



**HAL**  
open science

# Caractérisation et modulation pharmacologique de la fonction ventriculaire gauche et du couplage contraction-relaxation par la mesure de la torsion et de la détorsion au cours de l'hypertension artérielle chronique

Mathieu Jozwiak

► **To cite this version:**

Mathieu Jozwiak. Caractérisation et modulation pharmacologique de la fonction ventriculaire gauche et du couplage contraction-relaxation par la mesure de la torsion et de la détorsion au cours de l'hypertension artérielle chronique. Médecine humaine et pathologie. Université Paris-Est, 2017. Français. NNT : 2017PESC0013 . tel-01743847

**HAL Id: tel-01743847**

**<https://theses.hal.science/tel-01743847>**

Submitted on 26 Mar 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.

# UNIVERSITE PARIS-EST

ECOLE DOCTORALE : SCIENCES DE LA VIE ET DE LA TERRE

POLE : PHARMACOLOGIE ET BIOTHERAPIES

ANNEE : 2017

SERIE DOCTORAT N°

THESE

Présentée

A L'UNITE DE FORMATION ET DE RECHERCHE

FACULTE DE MEDECINE PARIS-EST

Pour l'obtention du grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE PARIS-EST

Par

**Monsieur Mathieu JOZWIAK**

**CARACTERISATION ET MODULATION PHARMACOLOGIQUE DE  
LA FONCTION VENTRICULAIRE GAUCHE ET DU COUPLAGE  
CONTRACTION-RELAXATION PAR LA MESURE DE LA TORSION  
ET DE LA DETORSION AU COURS DE L'HYPERTENSION  
ARTERIELLE CHRONIQUE**

Soutenu le 21 décembre 2017

JURY :

M. le Professeur Alain BERDEAUX	Président du jury
Mme. le Docteur Jane-Lise SAMUEL	Rapporteur
M. le Professeur Damien LOGEART	Rapporteur
M. le Professeur Patrick ASSAYAG	Examineur
M. le Professeur Xavier MONNET	Examineur
M. le Professeur Bijan GHALEH-MARZBAN	Directeur de thèse

A Mélanie,  
Anna, Paul et Lucas

*"Le travail obstiné surmonte les plus grands obstacles"*

Sénèque

# REMERCIEMENTS

## **A Monsieur le Professeur Alain BERDEAUX**

Pour votre accueil au sein de votre équipe,

Pour votre bienveillance et votre soutien tout au long de ce projet,

Pour votre expertise et vos précieux conseils,

Pour l'honneur que vous me faites de présider ce jury,

Veillez trouver ici l'expression de mon profond respect.

## **A Madame le Docteur Jane-Lise SAMUEL**

Pour l'honneur que vous me faites d'avoir accepté d'être rapporteur de ce travail,

Pour vos remarques et commentaires bienveillants,

Pour l'honneur que vous me faites de participer à ce jury,

Veillez trouver ici l'expression de ma sincère gratitude.

## **A Monsieur le Professeur Damien LOGEART**

Pour l'honneur que vous me faites d'avoir accepté d'être rapporteur de ce travail,

Pour votre intérêt et votre enthousiasme pour ce sujet de recherche,

Pour l'honneur que vous me faites de participer à ce jury,

Veillez trouver ici l'expression de ma sincère gratitude.

## **A Monsieur le Professeur Patrick ASSAYAG**

Pour m'avoir permis de me former à l'échographie cardiaque dans votre service,

Pour vos encouragements et conseils tout au long de ce projet,

Pour l'honneur que vous me faites de participer à ce jury,

Veillez trouver ici l'expression de mon profond respect.

## **A Monsieur le Professeur Xavier MONNET**

Pour m'avoir fait découvrir et aimer la réanimation médicale et la recherche,  
Pour être à mes côtés depuis mes premiers pas à l'hôpital et dans tous mes projets,  
Pour m'avoir soutenu tout au long de ce projet et fait profiter de ton expérience,  
Pour l'honneur que tu me fais de participer à ce jury,  
Trouve ici l'assurance de mon profond respect et de ma sincère reconnaissance.

## **A Monsieur le Professeur Bijan GHALEH-MARZBAN**

Pour avoir accepté de m'encadrer au cours de ces cinq dernières années,  
Pour votre patience, votre disponibilité et toutes ces discussions constructives,  
Pour votre bienveillance tout au long de la rédaction de cette thèse,  
Pour votre capacité à mettre en valeur le travail d'autrui,  
Veuillez trouver ici l'expression de mon profond respect.

## **A Monsieur le Professeur Belaid BOUHEMAD**

Pour m'avoir pris sous ton aile dès notre première rencontre,  
Pour m'avoir encouragé tout au long de ce projet,  
Pour ton enthousiasme communicatif et ta positivité,  
Pour ta patience et ton enseignement de l'échographie cardiaque,  
Trouve ici l'assurance de mon profond respect et de ma sincère amitié.

## **A Monsieur le Docteur Jin-Bo SU**

Pour toutes ces discussions autour de l'hémodynamique,

Pour ton regard avisé et tes précieux conseils pour l'analyse des données,

Pour ton aide sans faille dans la rédaction des différents manuscrits,

Trouve ici l'expression de mon profond respect.

## **A Monsieur Alain BIZE**

Pour ton aide précieuse technique et logistique au quotidien,

Pour ton flegme et ta patience en toutes circonstances,

Pour ton écoute et tes encouragements,

Trouve ici l'expression de ma sincère gratitude.

## **A Monsieur Lucien SAMBIN**

Pour ton aide si précieuse au quotidien,

Pour la bonne ambiance que tu fais régner dans le laboratoire,

Pour ta gentillesse et tous nos échanges,

Trouve ici l'expression de ma sincère gratitude.

## **A Monsieur le Docteur Jonathan MELKA**

Pour ces deux années de collaboration,

Pour ton accueil lors de mon arrivée dans le laboratoire,

Pour tous ces échanges scientifiques constructifs,

Trouve ici l'assurance de mes sincères remerciements.

## **A Monsieur le Docteur Matthias KOHLHAUER**

Pour tous ces moments passés ensemble,

Pour ton enthousiasme et ta gentillesse,

Pour ta curiosité permanente et ces discussions sur tant de sujets éclectiques,

Trouve ici l'assurance de de ma sincère amitié.

## **A Monsieur le Professeur Renaud TISSIER**

Pour tes précieux conseils et ton écoute,

Pour ton enthousiasme communicatif au quotidien,

Pour toutes ces discussions sur des sujets aussi nombreux que variés,

Trouve ici l'assurance de ma sincère gratitude.

# **TABLE DES MATIERES**

<b>LISTE DES FIGURES ET TABLEAUX .....</b>	<b>5</b>
<b>INTRODUCTION .....</b>	<b>10</b>
<b>PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE .....</b>	<b>12</b>
<b>CHAPITRE I. PHYSIOLOGIE DE LA TORSION ET DE LA DETORSION DU VENTRICULE GAUCHE .....</b>	<b>13</b>
<b>I. HISTORIQUE.....</b>	<b>13</b>
<b>II. DEFINITION.....</b>	<b>13</b>
A. Paramètres systoliques.....	14
1. Rotation apicale du ventricule gauche.....	14
2. Rotation basale du ventricule gauche.....	14
3. Torsion du ventricule gauche .....	14
4. Vitesse maximale de torsion du ventricule gauche .....	14
B. Paramètres diastoliques .....	17
1. Détorsion du ventricule gauche .....	17
2. Détorsion du ventricule gauche pendant la relaxation isovolumique.....	17
<b>III. BASE STRUCTURELLE DE LA TORSION ET DE LA DETORSION DU VENTRICULE GAUCHE .....</b>	<b>17</b>
A. Concept du cœur comme pompe hémodynamique .....	17
1. Historique .....	17
2. Les différentes phases du cycle cardiaque.....	18
B. Limites du concept du cœur comme pompe hémodynamique.....	21
1. Limite temporelle .....	21
2. Limite énergétique .....	21
3. Limite mécanique.....	22
C. Concept de la structure en corde ou en double hélice du myocarde .....	23
1. Description du modèle anatomique.....	23
2. Principes généraux de la contractilité du myocarde dans le modèle à double hélice .....	25
3. Description de la contractilité du myocarde dans le modèle à double hélice .....	27
D. Conséquences et implications physiologiques du concept de la structure en corde ou en double hélice du myocarde.....	29
1. Organisation hélicoïdale des fibres myocardiques .....	29
2. Description du cycle cardiaque .....	30
3. Nouvelle définition des différentes phases du cycle cardiaque .....	32
E. Description actuelle de la torsion et la détorsion du ventricule gauche au cours du cycle cardiaque .....	33
1. Au cours de la contraction isovolumique.....	35
2. Au cours de l'éjection ventriculaire.....	36
3. Au cours de la relaxation isovolumique .....	36
4. Au cours du remplissage précoce.....	36
5. Au cours de la diastase et de la systole auriculaire .....	37
<b>IV. LE COUPLAGE CONTRACTION-RELAXATION DU VENTRICULE GAUCHE .....</b>	<b>37</b>
A. Couplage de la torsion et de la détorsion du ventricule gauche .....	37
B. Mécanismes cellulaires .....	37
1. Le phénomène "calcium-induced calcium-release" .....	39
2. La libération de calcium dans le cytosol.....	40
3. La contraction du sarcomère.....	40
4. La recapture de calcium dans le réticulum sarcoplasmique .....	41
5. La relaxation du sarcomère .....	42
6. Rôle du cytosquelette .....	42
<b>V. MESURE DE LA TORSION ET DE LA DETORSION DU VENTRICULE GAUCHE.....</b>	<b>43</b>
A. Techniques invasives .....	44
1. La ciné-angiographie .....	44
2. La sonomicrométrie .....	44
B. Techniques non-invasives.....	44
1. L'imagerie par résonance magnétique.....	44
2. Le Doppler tissulaire en échocardiographie .....	44

