Z, Park CW, Graves R, Wright M, Spiegelman BM. A cold-inducible coactivator of nuclear receptors linked to adaptive thermogenesis. *Cell* 1998;**92**:829-839.
269. Ventura-Clapier R, Garnier A, Veksler V. Transcriptional control of mitochondrial biogenesis: the central role of PGC-1alpha. *Cardiovasc Res* 2008;**79**:208-217.
270. Rowe GC, Jiang A, Arany Z. PGC-1 coactivators in cardiac development and disease. *Circ Res* 2010;**107**:825-838.
271. Wu Z, Puigserver P, Andersson U, Zhang C, Adelmant G, Mootha V, Troy A, Cinti S, Lowell B, Scarpulla RC, Spiegelman BM. Mechanisms controlling mitochondrial biogenesis and respiration through the thermogenic coactivator PGC-1. *Cell* 1999;**98**:115-124.
272. Wende AR, Huss JM, Schaeffer PJ, Giguere V, Kelly DP. PGC-1alpha coactivates PDK4 gene expression via the orphan nuclear receptor ERRalpha: a mechanism for transcriptional control of muscle glucose metabolism. *Mol Cell Biol* 2005;**25**:10684-10694.
273. Arany Z, Foo SY, Ma Y, Ruas JL, Bommi-Reddy A, Girnun G, Cooper M, Laznik D, Chinsomboon J, Rangwala SM, Baek KH, Rosenzweig A, Spiegelman BM. HIF-independent regulation of VEGF and angiogenesis by the transcriptional coactivator PGC-1alpha. *Nature* 2008;**451**:1008-1012.
274. Patten IS, Rana S, Shahul S, Rowe GC, Jang C, Liu L, Hacker MR, Rhee JS, Mitchell J, Mahmood F, Hess P, Farrell C, Koullis N, Khankin EV, Burke SD, Tudorache I, Bauersachs J, del Monte F, Hilfiker-Kleiner D, Karumanchi SA, Arany Z. Cardiac angiogenic imbalance leads to peripartum cardiomyopathy. *Nature* 2012;**485**:333-338.
275. Kiely DG, Elliot CA, Sabroe I, Condliffe R. Pulmonary hypertension: diagnosis and management. *BMJ* 2013;**346**:f2028.
276. van de Veerdonk MC, Kind T, Marcus JT, Mauritz GJ, Heymans MW, Bogaard HJ, Boonstra A, Marques KM, Westerhof N, Vonk-Noordegraaf A. Progressive right ventricular dysfunction in patients with pulmonary arterial hypertension responding to therapy. *J Am Coll Cardiol* 2011;**58**:2511-2519.

277. Brater DC, Day B, Burdette A, Anderson S. Bumetanide and furosemide in heart failure. *Kidney Int* 1984;**26**:183-189.
278. Galie N, Hoeper MM, Humbert M, Torbicki A, Vachiery JL, Barbera JA, Beghetti M, Corris P, Gaine S, Gibbs JS, Gomez-Sanchez MA, Jondeau G, Klepetko W, Opitz C, Peacock A, Rubin L, Zellweger M, Simonneau G, Guidelines ESCCfP. Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension: the Task Force for the Diagnosis and Treatment of Pulmonary Hypertension of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Respiratory Society (ERS), endorsed by the International Society of Heart and Lung Transplantation (ISHLT). *Eur Heart J* 2009;**30**:2493-2537.
279. Galie N, Humbert M, Vachiery JL, Gibbs S, Lang I, Torbicki A, Simonneau G, Peacock A, Vonk Noordegraaf A, Beghetti M, Ghofrani A, Sanchez MA, Hansmann G, Klepetko W, Lancellotti P, Matucci M, McDonagh T, Pierard LA, Trindade PT, Zompatori M, Hoeper M. [2015 ESC/ERS Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension]. *Kardiol Pol* 2015;**73**:1127-1206.
280. Galie N, Barbera JA, Frost AE, Ghofrani HA, Hoeper MM, McLaughlin VV, Peacock AJ, Simonneau G, Vachiery JL, Grunig E, Oudiz RJ, Vonk-Noordegraaf A, White RJ, Blair C, Gillies H, Miller KL, Harris JH, Langley J, Rubin LJ, Investigators A. Initial Use of Ambrisentan plus Tadalafil in Pulmonary Arterial Hypertension. *N Engl J Med* 2015;**373**:834-844.
281. Montalescot G, Drobinski G, Meurin P, Maclouf J, Sotirov I, Philippe F, Choussat R, Morin E, Thomas D. Effects of prostacyclin on the pulmonary vascular tone and cardiac contractility of patients with pulmonary hypertension secondary to end-stage heart failure. *Am J Cardiol* 1998;**82**:749-755.
282. Sitbon O, Humbert M, Jais X, Loos V, Hamid AM, Provencher S, Garcia G, Parent F, Herve P, Simonneau G. Long-term response to calcium channel blockers in idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Circulation* 2005;**111**:3105-3111.
283. Stacher E, Graham BB, Hunt JM, Gandjeva A, Groshong SD, McLaughlin VV, Jessup M, Grizzle WE, Aldred MA, Cool CD, Tudor RM. Modern age pathology of pulmonary arterial hypertension. *American journal of respiratory and critical care medicine* 2012;**186**:261-272.
284. Yui Y, Nakajima H, Kawai C, Murakami T. Prostacyclin therapy in patients with congestive heart failure. *Am J Cardiol* 1982;**50**:320-324.

285. Brittain EL, Pugh ME, Wheeler LA, Robbins IM, Loyd JE, Newman JH, Austin ED, Hemnes AR. Prostanoids but not oral therapies improve right ventricular function in pulmonary arterial hypertension. *JACC Heart Fail* 2013;**1**:300-307.
286. Barst RJ, McGoon M, McLaughlin V, Tapson V, Rich S, Rubin L, Wasserman K, Oudiz R, Shapiro S, Robbins IM, Channick R, Badesch D, Rayburn BK, Flinchbaugh R, Sigman J, Arneson C, Jeffs R, Beraprost Study G. Beraprost therapy for pulmonary arterial hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2003;**41**:2119-2125.
287. Schermuly RT, Kreisselmeier KP, Ghofrani HA, Samidurai A, Pullamsetti S, Weissmann N, Schudt C, Ermert L, Seeger W, Grimminger F. Antiremodeling effects of iloprost and the dual-selective phosphodiesterase 3/4 inhibitor tolafentrine in chronic experimental pulmonary hypertension. *Circ Res* 2004;**94**:1101-1108.
288. van Albada ME, Berger RM, Niggebrugge M, van Veghel R, Cromme-Dijkhuis AH, Schoemaker RG. Prostacyclin therapy increases right ventricular capillarisation in a model for flow-associated pulmonary hypertension. *Eur J Pharmacol* 2006;**549**:107-116.
289. Kalra PR, Moon JC, Coats AJ. Do results of the ENABLE (Endothelin Antagonist Bosentan for Lowering Cardiac Events in Heart Failure) study spell the end for non-selective endothelin antagonism in heart failure? *Int J Cardiol* 2002;**85**:195-197.
290. Kaluski E, Cotter G, Leitman M, Milo-Cotter O, Krakover R, Kobrin I, Moriconi T, Rainisio M, Caspi A, Reizin L, Zimlichman R, Vered Z. Clinical and hemodynamic effects of bosentan dose optimization in symptomatic heart failure patients with severe systolic dysfunction, associated with secondary pulmonary hypertension--a multi-center randomized study. *Cardiology* 2008;**109**:273-280.
291. Nagendran J, Archer SL, Soliman D, Gurtu V, Moudgil R, Haromy A, St Aubin C, Webster L, Rebeyka IM, Ross DB, Light PE, Dyck JR, Michelakis ED. Phosphodiesterase type 5 is highly expressed in the hypertrophied human right ventricle, and acute inhibition of phosphodiesterase type 5 improves contractility. *Circulation* 2007;**116**:238-248.
292. Yuyama H, Fujimori A, Sanagi M, Koakutsu A, Sudoh K, Sasamata M, Miyata K. The orally active nonpeptide selective endothelin ETA receptor antagonist YM598 prevents and reverses the development of pulmonary hypertension in monocrotaline-treated rats. *Eur J Pharmacol* 2004;**496**:129-139.