3. Le speckle tracking en échocardiographie .....	45
CHAPITRE II. MODULATION PHYSIOLOGIQUE ET MODIFICATION PATHOLOGIQUE DE LA TORSION ET DE LA DETORSION DU VENTRICULE GAUCHE .....	48
I. MODULATIONS PHYSIOLOGIQUES .....	48
A. Modifications des conditions de charge .....	49
1. Effets sur la torsion du ventricule gauche.....	49
2. Effets sur la détorsion du ventricule gauche .....	49
B. Modifications de la contractilité cardiaque .....	50
1. Augmentation de la contractilité.....	50
2. Diminution de la contractilité.....	50
C. Modifications liées à l'effort physique.....	50
D. Modifications liées à l'âge .....	51
II. MODIFICATIONS PATHOLOGIQUES .....	53
A. Cardiomyopathie hypertrophique .....	54
B. Cardiomyopathie dilatée .....	55
C. Cardiopathie ischémique .....	56
D. Insuffisance cardiaque à fraction d'éjection réduite .....	56
E. Péricardite constrictive et cardiopathies restrictives .....	57
F. Cardiopathie valvulaire .....	57
1. Insuffisance mitrale.....	57
2. Rétrécissement aortique .....	58
G. Cardiomyopathie de non-compaction.....	58
H. Cardiotoxicité des chimiothérapies .....	59
CHAPITRE III. TORSION ET DETORSION DU VENTRICULE GAUCHE ET DYSFONCTION DIASTOLIQUE.....	60
I. PHYSIOPATHOLOGIE DE LA DYSFONCTION DIASTOLIQUE.....	60
A. Altération de la relaxation active du ventricule gauche .....	60
1. Modifications des conditions de charge cardiaque .....	60
2. Altérations de l'homéostasie calcique .....	61
3. Modifications du sarcomère et de ses protéines régulatrices .....	62
4. Altérations de la synthèse du monoxyde d'azote .....	62
B. Altération de la compliance passive du ventricule gauche.....	63
1. Modification de la composition de la matrice extracellulaire .....	63
2. Modification des caractéristiques des cardiomyocytes .....	64
3. Modifications neuro-hormonales.....	64
II. TORSION ET DETORSION DU VENTRICULE GAUCHE ET FONCTION DIASTOLIQUE.....	65
A. Rôle de la torsion et de la détorsion du ventricule gauche .....	65
1. Rôle de la torsion du ventricule gauche.....	65
2. Rôle de la détorsion du ventricule gauche .....	66
B. Effets de la dysfonction diastolique sur la torsion et la détorsion du ventricule gauche.....	67
1. Facteurs de risque de la dysfonction diastolique .....	67
2. Effets sur la torsion du ventricule gauche.....	67
3. Effets sur la détorsion du ventricule gauche .....	69
III. EVALUATION DE LA FONCTION DIASTOLIQUE EN CLINIQUE .....	70
A. Evaluation invasive .....	70
1. Evaluation de la relaxation active du ventricule gauche .....	70
2. Evaluation de la compliance passive du ventricule gauche .....	70
B. Evaluation non-invasive.....	71
1. Analyse du flux sanguin mitral.....	71
2. Doppler tissulaire de l'anneau mitral.....	73
3. Vitesse de propagation du flux transmitral .....	74
4. Vitesse maximale du flux d'insuffisance tricuspide .....	74
5. Analyse du flux veineux pulmonaire .....	74
6. Surface ou volume de l'oreillette gauche .....	75
C. Place de la mesure de la torsion et de la détorsion du ventricule gauche.....	75
IV. APPROCHES PHARMACOLOGIQUES DE LA DYSFONCTION DIASTOLIQUE .....	76
A. Approches pharmacologiques non sélectives de la dysfonction diastolique.....	76
1. Les $\beta$ -bloquants.....	76
2. L'ivabradine .....	77

3. Les inhibiteurs calciques .....	78
4. Les inhibiteurs du système rénine-angiotensine-aldostérone.....	78
5. Les antagonistes de l'aldostérone .....	78
6. Les diurétiques .....	79
7. Les digitaliques .....	79
B. Approches pharmacologiques ciblant la dysfonction diastolique .....	80
1. Les modulateurs de la voie de la guanosine monophosphate cyclique (GMPc) .....	80
2. Les inhibiteurs du courant sodique tardif .....	81
3. Le LCZ696.....	82
4. Autres stratégies pharmacologiques en cours d'évaluation .....	82
C. Impact des stratégies pharmacologiques sur la torsion et la détorsion du ventricule gauche.....	83
<b>PARTIE EXPERIMENTALE .....</b>	<b>85</b>
CHAPITRE IV. OBJECTIFS DU TRAVAIL.....	86
CHAPITRE V. MATERIEL ET METHODES .....	88
I. CADRE REGLEMENTAIRE .....	88
II. ANIMAUX .....	88
III. INSTRUMENTATION DES ANIMAUX.....	88
IV. PARAMETRES MESURES.....	90
A. Paramètres hémodynamiques .....	90
1. Mesure des pressions aortique, auriculaire et ventriculaire gauches .....	90
2. Mesure du débit cardiaque .....	91
3. Mesure de l'épaisseur de la paroi et du diamètre interne du ventricule gauche.....	91
4. Mesure des intervalles de temps du cycle cardiaque .....	93
5. Evaluation de la relaxation isovolumique .....	93
6. Evaluation des phases du remplissage ventriculaire gauche .....	94
7. Recueil des données .....	95
B. Paramètres échocardiographiques .....	96
1. Acquisition des coupes échocardiographiques.....	96
2. Mesures morphologiques.....	97
3. Mesures de la fraction d'éjection ventriculaire gauche .....	98
4. Mesures du flux mitral en Doppler pulsé.....	98
5. Mesures de la vitesse de déplacement de l'anneau mitral en Doppler tissulaire .....	98
6. Mesures des temps du cycle cardiaque .....	99
7. Mesures du strain et strain rate radial et circonférentiel du ventricule gauche .....	100
8. Mesures de la torsion et de la détorsion du ventricule gauche .....	105
9. Courbes pression/strain et pression/torsion du ventricule gauche .....	107
V. ANALYSE CELLULAIRE.....	108
A. Isolement des cardiomyocytes.....	108
1. Animaux dédiés.....	108
2. Prélèvement des cœurs .....	108
3. Isolement des cardiomyocytes .....	109
B. Etude de la contractilité.....	110
1. Conditions d'étude.....	110
2. Paramètres mesurés .....	110
C. Etude de l'homéostasie calcique.....	111
1. Etude des transitoires calciques .....	111
2. Etude des canaux transmembranaires du réticulum sarcoplasmique .....	111
3. Etude des récepteurs de la ryanodine de type 2 .....	112
4. Etude de la SERCA2a et du phospholamban.....	113
VI. ANALYSE HISTOLOGIQUE .....	114
VII. PROTOCOLE EXPERIMENTAL .....	114
VIII. JUSTIFICATION DU PROTOCOLE EXPERIMENTAL .....	116
IX. SUBSTANCES UTILISEES.....	117
X. ANALYSES STATISTIQUES .....	118
CHAPITRE VI. MODULATION PHARMACOLOGIQUE DE LA FONCTION VENTRICULAIRE GAUCHE AU COURS DE L'HYPERTENSION ARTERIELLE CHRONIQUE .....	119

<i>I. Contexte et objectifs</i> .....	120
<i>II. Protocole expérimental</i> .....	121
<i>III. Principaux résultats</i> .....	122
A. Effets de l'hypertension artérielle chronique sur la fonction ventriculaire gauche .....	122
B. Anomalies de réponse à la dobutamine .....	123
C. Effets de l'ivabradine sur la fonction ventriculaire gauche .....	124
D. Effets pleiotropes de l'ivabradine .....	126
<i>IV. Commentaires</i> .....	127
<b>CHAPITRE VII. MODULATION PHARMACOLOGIQUE PAR L'IVABRADINE DU REMPLISSAGE VENTRICULAIRE GAUCHE AU COURS DE L'HYPERTENSION ARTERIELLE CHRONIQUE ET ROLE DU COUPLAGE CONTRACTION-RELAXATION</b> .....	128
<i>I. Contexte et objectifs</i> .....	129
<i>II. Protocole expérimental</i> .....	130
<i>III. Principaux résultats</i> .....	130
A. Effets de l'hypertension artérielle chronique sur le remplissage ventriculaire gauche .....	130
B. Effets de l'ivabradine sur le remplissage ventriculaire gauche.....	132
C. Effets pleiotropes de l'ivabradine .....	133
D. Couplage contraction-relaxation et remplissage ventriculaire gauche .....	133
<i>IV. Commentaires</i> .....	136
<b>CHAPITRE VIII. ETUDE DU COUPLAGE CONTRACTION-RELAXATION AU COURS DE L'HYPERTROPHIE VENTRICULAIRE GAUCHE</b> .....	137
<i>I. Contexte et objectifs</i> .....	138
<i>II. Protocole expérimental</i> .....	139
<i>III. Principaux résultats</i> .....	139
A. Effets de l'hypertrophie ventriculaire gauche sur la fonction ventriculaire .....	139
B. Effets de l'hypertrophie ventriculaire gauche sur la torsion et la détorsion .....	140
C. Effets de l'hypertrophie ventriculaire gauche sur le couplage contraction-relaxation .....	142
D. Effets de la dobutamine sur la torsion et la détorsion et le couplage contraction-relaxation .....	144
E. Effets de l'hypertrophie ventriculaire gauche sur les récepteurs de la ryanodine de type 2.....	145
F. Effets de l'hypertrophie ventriculaire gauche sur la SERCA2a et le phospholamban .....	149
<i>IV. Commentaires</i> .....	149
<b>CHAPITRE IX. MODULATION PHARMACOLOGIQUE PAR L'IVABRADINE DE LA TORSION ET DE LA DETORSION DU VENTRICULE GAUCHE AU COURS DE L'HYPERTROPHIE VENTRICULAIRE GAUCHE</b> .....	151
<i>I. Contexte et objectifs</i> .....	152
<i>II. Protocole expérimental</i> .....	152
<i>III. Principaux résultats</i> .....	153
A. Effets de l'hypertrophie ventriculaire gauche sur la torsion et la détorsion .....	153
B. Effets de l'ivabradine sur la fonction ventriculaire.....	155
C. Effets de l'ivabradine sur la torsion.....	158
D. Effets de l'ivabradine sur la détorsion .....	159
<i>IV. Commentaires</i> .....	159
<b>DISCUSSION GENERALE ET PERSPECTIVES</b> .....	161
<b>CONCLUSION</b> .....	168
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b> .....	170

## **LISTE DES FIGURES ET TABLEAUX**

**Figure 1 :** Mouvement de torsion et de rotation apicale et basale du ventricule gauche au cours du cycle cardiaque.

**Figure 2 :** Vitesse du mouvement de torsion et de rotation apicale et basale du ventricule gauche au cours du cycle cardiaque.

**Figure 3 :** Variation des pressions ventriculaire et auriculaire gauches, du volume du ventricule gauche et de la vitesse d'éjection du ventricule gauche au cours du cycle cardiaque.

**Figure 4 :** Mise en évidence de la structure en corde ou en double hélice du myocarde.

**Figure 5 :** Analogie entre le fonctionnement d'un moteur à combustion et le mouvement du cœur au cours du cycle cardiaque.

**Figure 6 :** Mouvement de torsion et de détorsion du ventricule gauche au cours du cycle cardiaque.

**Figure 7 :** Organisation hélicoïdale des fibres myocardiques du ventricule gauche.

**Figure 8 :** Nouvelle description du cycle cardiaque selon le concept de la structure en corde ou en double hélice du myocarde.

**Figure 9 :** Chronologie de la torsion et de la détorsion du ventricule gauche dans le cycle cardiaque.

**Figure 10 :** Sens du mouvement de torsion et de détorsion du ventricule gauche au cours du cycle cardiaque.

**Figure 11 :** Schéma de l'homéostasie calcique.

**Figure 12 :** Représentation schématique d'un sarcomère.

**Figure 13 :** Mesure de la rotation apicale et basale du ventricule gauche par la technique de *speckle tracking*.

**Figure 14 :** Principaux paramètres échocardiographiques permettant d'évaluer la fonction diastolique ventriculaire gauche.

**Figure 15 :** Instrumentation chronique des animaux pour l'obtention des différents paramètres hémodynamiques.

**Figure 16 :** Principe de mesure de l'épaisseur pariétale et du diamètre interne du ventricule gauche par sonomicrométrie.

**Figure 17 :** Définition des différentes phases du remplissage du ventricule gauche.

**Figure 18 :** Coupes parasternales petit axe du ventricule gauche nécessaires pour la mesure de la torsion et de la détorsion ainsi que la mesure du strain radial et circonférentiel du ventricule gauche.

**Figure 19 :** Evaluation de la déformation (strain) du myocarde du ventricule gauche dans le plan longitudinal (strain longitudinal), radial (strain radial) et circonférentiel (strain circonférentiel).

**Figure 20 :** Exemple de données brutes de strain radial et circonférentiel.

**Figure 21 :** Déformation du myocarde (strain) et vitesse de déformation myocardique (strain rate) du ventricule gauche dans le plan radial et circonférentiel au cours du cycle cardiaque.

**Figure 22 :** Exemple de données brutes de rotation apicale et basale.

**Figure 23 :** Protocole expérimental.

**Figure 24 :** Protocole expérimental.

**Figure 25 :** Valeurs des différents temps du cycle cardiaque à J0 et après 28 jours d'administration d'angiotensine II.

**Figure 26 :** Effets de la dobutamine sur la relation entre les temps de contraction et de relaxation isovolumiques et la fréquence cardiaque à J0 et après 28 jours d'administration d'angiotensine II.

**Figure 27 :** Effets de l'ivabradine sur les temps de contraction et de relaxation isovolumiques à J0 et après 28 jours d'administration d'angiotensine II sans et lors d'un entraînement électrosystolique.

**Figure 28 :** Effets de la dobutamine et de l'association dobutamine + ivabradine sur les temps de contraction et de relaxation isovolumiques à J0 et après 28 jours d'administration d'angiotensine II sans et lors d'un entraînement électrosystolique.

**Figure 29 :** Effets des variations physiologiques de la fréquence cardiaque sur le remplissage du ventricule gauche à J0 et effets de 28 jours d'administration d'angiotensine II.

**Figure 30 :** Effets de l'ivabradine sur le remplissage du ventricule gauche à J0 et après 28 jours d'administration d'angiotensine II sans et lors d'un entraînement électrosystolique.

**Figure 31 :** Corrélation entre les temps de contraction et de relaxation isovolumiques tout au long du protocole expérimental.

**Figure 32 :** Corrélation entre le temps de contraction isovolumique et le remplissage du ventricule gauche tout au long du protocole expérimental.

**Figure 33 :** Paramètres de fonction diastolique et systolique du ventricule gauche à J0 et après 28 jours d'administration d'angiotensine II.

**Figure 34 :** Caractérisation de la détorsion du ventricule gauche à J0 et après 28 jours d'administration d'angiotensine II.

**Figure 35 :** Corrélation entre la pression télédiastolique ventriculaire gauche et la torsion et la détorsion du ventricule gauche.

**Figure 36 :** Etude du couplage contraction-relaxation.

**Figure 37 :** Caractérisation de la contraction et de la relaxation des cardiomyocytes et de l'homéostasie calcique chez les animaux contrôles et chez les animaux traités par angiotensine II.

**Figure 38 :** Effets de la dobutamine sur la torsion et la détorsion du ventricule gauche à J0 et après 28 jours d'administration d'angiotensine II.

**Figure 39 :** Anomalies systoliques des récepteurs de la ryanodine de type 2 chez les animaux contrôles et chez les animaux traités par angiotensine II.

**Figure 40 :** Anomalies diastoliques des récepteurs de la ryanodine de type 2 chez les animaux contrôles et chez les animaux traités par angiotensine II.

**Figure 41 :** Modifications post-traductionnelles des récepteurs de la ryanodine de type 2 chez les animaux contrôles et chez les animaux traités angiotensine II.

**Figure 42 :** Expression de la SERCA2a et du phospholamban chez les animaux contrôles et chez les animaux traités angiotensine II.

**Figure 43 :** Effets de l'ivabradine sur la torsion, la rotation apicale et basale ainsi que sur la vitesse maximale de torsion du ventricule gauche à J0 et après 28 jours d'administration d'angiotensine II.

**Figure 44 :** Effets de l'ivabradine sur la détorsion du ventricule gauche et ses paramètres dérivés à J0 et après 28 jours d'administration d'angiotensine II.

**Figure 45 :** Effets hémodynamiques de l'ivabradine à J0 et après 28 jours d'administration d'angiotensine II.

**Figure 46 :** Corrélations entre la fréquence cardiaque, la torsion et la détorsion du ventricule gauche à J0 et après 28 jours d'administration d'angiotensine II avant et après administration d'ivabradine.

**Tableau 1 :** Description des différentes phases du cycle cardiaque selon la conception classique et selon la conception de la structure en corde ou en double-hélice du myocarde.

**Tableau 2 :** Principaux avantages et inconvénients des techniques de mesure de la torsion et de la détorsion du ventricule gauche.

**Tableau 3 :** Principales modifications physiologiques de la torsion et de la détorsion du ventricule gauche.

**Tableau 4 :** Torsion et détorsion du ventricule gauche dans les principales pathologies cardiaques.

**Tableau 5 :** Effets de la dysfonction diastolique sur la torsion et la détorsion du ventricule gauche.

**Tableau 6 :** Paramètres hémodynamiques à J0 et J28 chez les animaux traités par angiotensine II et chez les animaux contrôles.

**Tableau 7 :** Mesure des différents temps du cycle cardiaque à J0 et J28 avant et après administration d'ivabradine chez les animaux traités par angiotensine II et chez les animaux contrôles.

**Tableau 8 :** Torsion et ses composantes et détorsion du ventricule gauche à J0 et après 28 jours d'administration d'angiotensine II.

**Tableau 9 :** Effets hémodynamiques de l'ivabradine à J0 et après 28 jours de perfusion d'angiotensine II.

# **INTRODUCTION**

L'hypertension artérielle, première maladie chronique dans le monde, touchait en 2008, d'après l'Organisation Mondiale de la Santé, plus de 40% des adultes âgés de plus de 25 ans, soit près d'un milliard de personnes à travers le monde (1). L'hypertension artérielle est également un des principaux facteurs de risque cardiovasculaire et plus de la moitié des 17 millions de décès par an dans le monde imputables aux maladies cardiovasculaires sont directement liées aux complications de l'hypertension artérielle, en particulier les complications cérébrales avec les accidents vasculaires cérébraux et les complications cardiaques avec les cardiopathies ischémiques et l'insuffisance cardiaque à fraction d'éjection préservée (1).

L'hypertension artérielle est responsable d'un remodelage cardiaque à type d'hypertrophie ventriculaire gauche, initialement considérée comme un mécanisme adaptatif physiologique du cœur à ses nouvelles conditions de charge, permettant au muscle cardiaque de rétablir l'équilibre thermodynamique et de fonctionner avec le meilleur rendement énergétique possible (2). Ainsi, l'hypertrophie ventriculaire gauche, en vertu de la loi de Laplace, permet initialement de corriger la contrainte pariétale du ventricule gauche. Dans un deuxième temps, le mécanisme adaptatif se complique d'effets délétères et l'hypertrophie ventriculaire gauche résulte en des altérations de la fonction ventriculaire gauche diastolique, avec l'apparition de troubles de la relaxation, de la compliance et du remplissage ventriculaires gauches (3, 4), réalisant initialement un tableau de dysfonction diastolique sans altération de la fonction systolique et sans signe clinique patent d'insuffisance cardiaque dénommé « dysfonction diastolique préclinique » et conduisant *in fine*, en l'absence de correction de l'hypertension artérielle à un tableau d'insuffisance cardiaque à fraction d'éjection préservée puis réduite (5).

Ce travail de thèse s'est tout particulièrement intéressé à la caractérisation de la fonction ventriculaire gauche et du couplage contraction-relaxation dans un modèle animal d'hypertension artérielle chronique et d'hypertrophie ventriculaire gauche sans signe clinique d'insuffisance cardiaque, à l'aide de paramètres de fonction ventriculaire intégrant à la fois la dimension temporelle et mécanique de la contraction et de la relaxation ventriculaire gauche, à savoir la torsion et la détorsion du ventricule gauche.

## **PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE**

# CHAPITRE I. PHYSIOLOGIE DE LA TORSION ET DE LA DETORSION DU VENTRICULE GAUCHE

## I. HISTORIQUE

Le mouvement de torsion du ventricule gauche a été décrit pour la première fois par Léonard de Vinci au 16<sup>ème</sup> siècle (6, 7). En 1669, Richard Lower comparait la contraction du myocarde à « l'essorage d'une toile de lin » (8). Ce n'est que trois siècles plus tard, au début des années 1970, que Streeter décrivit de façon détaillée le mouvement de torsion dans une étude *post mortem* menée chez le chien (9), puis que Ian Mc Donald et Nigel Ingels réussirent pour la première fois à mettre en évidence par ciné-angiographie le mouvement de torsion du ventricule gauche chez l'Homme (10, 11). Dans les décennies suivantes, la torsion ainsi que la détorsion du ventricule gauche ont été largement étudiées par sonomicrométrie, puis par des techniques d'imagerie non invasives telles que l'imagerie par résonance magnétique et l'échocardiographie.

Actuellement, l'étude de la torsion et de la détorsion du ventricule gauche représente une approche novatrice de l'étude de la fonction cardiaque et permet une meilleure compréhension de la physiologie et de la physiopathologie cardiaques. Cependant, le caractère chronophage et la complexité liée à l'analyse des données confinent pour le moment l'étude de la torsion et de la détorsion du ventricule gauche au champ de la recherche fondamentale ou clinique et empêchent son essor dans la pratique clinique quotidienne.

## II. DEFINITION

Différentes définitions de la torsion et de la détorsion du ventricule gauche ainsi que des paramètres dérivés sont retrouvées dans la littérature. Un consensus sur le sujet a émergé et permis d'uniformiser ces définitions en 2011 (12) et ce n'est qu'en 2017 que des abaques sur la torsion du ventricule gauche chez le sujet sain ont été publiées (13).

## **A. Paramètres systoliques**

### *1. Rotation apicale du ventricule gauche*

La rotation apicale du ventricule gauche est définie par l'amplitude maximale du mouvement de rotation antihoraire de l'apex du ventricule gauche autour de son grand axe pendant la systole. La rotation s'exprime en degrés (°) et par convention, la rotation apicale a une valeur positive.