293. Borgdorff MA, Bartelds B, Dickinson MG, Boersma B, Weij M, Zandvoort A, Sillje HH, Steendijk P, de Vroomen M, Berger RM. Sildenafil enhances systolic adaptation, but does not prevent diastolic dysfunction, in the pressure-loaded right ventricle. *Eur J Heart Fail* 2012;**14**:1067-1074.
294. Mouchaers KT, Schalij I, Versteilen AM, Hadi AM, van Nieuw Amerongen GP, van Hinsbergh VW, Postmus PE, van der Laarse WJ, Vonk-Noordegraaf A. Endothelin receptor blockade combined with phosphodiesterase-5 inhibition increases right ventricular mitochondrial capacity in pulmonary arterial hypertension. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2009;**297**:H200-207.
295. Schafer S, Ellinghaus P, Janssen W, Kramer F, Lustig K, Milting H, Kast R, Klein M. Chronic inhibition of phosphodiesterase 5 does not prevent pressure-overload-induced right-ventricular remodelling. *Cardiovasc Res* 2009;**82**:30-39.
296. Jasinska-Stroschein M, Owczarek J, Wesolowska A, Orszulak-Michalak D. Rosuvastatin, sildenafil and their combination in monocrotaline-induced pulmonary hypertension in rat. *Acta Pharm* 2014;**64**:345-353.
297. Redout EM, van der Toorn A, Zuidwijk MJ, van de Kolk CW, van Echteld CJ, Musters RJ, van Hardeveld C, Paulus WJ, Simonides WS. Antioxidant treatment attenuates pulmonary arterial hypertension-induced heart failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2010;**298**:H1038-1047.
298. Dartevelle P, Fadel E, Mussot S, Le Roy Ladurie F. [Surgical treatment of pulmonary arterial hypertension]. *Rev Prat* 2008;**58**:2031-2035.
299. Vuylsteke A, Sharples L, Charman G, Kneeshaw J, Tsui S, Dunning J, Wheaton E, Klein A, Arrowsmith J, Hall R, Jenkins D. Circulatory arrest versus cerebral perfusion during pulmonary endarterectomy surgery (PEACOG): a randomised controlled trial. *Lancet* 2011;**378**:1379-1387.
300. Condliffe R, Kiely DG, Gibbs JS, Corris PA, Peacock AJ, Jenkins DP, Goldsmith K, Coghlan JG, Pepke-Zaba J. Prognostic and aetiological factors in chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Eur Respir J* 2009;**33**:332-338.
301. Condliffe R, Kiely DG, Gibbs JS, Corris PA, Peacock AJ, Jenkins DP, Hodgkins D, Goldsmith K, Hughes RJ, Sheares K, Tsui SS, Armstrong IJ, Torpy C, Crackett R, Carlin CM, Das C, Coghlan JG, Pepke-Zaba J. Improved outcomes in medically and surgically treated

- chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *American journal of respiratory and critical care medicine* 2008;**177**:1122-1127.
302. de Perrot M, McRae K, Shargall Y, Pletsch L, Tan K, Slinger P, Ma M, Paul N, Moric J, Thenganatt J, Mak S, Granton JT. Pulmonary endarterectomy for chronic thromboembolic pulmonary hypertension: the Toronto experience. *Can J Cardiol* 2011;**27**:692-697.
303. de Perrot M, McRae K, Shargall Y, Thenganatt J, Moric J, Mak S, Granton JT. Early postoperative pulmonary vascular compliance predicts outcome after pulmonary endarterectomy for chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Chest* 2011;**140**:34-41.
304. Jenkins D, Mayer E, Screatton N, Madani M. State-of-the-art chronic thromboembolic pulmonary hypertension diagnosis and management. *Eur Respir Rev* 2012;**21**:32-39.
305. Freed DH, Thomson BM, Tsui SS, Dunning JJ, Sheares KK, Pepke-Zaba J, Jenkins DP. Functional and haemodynamic outcome 1 year after pulmonary thromboendarterectomy. *Eur J Cardiothorac Surg* 2008;**34**:525-529; discussion 529-530.
306. Ogino H, Ando M, Matsuda H, Minatoya K, Sasaki H, Nakanishi N, Kyotani S, Imanaka H, Kitamura S. Japanese single-center experience of surgery for chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Ann Thorac Surg* 2006;**82**:630-636.
307. Dartevielle P, Fadel E, Mussot S, Chapelier A, Herve P, de Perrot M, Cerrina J, Ladurie FL, Lehouerou D, Humbert M, Sitbon O, Simonneau G. Chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Eur Respir J* 2004;**23**:637-648.
308. Mauritz GJ, Kind T, Marcus JT, Bogaard HJ, van de Veerdonk M, Postmus PE, Boonstra A, Westerhof N, Vonk-Noordegraaf A. Progressive changes in right ventricular geometric shortening and long-term survival in pulmonary arterial hypertension. *Chest* 2012;**141**:935-943.
309. Mauritz GJ, Vonk-Noordegraaf A, Kind T, Surie S, Kloek JJ, Bresser P, Saouti N, Bosboom J, Westerhof N, Marcus JT. Pulmonary endarterectomy normalizes interventricular dyssynchrony and right ventricular systolic wall stress. *J Cardiovasc Magn Reson* 2012;**14**:5.

310. Reesink HJ, van Delden OM, Kloek JJ, Jansen HM, Reekers JA, Bresser P. Embolization for hemoptysis in chronic thromboembolic pulmonary hypertension: report of two cases and a review of the literature. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2007;**30**:136-139.
311. Sato M, Ando M, Kaneko K, Higuchi Y, Kondo H, Akita K, Ishida M, Takagi Y. Respiratory and hemodynamic changes in patients with chronic thromboembolic pulmonary hypertension 1 year after pulmonary endarterectomy. *Ann Vasc Dis* 2013;**6**:578-582.
312. Thistlethwaite PA, Mo M, Madani MM, Deutsch R, Blanchard D, Kapelanski DP, Jamieson SW. Operative classification of thromboembolic disease determines outcome after pulmonary endarterectomy. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2002;**124**:1203-1211.
313. Andreassen AK, Ragnarsson A, Gude E, Geiran O, Andersen R. Balloon pulmonary angioplasty in patients with inoperable chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Heart* 2013;**99**:1415-1420.
314. Feinstein JA, Goldhaber SZ, Lock JE, Ferndandes SM, Landzberg MJ. Balloon pulmonary angioplasty for treatment of chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Circulation* 2001;**103**:10-13.
315. Inami T, Kataoka M, Shimura N, Ishiguro H, Yanagisawa R, Taguchi H, Fukuda K, Yoshino H, Satoh T. Pulmonary edema predictive scoring index (PEPSI), a new index to predict risk of reperfusion pulmonary edema and improvement of hemodynamics in percutaneous transluminal pulmonary angioplasty. *JACC Cardiovasc Interv* 2013;**6**:725-736.
316. Fukui S, Ogo T, Goto Y, Ueda J, Tsuji A, Sanda Y, Kumasaka R, Arakawa T, Nakanishi M, Fukuda T, Takaki H, Yasuda S, Ogawa H, Nakanishi N. Exercise intolerance and ventilatory inefficiency improve early after balloon pulmonary angioplasty in patients with inoperable chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Int J Cardiol* 2015;**180**:66-68.
317. Mizoguchi H, Ogawa A, Munemasa M, Mikouchi H, Ito H, Matsubara H. Refined balloon pulmonary angioplasty for inoperable patients with chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Circ Cardiovasc Interv* 2012;**5**:748-755.
318. Ikram H, Maslowski AH, Nicholls MG, Espiner EA, Hull FT. Haemodynamic and hormonal effects of captopril in primary pulmonary hypertension. *Br Heart J* 1982;**48**:541-545.
319. Leier CV, Bambach D, Nelson S, Hermiller JB, Huss P, Magorien RD, Unverferth DV. Captopril in primary pulmonary hypertension. *Circulation* 1983;**67**:155-161.