### *2. Rotation basale du ventricule gauche*

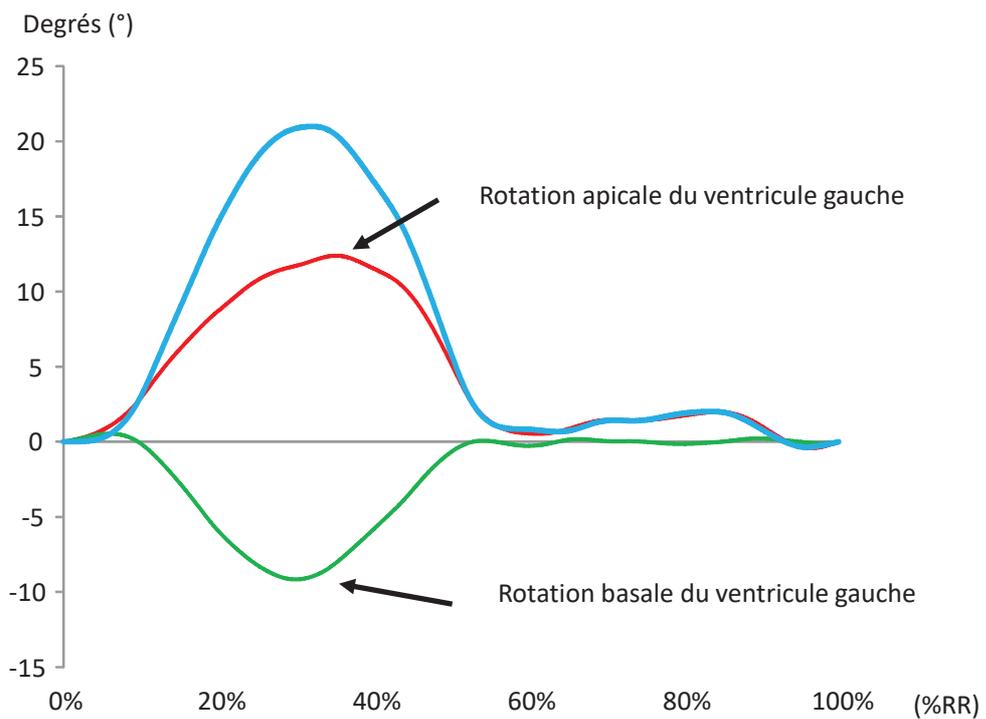
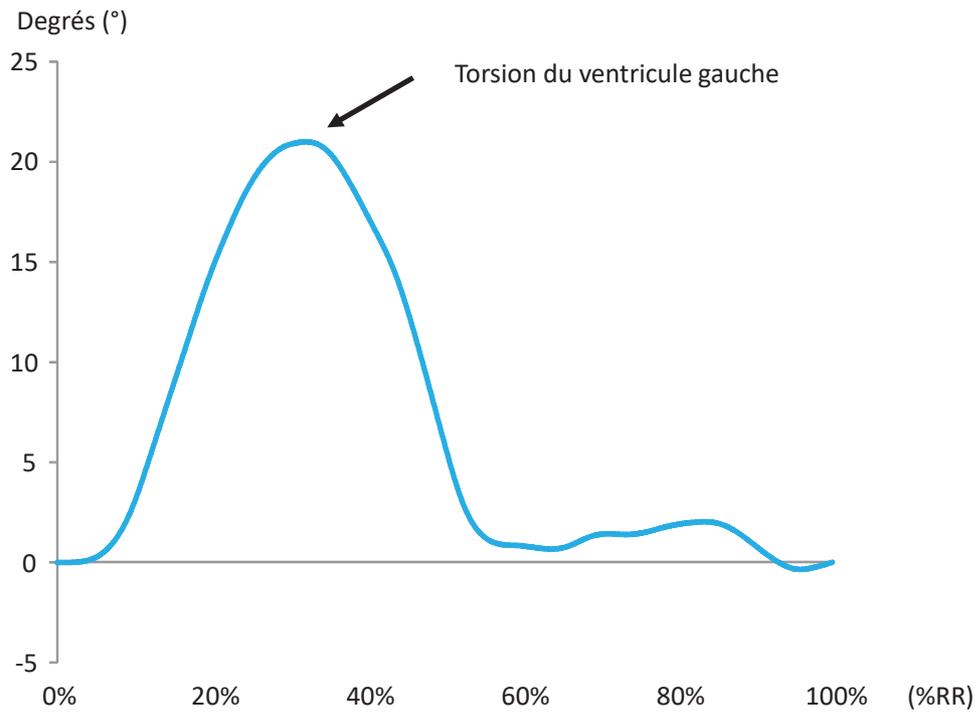
La rotation basale du ventricule gauche est définie par l'amplitude maximale du mouvement de rotation horaire de la base du ventricule gauche autour de son grand axe pendant la systole. La rotation s'exprime en degrés (°) et par convention, la rotation basale a une valeur négative.

### *3. Torsion du ventricule gauche*

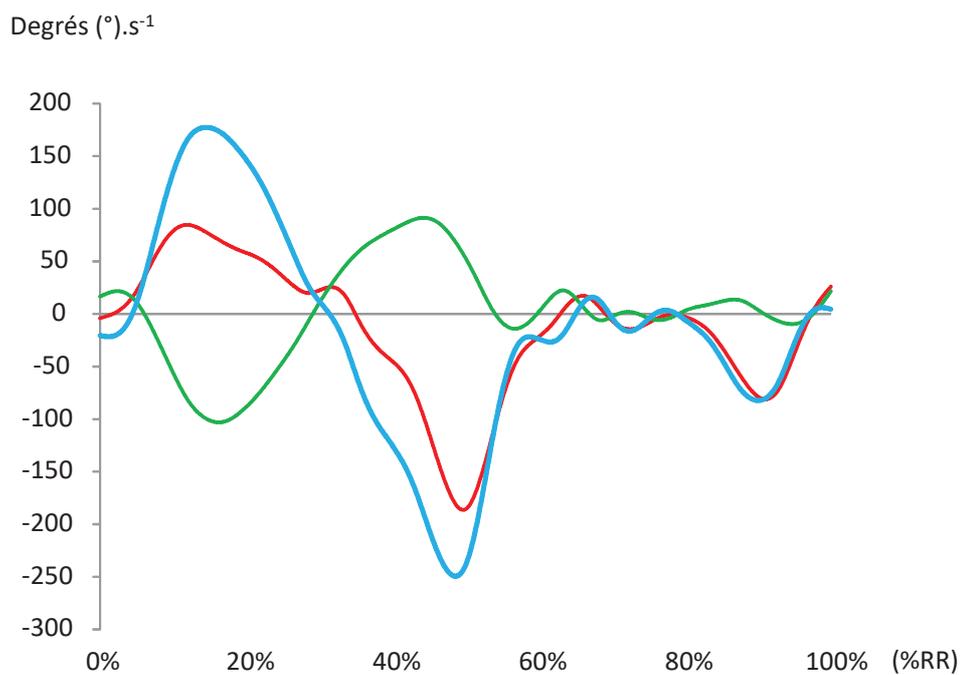
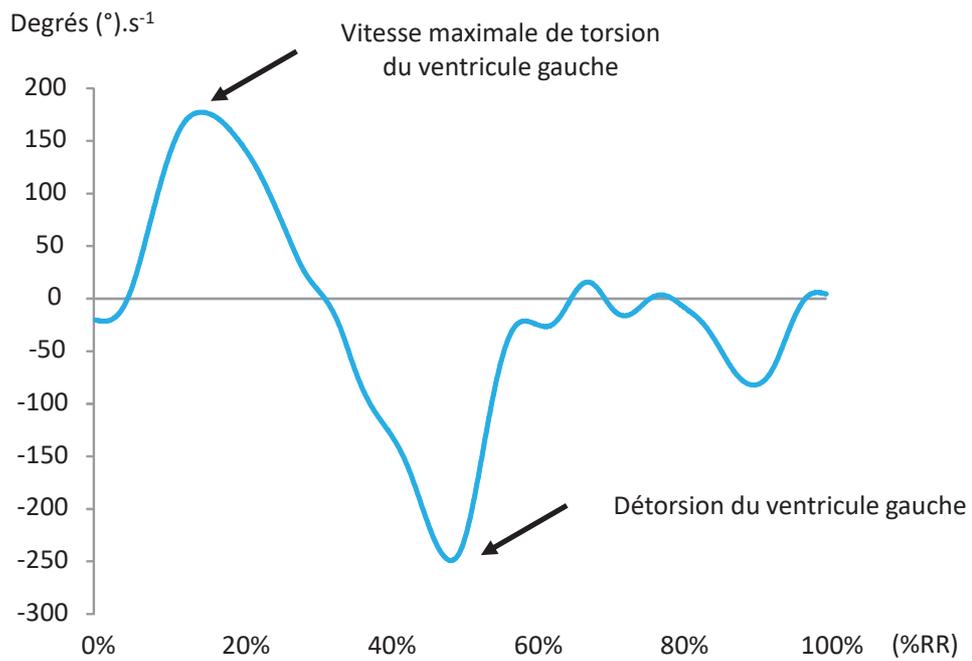
La torsion du ventricule gauche est définie par l'amplitude maximale du mouvement de torsion du ventricule gauche autour de son grand axe au cours de la systole. Elle se calcule en faisant la différence entre la rotation apicale et la rotation basale du ventricule gauche. La torsion s'exprime donc en degrés (°) et par convention a toujours une valeur positive (Figure 1).

### *4. Vitesse maximale de torsion du ventricule gauche*

La vitesse maximale de torsion du ventricule gauche correspond à la valeur maximale de la dérivée première par rapport au temps du mouvement de torsion du ventricule gauche au cours de la systole. La vitesse maximale de torsion du ventricule gauche s'exprime ainsi en degrés(°).s<sup>-1</sup> et par convention a toujours une valeur positive (Figure 2).



**Figure 1.** Mouvement de torsion (courbe bleue), de rotation apicale (courbe rouge) et de rotation basale (courbe verte) du ventricule gauche au cours du cycle cardiaque. Le temps est exprimé en pourcentage de cycle cardiaque, 0% représentant le début du cycle cardiaque et 100% la fin du cycle cardiaque.



**Figure 2.** Vitesse du mouvement de torsion (courbe bleue), de rotation apicale (courbe rouge) et de rotation basale (courbe verte) du ventricule gauche au cours du cycle cardiaque. La détorsion correspond à la vitesse maximale du mouvement de détorsion du ventricule gauche au cours de la diastole. Le temps est exprimé en pourcentage de cycle cardiaque, 0% représentant le début du cycle cardiaque et 100% la fin du cycle cardiaque.

## **B. Paramètres diastoliques**

### *1. Détorsion du ventricule gauche*

La détorsion du ventricule gauche se définit comme la vitesse maximale du mouvement de détorsion du ventricule gauche au cours de la diastole et correspond donc à la valeur maximale de la dérivée première par rapport au temps du mouvement de détorsion du ventricule gauche au cours de la diastole. La détorsion du ventricule gauche s'exprime ainsi en degrés(°).s<sup>-1</sup> et par convention a toujours une valeur négative (Figure 2).