320. Michelakis ED, Sutendra G, Dromparis P, Webster L, Haromy A, Niven E, Maguire C, Gammer TL, Mackey JR, Fulton D, Abdulkarim B, McMurtry MS, Petruk KC. Metabolic modulation of glioblastoma with dichloroacetate. *Sci Transl Med* 2010;**2**:31ra34.
321. Stacpoole PW, Kerr DS, Barnes C, Bunch ST, Carney PR, Fennell EM, Felitsyn NM, Gilmore RL, Greer M, Henderson GN, Hutson AD, Neiberger RE, O'Brien RG, Perkins LA, Quisling RG, Shroads AL, Shuster JJ, Silverstein JH, Theriaque DW, Valenstein E. Controlled clinical trial of dichloroacetate for treatment of congenital lactic acidosis in children. *Pediatrics* 2006;**117**:1519-1531.
322. McMurtry MS, Bonnet S, Wu X, Dyck JR, Haromy A, Hashimoto K, Michelakis ED. Dichloroacetate prevents and reverses pulmonary hypertension by inducing pulmonary artery smooth muscle cell apoptosis. *Circ Res* 2004;**95**:830-840.
323. Michelakis ED, McMurtry MS, Wu XC, Dyck JR, Moudgil R, Hopkins TA, Lopaschuk GD, Puttagunta L, Waite R, Archer SL. Dichloroacetate, a metabolic modulator, prevents and reverses chronic hypoxic pulmonary hypertension in rats: role of increased expression and activity of voltage-gated potassium channels. *Circulation* 2002;**105**:244-250.
324. Fang YH, Piao L, Hong Z, Toth PT, Marsboom G, Bache-Wiig P, Rehman J, Archer SL. Therapeutic inhibition of fatty acid oxidation in right ventricular hypertrophy: exploiting Randle's cycle. *J Mol Med (Berl)* 2012;**90**:31-43.
325. Tuunanen H, Engblom E, Naum A, Nagren K, Scheinin M, Hesse B, Juhani Airaksinen KE, Nuutila P, Iozzo P, Ukkonen H, Opie LH, Knuuti J. Trimetazidine, a metabolic modulator, has cardiac and extracardiac benefits in idiopathic dilated cardiomyopathy. *Circulation* 2008;**118**:1250-1258.
326. Tian L, Neuber-Hess M, Mewburn J, Dasgupta A, Dunham-Snary K, Wu D, Chen KH, Hong Z, Sharp WW, Kutty S, Archer SL. Ischemia-induced Drp1 and Fis1-mediated mitochondrial fission and right ventricular dysfunction in pulmonary hypertension. *J Mol Med (Berl)* 2017;**95**:381-393.
327. Guihaire J, Bogaard HJ, Flecher E, Noly PE, Mercier O, Haddad F, Fadel E. Experimental models of right heart failure: a window for translational research in pulmonary hypertension. *Semin Respir Crit Care Med* 2013;**34**:689-699.
328. Guihaire J, Deuse T, Wang D, Fadel E, Reichenspurner H, Schrepfer S. Sex Differences in Immunology: More Severe Development of Experimental Pulmonary Hypertension in

- Male Rats Exposed to Vascular Endothelial Growth Factor Receptor Blockade. *Biomed Res Int* 2015;**2015**:765292.
329. Mercier O, Tivane A, Dorfmuller P, de Perrot M, Raoux F, Decante B, Eddahibi S, Darteville P, Fadel E. Piglet model of chronic pulmonary hypertension. *Pulm Circ* 2013;**3**:908-915.
330. Noly PE, Guihaire J, Coblenca M, Dorfmuller P, Fadel E, Mercier O. Chronic Thromboembolic Pulmonary Hypertension and Assessment of Right Ventricular Function in the Piglet. *J Vis Exp* 2015:e53133.
331. Sage E, Mercier O, Herve P, Tu L, Darteville P, Eddahibi S, Fadel E. Right lung ischemia induces contralateral pulmonary vasculopathy in an animal model. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2012;**143**:967-973.
332. Rondelet B, Dewachter C, Kerbaul F, Kang X, Fesler P, Brimiouille S, Naeije R, Dewachter L. Prolonged overcirculation-induced pulmonary arterial hypertension as a cause of right ventricular failure. *Eur Heart J* 2011.
333. Rondelet B, Dewachter C, Kerbaul F, Kang X, Fesler P, Brimiouille S, Naeije R, Dewachter L. Prolonged overcirculation-induced pulmonary arterial hypertension as a cause of right ventricular failure. *Eur Heart J* 2012;**33**:1017-1026.
334. Rondelet B, Kerbaul F, Motte S, van Beneden R, Remmelink M, Brimiouille S, McEntee K, Wauthy P, Salmon I, Ketelslegers JM, Naeije R. Bosentan for the prevention of overcirculation-induced experimental pulmonary arterial hypertension. *Circulation* 2003;**107**:1329-1335.
335. Rondelet B, Kerbaul F, Van Beneden R, Motte S, Fesler P, Hubloue I, Remmelink M, Brimiouille S, Salmon I, Ketelslegers JM, Naeije R. Signaling molecules in overcirculation-induced pulmonary hypertension in piglets: effects of sildenafil therapy. *Circulation* 2004;**110**:2220-2225.
336. Blalock A, Taussig HB. Landmark article May 19, 1945: The surgical treatment of malformations of the heart in which there is pulmonary stenosis or pulmonary atresia. By Alfred Blalock and Helen B. Taussig. *JAMA* 1984;**251**:2123-2138.
337. Wilkinson JL. Haemodynamic calculations in the catheter laboratory. *Heart* 2001;**85**:113-120.
338. Cheung MM, Smallhorn JF, Redington AN, Vogel M. The effects of changes in loading conditions and modulation of inotropic state on the myocardial performance index:

- comparison with conductance catheter measurements. *Eur Heart J* 2004;**25**:2238-2242.
339. Caves PK, Stinson EB, Billingham M, Shumway NE. Percutaneous transvenous endomyocardial biopsy in human heart recipients. Experience with a new technique. *Ann Thorac Surg* 1973;**16**:325-336.
340. Kuznetsov AV, Veksler V, Gellerich FN, Saks V, Margreiter R, Kunz WS. Analysis of mitochondrial function in situ in permeabilized muscle fibers, tissues and cells. *Nat Protoc* 2008;**3**:965-976.
341. Makowski MR, Ebersberger U, Nekolla S, Schwaiger M. In vivo molecular imaging of angiogenesis, targeting alphavbeta3 integrin expression, in a patient after acute myocardial infarction. *Eur Heart J* 2008;**29**:2201.
342. Nensa F, Poeppel TD, Beiderwellen K, Schelhorn J, Mahabadi AA, Erbel R, Heusch P, Nassenstein K, Bockisch A, Forsting M, Schlosser T. Hybrid PET/MR imaging of the heart: feasibility and initial results. *Radiology* 2013;**268**:366-373.
343. Schlosser T, Nensa F, Mahabadi AA, Poeppel TD. Hybrid MRI/PET of the heart: a new complementary imaging technique for simultaneous acquisition of MRI and PET data. *Heart* 2013;**99**:351-352.

Mécanismes de la dysfonction ventriculaire droite dans un modèle porcin d'hypertension pulmonaire : focus sur l'ischémie myocardique et la dysfonction mitochondriale

Mots clés : dysfonction ventriculaire droite, hypertension artérielle pulmonaire, mitochondrie, microvascularisation

Résumé : La survenue d'une défaillance ventriculaire droite est associée à une augmentation de mortalité dans de nombreuses situations cliniques, particulièrement chez les patients atteints d'hypertension pulmonaire. Les mécanismes conduisant à la dysfonction et la défaillance du ventricule droit lorsqu'il est soumis à une surcharge chronique de pression sont complexes et demeurent mal connus. Afin de mieux comprendre l'importance de ces mécanismes, nous avons modélisé l'hypertension artérielle pulmonaire chez le porc.

La première partie de ce travail a consisté à mettre en évidence l'association entre l'altération de la microvascularisation et l'adaptation ventriculaire droite à une surcharge de pression. Pour cela, nous avons modélisé l'hypertension pulmonaire chez deux modèles porcins différents. L'un était un modèle de shunt entre la crosse aortique et le tronc de l'artère pulmonaire (SHUNT), l'autre était un modèle d'hypertension artérielle pulmonaire post-embolique (CTEPH). Un remodelage structurel et fonctionnel du ventricule droit était observé dans les 2 modèles. Dans cette étude, nous avons mis en évidence que la dysfonction ventriculaire droite précoce était associée à (1) un mismatch entre la microvascularisation et l'hypertrophie ventriculaire droite, (2) à une baisse du ratio entre la densité capillaire et la charge de travail du ventricule droit et (3) à une augmentation de la fibrose myocardique.