### *2. Détorsion du ventricule gauche pendant la relaxation isovolumique*

La détorsion du ventricule gauche pendant la relaxation isovolumique correspond à la proportion du mouvement de détorsion du ventricule gauche entre la fermeture de la valve aortique et l'ouverture de la valve mitrale. La détorsion du ventricule gauche pendant la relaxation isovolumique est exprimée en pourcentages et est calculée selon la formule suivante : (amplitude maximale du mouvement de torsion du ventricule gauche – amplitude du mouvement de torsion du ventricule gauche à l'ouverture de la valve mitrale) x 100.

## **III. BASE STRUCTURELLE DE LA TORSION ET DE LA DETORSION DU VENTRICULE GAUCHE**

### **A. Concept du cœur comme pompe hémodynamique**

#### *1. Historique*

Le physiologiste William Harvey fut le premier au 17<sup>ème</sup> siècle à assimiler le cœur à une pompe et à décrire la contraction du cœur permettant l'éjection du sang et le remplissage des ventricules par les oreillettes. Jusqu'à la fin du 19<sup>ème</sup> siècle, suite aux travaux entre autre de Starling et Guyton (14, 15), le cœur est ainsi considéré comme une pompe hydraulique dont le fonctionnement est principalement régi par les lois de la physique de Poiseuille, Bernouilli et Fick. En considérant le cœur comme une pompe hydraulique, le rôle des ventricules est négligé et le cœur est assimilé à une simple pompe recevant une certaine quantité de liquide devant être propulsé dans un circuit à haute pression.

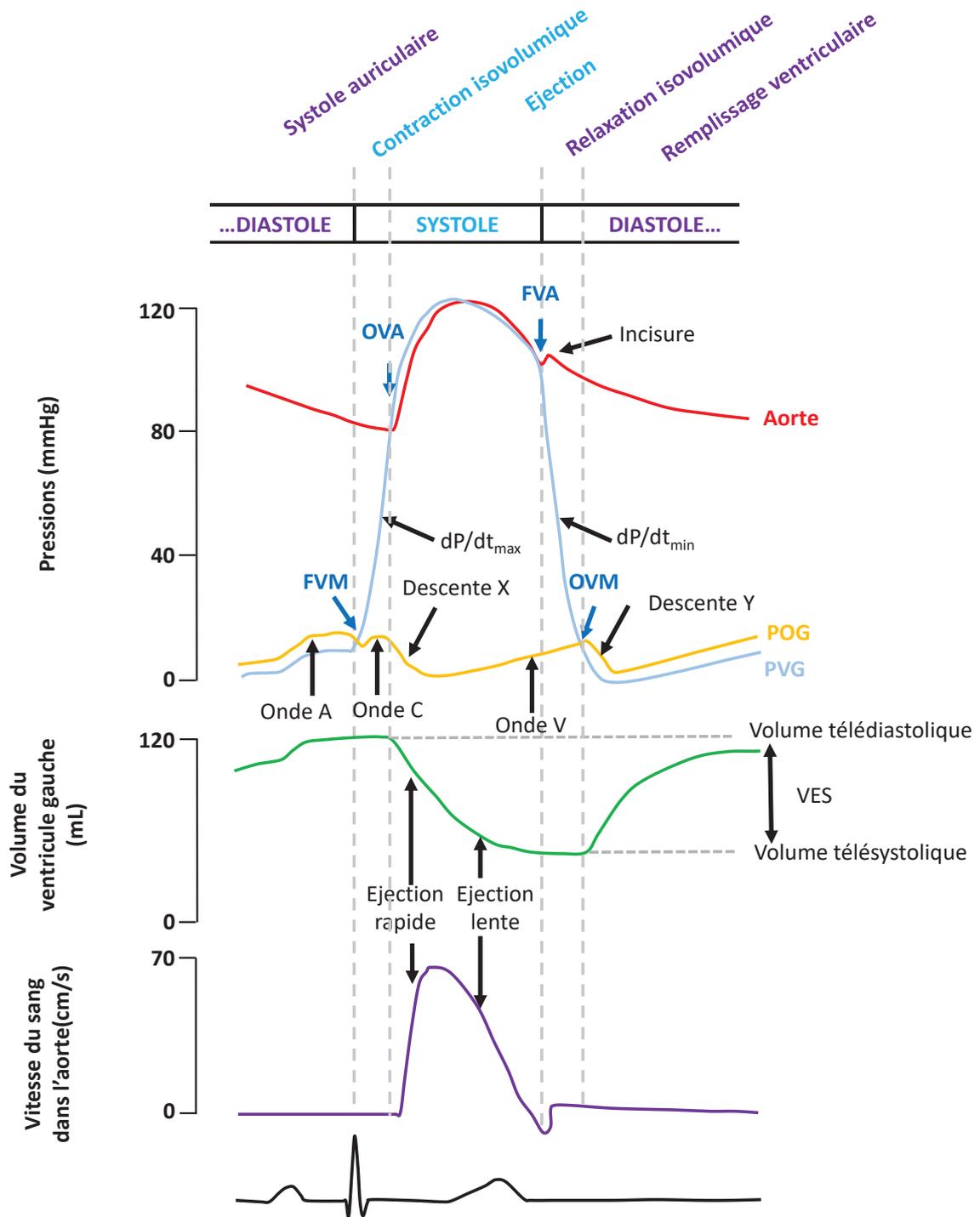
Par la suite, outre les mesures de pression et de débit, les caractéristiques de la pompe cardiaque ont été analysées en intégrant également les variations cycliques du volume ventriculaire. Le cœur est alors considéré comme une pompe hémodynamique et non plus hydraulique (16-21). Cette conception du cœur comme une pompe hémodynamique est la vision qui a prévalu dans la physiologie cardiovasculaire du 20<sup>ème</sup> siècle et qui permet de prendre en compte le rôle des ventricules. Des courbes pression-volume ventriculaire gauche sont construites et émerge le concept que plus le volume ventriculaire télédiastolique est grand, plus la force développée par le ventricule sera importante (16). *In fine*, de ces courbes pression-volume ventriculaire gauche naîtra le concept de cœur à élastance variable (19). Actuellement, la pente de la droite d'élastance ventriculaire, qui peut être obtenue après construction de courbes pression-volume ventriculaire gauche, représente toujours le paramètre de référence pour évaluer la fonction inotrope du cœur.

## 2. Les différentes phases du cycle cardiaque

C'est en considérant le cœur comme une pompe hémodynamique que Wiggers a défini les différentes phases du cycle cardiaque (22), définition actuellement toujours utilisée. Ainsi, la systole comprend une phase de contraction isovolumique et une phase d'éjection. La diastole comprend plusieurs phases successives : la phase de relaxation isovolumique, la phase de remplissage précoce, la diastase et la systole auriculaire (Tableau 1, Figure 3).

DESCRIPTION CLASSIQUE DU CYCLE CARDIAQUE							
	SYSTOLE			DIASTOLE			
<b>Phases</b>	Contraction isovolumique	Ejection rapide	Ejection lente	Relaxation isovolumique	Remplissage précoce	Diastase	Systole auriculaire
<b>Volume du VG</b>	Pas de variation	Diminution		Pas de variation	Augmentation		
DESCRIPTION DU CYCLE CARDIAQUE SELON LA CONCEPTION DE LA STRUCTURE EN CORDE OU EN DOUBLE HELICE DU MYOCARDE							
	SYSTOLE		DIASTOLE				
<b>Phases</b>	Compression	Ejection	Décompression		Succion ventriculaire	Drainage	
<b>Volume du VG</b>	Diminution		Augmentation			Pas de variation	
<b>Mouvement du VG</b>	Diminution du diamètre de la base du cœur	Raccourcissement et torsion	Allongement et détorsion			Elargissement	

**Tableau 1.** Description des différentes phases du cycle cardiaque selon la conception classique et selon la conception de la structure en corde ou en double-hélice du myocarde. VG: ventricule gauche



**Figure 3.** Variation des pressions ventriculaire et auriculaire gauches, du volume du ventricule gauche et de la vitesse d'éjection du ventricule gauche au cours du cycle cardiaque tel que décrit par Wiggers (22). FVM: fermeture de la valve mitrale, OVA: ouverture de la valve aortique, FVA: fermeture de la valve aortique, OVM: ouverture de la valve mitrale, VES: volume d'éjection systolique.

La contraction isovolumique débute avec la fermeture des valves mitrale et tricuspide et s'achève avec l'ouverture des valves aortique et pulmonaire. Cette phase se caractérise par des forces contractiles centripètes du myocarde, qui induisent une augmentation de la pression ventriculaire sans modification du volume ventriculaire.

L'éjection ventriculaire succède directement à la contraction isovolumique et débute à l'ouverture de la valve aortique et pulmonaire, dès que la pression dans le ventricule gauche devient supérieure à la pression aortique et que la pression dans le ventricule droit devient supérieure à la pression dans l'artère pulmonaire. Au cours de l'éjection, la contraction du myocarde est dite auxotonique. L'épaississement des parois ventriculaires et le raccourcissement des ventricules selon leur grand axe réduisent le volume des ventricules et permettent l'éjection du sang dans l'aorte et la circulation périphérique pour le ventricule gauche et dans l'artère pulmonaire pour le ventricule droit. Le gradient de pression entre les ventricules et le réseau artériel ainsi que les caractéristiques (impédance et élastance) du réseau artériel déterminent la vitesse d'éjection du sang. Classiquement, l'éjection ventriculaire est divisée en deux phases. Une phase initiale dite d'éjection rapide au cours de laquelle la pression ventriculaire atteint un maximum. Une phase tardive dite d'éjection lente, marquée par une diminution de l'épaississement du myocarde et de la vitesse d'éjection, mais l'éjection est néanmoins maintenue grâce à l'effet Windkessel (23). Au cours de la phase d'éjection lente, la pression ventriculaire commence également à décroître, jusqu'à devenir inférieure à la pression dans l'aorte et dans l'artère pulmonaire, aboutissant à la fermeture des valves aortique et pulmonaire marquant la fin de l'éjection ventriculaire et donc de la systole.

La relaxation isovolumique débute avec la fermeture des valves aortique et pulmonaire et s'achève avec l'ouverture des valves mitrale et tricuspide. Cette phase se caractérise par la relaxation des ventricules, qui induit une diminution de la pression ventriculaire sans modification du volume ventriculaire. Dès la fin de la relaxation isovolumique et ce jusqu'à la fin de la diastole, la relaxation du myocarde est dite auxotonique.

Le remplissage précoce succède directement à la relaxation isovolumique et débute à l'ouverture des valves mitrale et tricuspide, dès que la pression dans le ventricule gauche devient inférieure à la pression dans l'oreillette gauche et que la pression dans le ventricule droit devient inférieure à la pression dans l'oreillette droite. Le remplissage précoce est médié par le gradient de pression entre les oreillettes et les ventricules. Il assure la plus grande partie du remplissage ventriculaire dans le cœur sain. L'amincissement des parois ventriculaires et l'allongement des ventricules selon leur grand axe augmentent le volume des ventricules et permettent leur remplissage. Cette phase se caractérise par une évolution biphasique de la pression ventriculaire.

Tout d'abord, la poursuite de la relaxation ventriculaire permet que la pression ventriculaire continue de diminuer jusqu'à atteindre sa valeur minimale malgré le remplissage ventriculaire. Puis, la relaxation ventriculaire s'arrête et la pression ventriculaire croît progressivement et tend à s'égaliser avec la pression auriculaire. Le gradient de pression entre les oreillettes et les ventricules s'annule et la phase de remplissage précoce s'arrête.

La diastase fait suite à la phase de remplissage précoce et correspond à une phase stationnaire, au cours de laquelle les pressions auriculaire et ventriculaire s'égalisent, arrêtant *de facto* le remplissage ventriculaire. Dès lors, le volume des ventricules ne varie pas au cours de la diastase.

La systole auriculaire correspond à la dernière phase du remplissage ventriculaire. Il en résulte une augmentation de la pression ventriculaire qui devient supérieure à la pression dans les oreillettes, aboutissant à la fermeture des valves mitrale et tricuspide, qui marque la fin du remplissage ventriculaire et donc de la diastole.

## **B. Limites du concept du cœur comme pompe hémodynamique**

### *1. Limite temporelle*

Dans l'approche classique comparant le cœur à une pompe hémodynamique, la diastole débute lors de la relaxation isovolumique qui se caractérise par une diminution brutale et rapide de la pression ventriculaire et se termine à la fin du remplissage ventriculaire. Le temps dévolu à la diminution de la pression ventriculaire est très court, de l'ordre de 120 ms, soit environ 20% du temps diastolique total (24). De surcroît, ce temps diminue en cas de tachycardie. Ainsi, il semble difficile de pouvoir principalement expliquer cette diminution brutale et rapide de la pression ventriculaire en un temps dévolu aussi court par un mécanisme purement isovolumique, comme nous le verrons par la suite.

### *2. Limite énergétique*

Pour essayer d'expliquer cette limite temporelle, il est fait l'hypothèse que la diminution de la pression ventriculaire en un temps aussi court lors de la phase initiale de la diastole pourrait être liée à la restitution de l'énergie élastique emmagasinée au cours de la systole précédente dans certains composés de la matrice interstitielle (25-27), en particulier dans les fibres de collagène (27,

28) et dans la titine (29, 30), qui est une protéine du sarcomère. Néanmoins, cette hypothèse se heurte à deux écueils. Premièrement, le temps nécessaire à la titine pour induire une relaxation des sarcomères est supérieur aux 120 ms dévolues au cours de la diastole à la diminution de la pression ventriculaire (24). Deuxièmement, la phase de relaxation isovolumique au cours de laquelle la pression ventriculaire atteint près de 85% de sa valeur minimale, nécessite de l'énergie et des mouvements calciques (27, 28, 31). Hors, la restitution de l'énergie élastique emmagasinée au cours de la systole par les fibres de collagène et la titine est un phénomène passif (32), qui ne nécessite par essence ni énergie ni mouvements calciques. Ainsi, la seule restitution de l'énergie élastique lors de la phase initiale de la diastole ne semble également pas pouvoir expliquer cette diminution brutale et rapide de la pression ventriculaire en un temps dévolu aussi court, confirmant les limites d'un mécanisme purement isovolumique.

### 3. Limite mécanique

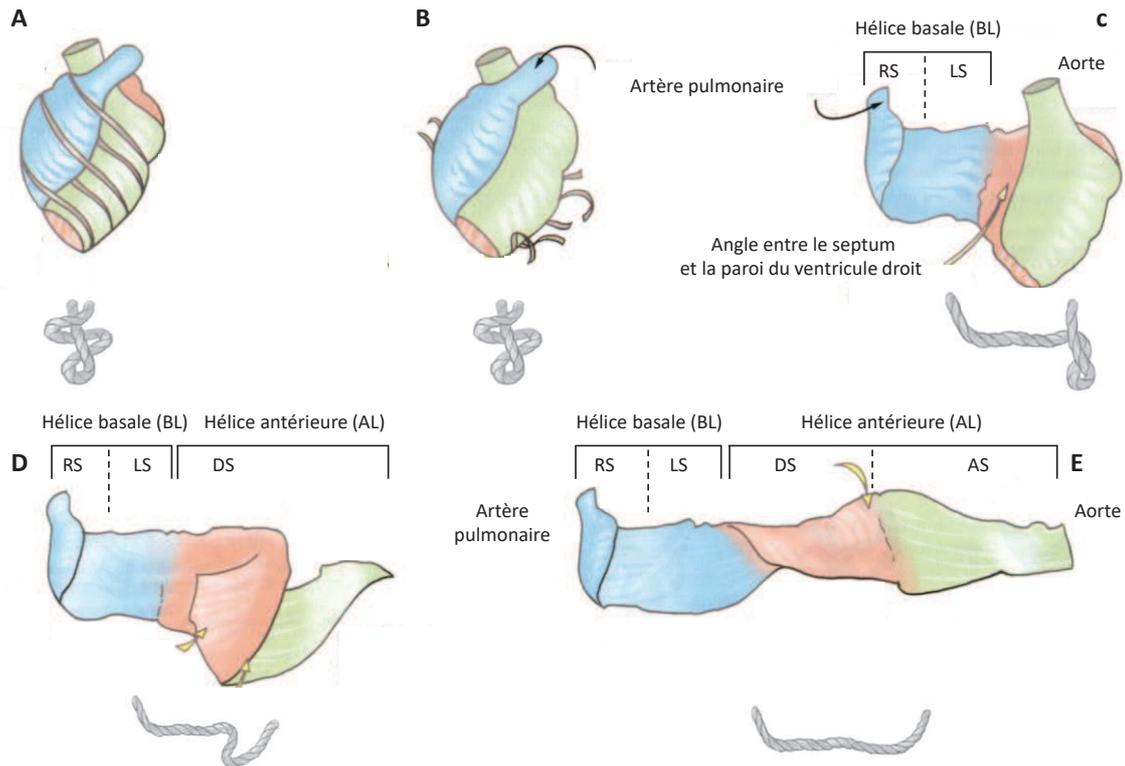
En 1930, Katz est le premier à mettre en évidence, dans le laboratoire de Wiggers, le phénomène de succion ventriculaire lors d'expériences menées sur un ventricule isolé de tortue (33). Lors de ces travaux, Katz montre que le phénomène de succion ventriculaire, qui succède directement à la relaxation isovolumique, résulte nécessairement d'une augmentation préalable rapide et importante du volume ventriculaire. En 2006, en appliquant au cœur le modèle anatomique de la structure en corde du myocarde également appelé structure en double hélice proposé par l'anatomiste espagnol Torrent-Guasp (34, 35), Buckberg et collaborateurs révèlent, à l'aide de la technique de sonomicrométrie, qu'il existe une contraction d'une partie du myocarde lors de la relaxation isovolumique, correspondant au segment ascendant (AS) de l'hélice apicale (AL) du cœur (24). Cette contraction résulte en un allongement du ventricule gauche selon son grand axe et *in fine* en une augmentation de son volume au cours de la relaxation isovolumique, confirmant les résultats expérimentaux de Katz. Ainsi, la notion de relaxation isovolumique décrite par Wiggers est directement remise en cause et les limites d'un mécanisme purement isovolumique pour expliquer la diminution brutale et rapide de la pression ventriculaire lors de la phase initiale de la diastole sont mises de nouveau en exergue.

## C. Concept de la structure en corde ou en double hélice du myocarde

A première vue, il existe un paradoxe évident entre la survenue simultanée de la contraction d'une partie du myocarde, de l'augmentation du volume du ventricule gauche et de la diminution de la pression ventriculaire. Intuitivement, toute contraction musculaire devrait engendrer une diminution de volume et une augmentation de pression. Cependant, en 1952, Cowey montra chez des vers nématodes que la contraction musculaire pouvait engendrer tant une augmentation qu'une diminution de la taille des nématodes, à l'origine de leur locomotion. Cette double action de la contraction musculaire sur la taille des nématodes reposait sur l'organisation hélicoïdale de leur unique bande musculaire (36). Ainsi, l'anatomiste espagnol Torrent-Guasp proposa dès 2001 un modèle anatomique du cœur appelé structure en corde ou en double hélice du myocarde (34, 35) pour réconcilier la contraction musculaire, l'augmentation de volume des ventricules et la diminution de la pression ventriculaire.

### *1. Description du modèle anatomique*

Dans le modèle anatomique du cœur appelé structure en corde ou en double hélice, le myocarde est composé d'une seule bande contractile, qui commence au niveau de l'artère pulmonaire pour se terminer à la naissance de l'aorte dans le ventricule. Suite à de multiples modifications au cours de l'embryogénèse, cette bande contractile aura au terme du développement une structure en double hélice gauche, composée de différents segments avec une continuité entre les différents segments. Cette architecture du cœur n'est pas propre au cœur humain mais est également retrouvée chez tous les mammifères et les oiseaux (37, 38). Plusieurs étapes sont nécessaires pour mettre en évidence cette structure en corde ou en double hélice du myocarde (Figure 4).



**Figure 4.** Mise en évidence de la structure en corde ou en double hélice du myocarde après dissection. Panneau A: cœur intact. Panneau B: cœur avec les fibres aberrantes ôtées. Panneau C: obtention de l'hélice basale (BL, en bleu) avec son segment droit (RS) et son segment gauche (LS) après ouverture et déroulement du ventricule droit. Panneau D: obtention du segment descendant (DS, en rouge) de l'hélice antérieure (AL) après section des trigones aortiques. Panneau E: obtention du segment ascendant (AS, en vert) de l'hélice antérieure (AL) et de la structure en corde ou en double hélice du myocarde après séparation des segments DS et AS selon leur plan de clivage. D'après Buckberg (41) et « Bases biologiques de la Cardiologie » de Bernard Swynghedauw, Editions Scientifiques L&C.

Tout d'abord, il faut sectionner les fibres aberrantes localisées sur la face antérieure des deux ventricules. Puis, il faut disséquer la masse ventriculaire selon un plan de dissection qui ouvre le ventricule droit, après avoir distendu le cœur. Ceci permet d'obtenir la première hélice appelée hélice basale (BL). Cette hélice débute au niveau de l'artère pulmonaire et ne forme qu'une seule boucle horizontale qui se dirige vers la droite pour constituer le ventricule droit. Au sein de cette première hélice, les cardiomyocytes sont donc orientés horizontalement, dans un plan perpendiculaire au grand axe des ventricules. Cette hélice basale est elle-même divisée en deux segments : le segment droit (RS) qui forme la paroi libre du ventricule droit et le segment gauche (LS) qui forme la face postérieure de la base du ventricule gauche.