Dans la deuxième partie de cette thèse, nous avons étudié et comparé la densité capillaire et la fibrose myocardique ventriculaire droite chez 14 patients atteints de syndrome d'Eisenmenger et 14 patients atteints d'hypertension artérielle pulmonaire chronique. Ces 28 patients présentaient une défaillance ventriculaire droite symptomatique et avaient été traités par une transplantation cœur-poumon. La densité capillaire ventriculaire droite était identique dans les deux groupes et était environ 1,5 fois plus basse que dans un ventricule droit normal, confirmant l'atteinte microvasculaire chez ces patients.

La troisième partie de ce travail a consisté à étudier les capacités respiratoires mitochondriales au cours du remodelage ventriculaire droit lorsqu'il est soumis à une surcharge chronique de pression. Il a ainsi été montré que, dans notre modèle porcin d'hypertension artérielle pulmonaire post-embolique, les capacités respiratoires étaient globalement diminuées, précocement dans l'évolution et sans diminution de la masse mitochondriale en microscopie électronique.

De manière générale, ces résultats démontrent le rôle de l'atteinte microvasculaire et de la dysfonction mitochondriale dans la dysfonction ventriculaire droite. Les voies moléculaires communes à ces deux mécanismes (PGC-1 α , HIF-1 α entre autres) font l'objet d'étude afin d'identifier de nouvelles cibles thérapeutiques.

Title : Mechanisms of right ventricular dysfunction in a piglet model of chronic pulmonary hypertension: focus on myocardial ischemia and mitochondrial dysfunction.

Keywords : Right ventricular dysfunction, pulmonary hypertension, mitochondrial metabolism, microvascularisation.

Right ventricular failure is associated with an increased mortality in several clinical features, especially in patients with pulmonary hypertension. Underlying mechanisms of right ventricular dysfunction and failure in chronic pressure overload are complex and still subject to debate. The balance between the supply and the increased need in oxygen is crucial to maintain an adapted right ventricular function. However, an impairment of the myocardial microvascularisation could lead to myocardial ischemia and could participate to the transition between adapted and non-adapted right ventricular hypertrophy. As mitochondrion are involved in the entire oxygen-dependent energy production in cardiomyocytes, their integrity is also essential for a good right ventricular function. It is suggested that mitochondrial metabolism is impaired in right ventricular failure. However, only few data exist at the early stage of right ventricular dysfunction. To better understand the importance of such mechanisms, we used a model of chronic pulmonary hypertension in piglets.

The first aim of this thesis was to study the association between microvascularisation impairment and right ventricular adaptation to chronic pressure overload. We compared two different piglet models of pulmonary hypertension. The first model was a systemic-to-pulmonary shunt (SHUNT) between the aortic arch and the pulmonary trunk. The second model reproduced thromboembolic pulmonary hypertension (CTEPH). In this work, we showed that early right ventricular dysfunction was associated with (1) a mismatch

between microvascularisation and right ventricular hypertrophy as showed by a decreased capillary density, (2) an importance of the capillary density to right ventricular stroke work ratio and (3) an increased of myocardial fibrosis.

In the second part of this thesis, we studied and compared the capillary density and myocardial fibrosis in right ventricles of 14 Eisenmenger Syndrome patients and 14 patients with chronic pulmonary arterial hypertension. All 28 patients had symptomatic right ventricular failure and underwent heart-lung transplantation in our institution. Capillary density was not different between the two groups and was almost 1.5-fold lower than in normal right ventricle, confirming the impairment of microvascularisation in these patients.

In the third part of this work, we studied the mitochondrial respiratory capacities in the setting of right ventricular remodeling under chronic pressure overload. Thus, we showed that, in our swine CTEPH model, the mitochondrial respiratory capacities were globally and early impaired. The mitochondrial mass assessed in transmission electronic microscopy was not decreased. We didn't observe any modification of substrate use over time.

Taking together, these results showed that microvascular impairment and mitochondrial dysfunction had an important role in the early right ventricular dysfunction. Molecular pathways involved in both mechanisms are currently studied to find new targeted therapeutics.