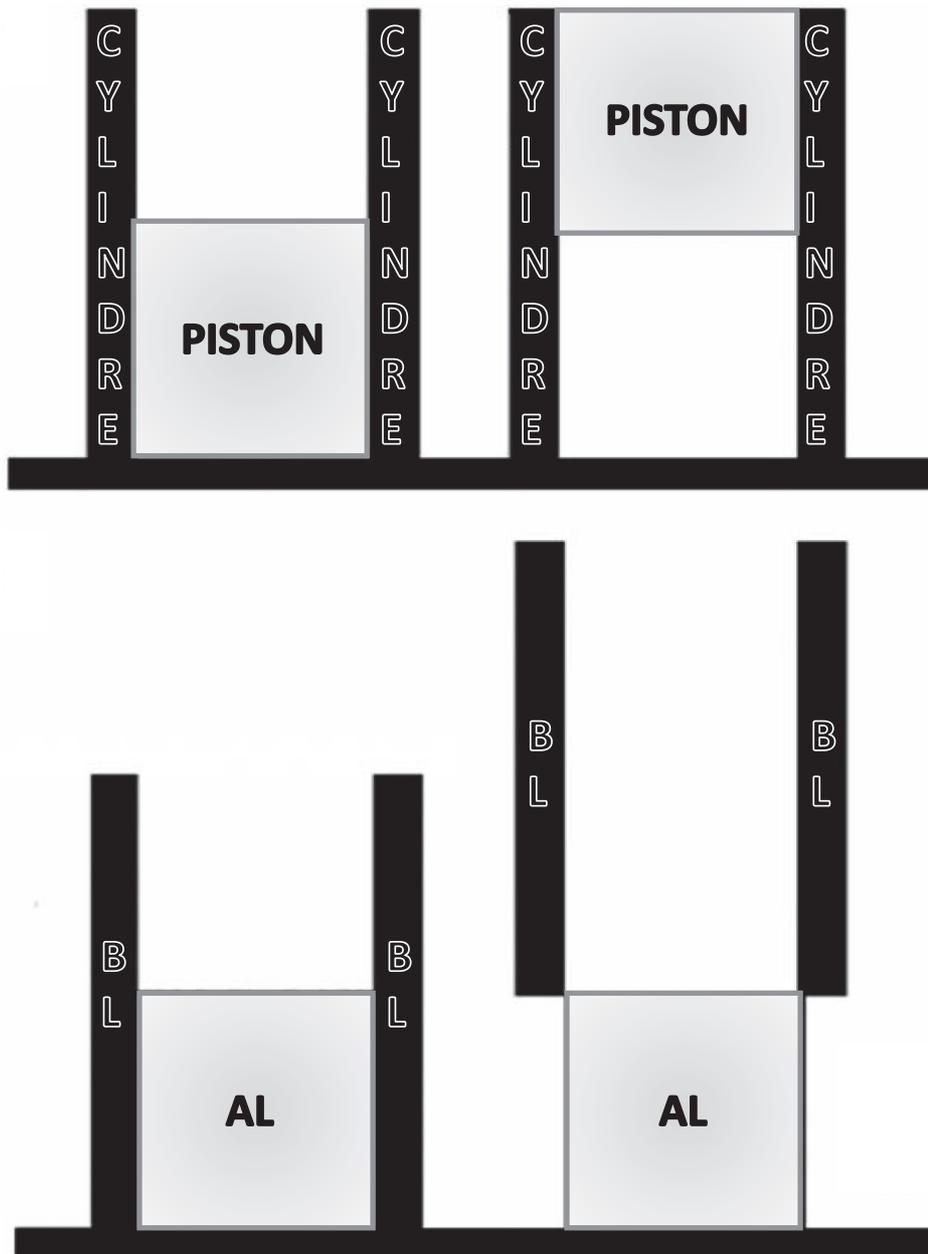
Dans un deuxième temps, il faut sectionner les trigones aortiques et démonter l'orifice aortique. Cette opération permet d'obtenir la deuxième hélice, appelée hélice antérieure (AL), qui constitue le ventricule gauche. Au sein de cette deuxième hélice, les cardiomyocytes sont orientés verticalement, dans un plan parallèle au grand axe des ventricules. Cette hélice antérieure est également divisée en deux segments, formant deux boucles orientées dans des directions opposées. Le premier segment descendant (DS) forme la face antérieure du ventricule gauche et est constitué

de cardiomyocytes orientés verticalement et obliquement vers le bas, de la base vers l'apex du ventricule gauche. Le deuxième segment ascendant (AS), plus long que le segment descendant (DS), forme également la face antérieure du ventricule gauche mais est constitué de cardiomyocytes orientés verticalement et obliquement vers le haut, de l'apex vers la base du ventricule gauche, permettant une inversion des couches myocardiques. Ainsi, les fibres myocardiques sous-endocardiques dans le segment DS deviennent sous-épicardiques dans le segment AS.

## *2. Principes généraux de la contractilité du myocarde dans le modèle à double hélice*

L'arrangement des deux hélices peut être comparé à un moteur à combustion (Figure 5). Ainsi, par analogie, l'hélice basale (BL) correspondrait au cylindre tandis que l'hélice antérieure (AL) correspondrait au piston. Au-delà de cette analogie morphologique, il existe néanmoins une différence fondamentale dans le fonctionnement d'un moteur à combustion et dans la contraction du myocarde, les deux systèmes fonctionnant à l'inverse (39). Dans le moteur à combustion, seul le piston bouge à chaque cycle alors que le cylindre reste immobile. *A contrario* dans le myocarde, schématiquement, seule l'hélice basale (BL) est dotée d'un mouvement longitudinal ascendant puis descendant à chaque cycle cardiaque, tandis que l'hélice antérieure (AL) reste immobile. En d'autres termes, au cours de la contraction, seule la base du cœur effectue des mouvements ascendants et descendants tandis que l'apex du cœur ne bouge pas.

Les mouvements contractiles du myocarde sont régis d'une part par la structure en double hélice de la bande contractile mais également par l'orientation des cardiomyocytes au sein des différents segments qui composent la bande contractile (34, 35, 40). De plus, chacun des quatre segments qui composent la bande contractile possède sa propre identité fonctionnelle et a donc une fonction contractile totalement indépendante des autres segments.



**Figure 5.** Analogie entre le fonctionnement d'un moteur à combustion et le mouvement de l'hélice basale (BL) et de l'hélice antérieure (AL) l'une par rapport à l'autre au cours du cycle cardiaque. D'après Torrent-Guasp (46).

### *3. Description de la contractilité du myocarde dans le modèle à double hélice*

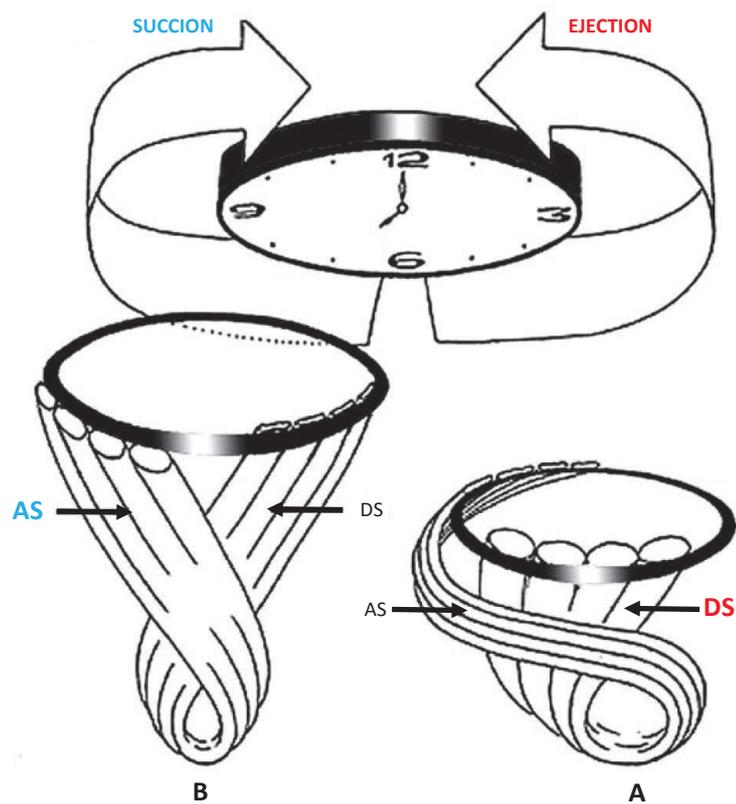
La dépolarisation et donc l'activité contractile du myocarde débute au niveau du segment droit (RS) de l'hélice basale (BL), à savoir à la base du ventricule droit (41, 42). Par la suite, la dépolarisation va se propager non pas selon l'axe du cœur, mais tout le long de la bande contractile, créant ainsi une véritable onde de contractilité, confirmant le principe de non-uniformité dans le temps et dans l'espace de l'excitation et de la contraction du myocarde (35, 41, 43-46). Cette non-uniformité fait partie intégrante des mécanismes de contrôle des phénomènes de contraction et de relaxation du cœur (47, 48).

Au début de la systole, lors de la contraction dite isovolumique, l'hélice basale (BL) est donc la première à se contracter avec la contraction successive du segment droit (RS) et du segment gauche (LS), qui enserrera telle une ceinture l'hélice antérieure (AL). Du fait de l'orientation horizontale des cardiomyocytes, il en résulte une diminution du diamètre transverse de la base du cœur sans modification de la longueur des ventricules, qui potentialise d'une part la fermeture des valves tricuspide et mitrale (49) et qui induit d'autre part, une augmentation de la pression ventriculaire.

Puis, survient la contraction du segment descendant (DS) de l'hélice antérieure (AL), à l'origine de deux mouvements distincts du ventricule gauche, comme en attestent différentes études d'imagerie par résonance magnétique (50-52). Premièrement, l'orientation verticale des cardiomyocytes induit un mouvement descendant de la base du cœur vers l'apex qui reste immobile, provoquant un raccourcissement du ventricule dans le plan longitudinal selon son grand axe. Deuxièmement, l'orientation oblique des cardiomyocytes induit une rotation en sens opposé de la base et de l'apex du cœur, à l'origine du mouvement de torsion du ventricule gauche (Figure 6, panneau A), comparé à celui d'une serpillière qu'on essore (53). Ce mouvement de torsion du ventricule gauche permet au cœur de minimiser sa consommation en oxygène (54, 55), de faciliter l'éjection, comme en atteste la forte corrélation qui existe entre la torsion du ventricule gauche, le volume d'éjection systolique et la fraction d'éjection ventriculaire gauche tant chez l'animal (56) que chez le volontaire sain (57). Ceci aboutit à travailler avec la meilleure efficacité possible (58). Ainsi, ce mouvement de torsion permet qu'un raccourcissement de seulement 15% des cardiomyocytes génère une fraction d'éjection ventriculaire gauche de 60% (59).

Enfin, se produit la contraction du segment ascendant (AS) de l'hélice antérieure (AL), qui débute pendant la phase d'éjection, dès que la pression ventriculaire atteint sa valeur maximale, et se termine à la fin de la phase de remplissage précoce. La contraction du segment ascendant (AS) est l'origine de deux mouvements distincts du ventricule gauche. Premièrement, l'orientation verticale des cardiomyocytes induit un mouvement ascendant de la base du cœur, qui s'éloigne de l'apex qui

reste immobile, provoquant un allongement du ventricule dans le plan longitudinal selon son grand axe. Deuxièmement, l'orientation oblique des cardiomyocytes induit une rotation inverse et toujours en sens opposé de la base et de l'apex du cœur, à l'origine du mouvement de détorsion du ventricule gauche (Figure 6, panneau B). Ces deux mouvements, par analogie avec un serpent qui se dresse, induisent ainsi une augmentation du volume du ventricule gauche et sont à l'origine du phénomène de succion ventriculaire. Ainsi, le remplissage précoce, qui résulte de la succion ventriculaire, est un phénomène actif, engendré par une activité musculaire contractile. Ce n'est qu'en 2006 que cette théorie a pu être confirmée *in vivo* chez le porc après avoir implantés des cristaux piézo-électriques reliés à un sonomicromètre dans toute l'épaisseur du myocarde (24). Par la suite, le rôle clé de la détorsion du ventricule gauche dans la succion ventriculaire a très largement été mis en exergue (60, 61).



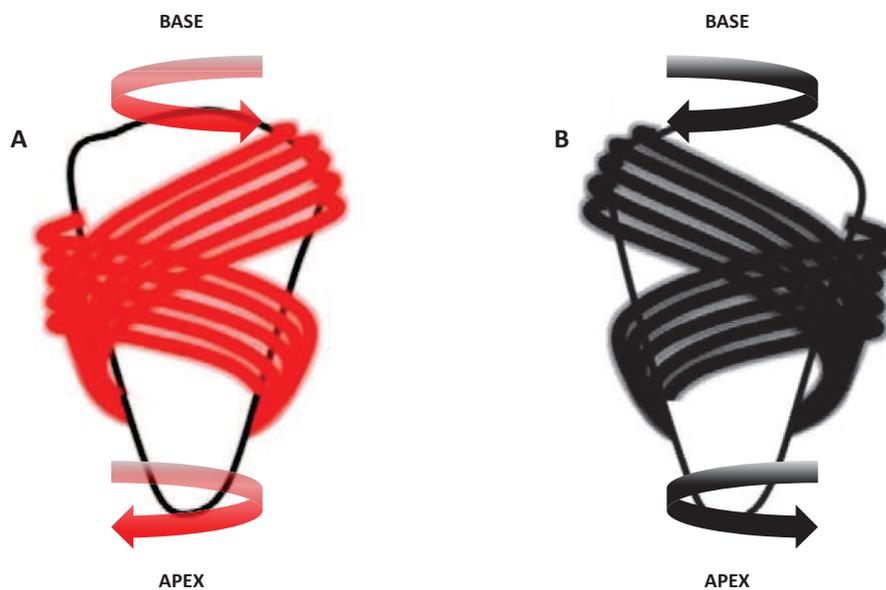
**Figure 6.** Panneau A: mouvement de torsion antihoraire du ventricule gauche induit par la contraction du segment descendant (DS) de l'hélice antérieure (AL) lors de la phase d'éjection. Panneau B: mouvement de détorsion horaire du ventricule gauche induit par la contraction du segment ascendant (AS) de l'hélice antérieure (AL) à l'origine du phénomène de succion ventriculaire. D'après Torrent-Guasp (46).

## D. Conséquences et implications physiologiques du concept de la structure en corde ou en double hélice du myocarde

### 1. Organisation hélicoïdale des fibres myocardiques

Ce modèle anatomique appelé structure en corde ou en double hélice du myocarde résulte de *facto* en une organisation également hélicoïdale des fibres myocardiques, telle que décrite antérieurement (9, 62, 63). Ainsi, les fibres myocardiques sous-endocardiques réalisent une hélice avec un pas droit et les fibres myocardiques sous-épicardiques une hélice avec un pas gauche, à l'origine du mouvement de torsion et de détorsion du ventricule gauche.

La contraction des fibres myocardiques sous-endocardiques et sous-épicardiques au sein des segments descendant (DS) et ascendant (AS) de l'hélice antérieure (AL) génère donc des mouvements de rotation de la base et de l'apex du ventricule gauche qui s'opposent l'un à l'autre du fait du pas d'hélice inversé. Dès lors, la contraction des fibres sous-endocardiques génère une rotation antihoraire de la base et une rotation horaire de l'apex du ventricule gauche. *A contrario*, la contraction des fibres sous-épicardiques génère une rotation horaire de la base et une rotation antihoraire de l'apex du ventricule gauche (Figure 7).



**Figure 7.** Organisation hélicoïdale des fibres myocardiques du ventricule gauche. Panneau A: fibres myocardiques sous-endocardiques (en rouge) avec un pas d'hélice droit. Panneau B: fibres myocardiques sous-épicardiques (en noir) avec un pas d'hélice gauche. Les flèches indiquent le sens de rotation de la base et de l'apex du ventricule gauche induites par la contraction des fibres myocardiques. D'après Omar (163).

Enfin, l'amplitude du mouvement généré par la contraction des fibres myocardiques sous-épicaudiques est supérieure à l'amplitude du mouvement généré par les fibres sous-endocardiques du fait de l'éloignement plus important des fibres sous-épicaudiques du grand axe des ventricules qui leur confèrent un bras de levier supérieur (53). Ainsi, lors de la contraction simultanée des fibres myocardiques sous-endocardiques et sous-épicaudiques, le sens de rotation de la base et de l'apex du ventricule gauche sera régi par les fibres sous-épicaudiques.

## *2. Description du cycle cardiaque*

La contraction et la relaxation successive des quatre segments composants la bande contractile génèrent différents mouvements des ventricules, permettant de décomposer le cycle cardiaque en cinq phases (Figure 8).

La phase de compression débute à la fermeture de la valve mitrale et tricuspide et se termine à l'ouverture de la valve aortique et pulmonaire. Au cours de cette phase, la contraction de l'hélice basale (BL) du cœur engendre une diminution du diamètre transverse de la base du cœur, qui résulte en une augmentation de la pression ventriculaire.

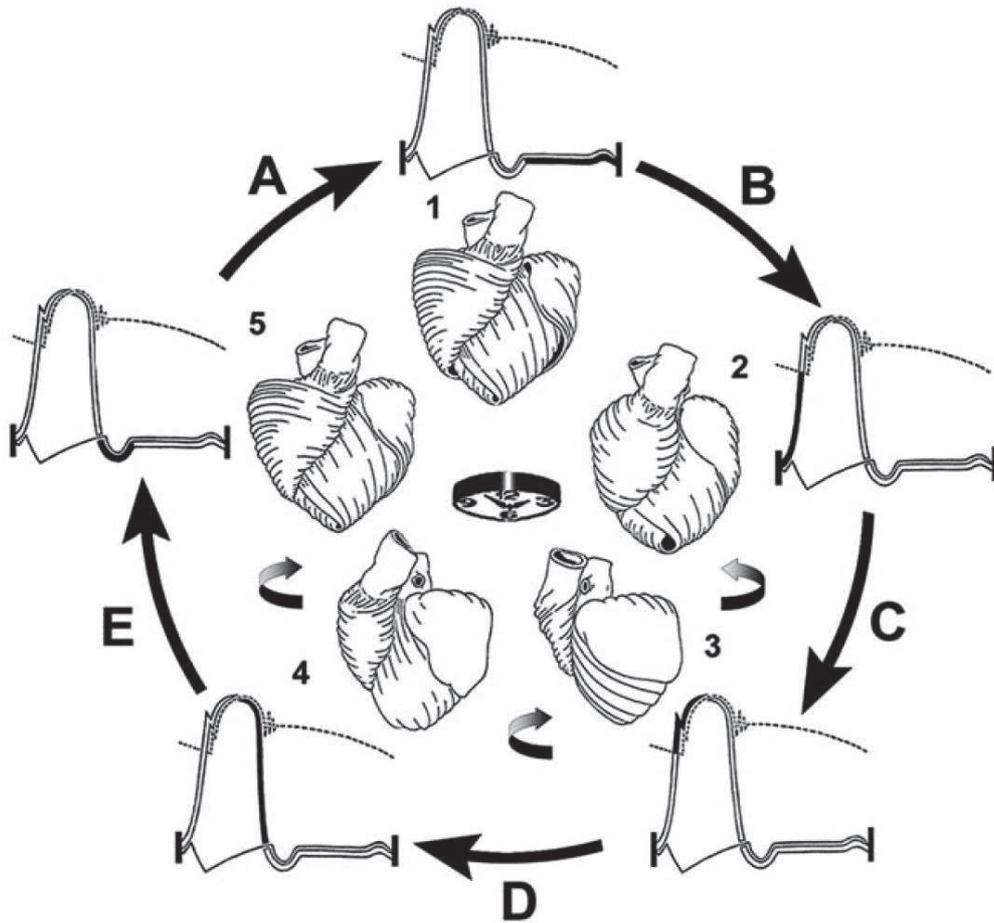
La phase d'éjection débute à la fin de la phase de compression et se termine lorsque la pression ventriculaire atteint sa valeur maximale. Cette phase se caractérise par la poursuite de l'augmentation de la pression ventriculaire mais également par l'éjection du sang vers la périphérie et résulte de la contraction du segment descendant (DS) de l'hélice antérieure (AL) du cœur. L'augmentation de pression ventriculaire est liée à l'orientation verticale des cardiomyocytes qui induit un mouvement descendant de la base du cœur vers l'apex et donc un raccourcissement des ventricules dans le plan longitudinal selon son grand axe. L'éjection du sang dans l'aorte et l'artère pulmonaire est liée à l'orientation oblique des cardiomyocytes qui induit un mouvement de torsion des ventricules.

La phase de décompression débute à la fin de la phase d'éjection et se termine à l'ouverture des valves mitrale et tricuspide. Au cours de cette phase, la contraction du segment ascendant (AS) de l'hélice antérieure (AL) du cœur initie d'une part un mouvement ascendant de la base du cœur qui s'éloigne de l'apex et donc un allongement des ventricules dans le plan longitudinal selon son grand axe, et d'autre part un mouvement de détorsion des ventricules. Ces deux mouvements résultent en une diminution de la pression ventriculaire.

La suction ventriculaire débute à la fin de la phase de décompression et se termine lorsque les pressions ventriculaire et auriculaire tendent à s'égaliser. Comme la phase de décompression, cette phase résulte de la contraction du segment ascendant (AS) de l'hélice antérieure (AL) du cœur et se caractérise par la poursuite de l'allongement et de la détorsion des ventricules. Ces mouvements des ventricules permettent la poursuite de la diminution de la pression ventriculaire malgré le remplissage ventriculaire.

La phase de drainage débute à la fin de la phase de remplissage précoce et se termine à la fermeture des valves mitrale et tricuspide. Cette phase se caractérise par la relaxation des différents segments de la bande contractile. Au cours cette phase, le remplissage ventriculaire est le simple fait de la systole auriculaire.

Au cours du cycle cardiaque, les parois ventriculaires sont également sujettes, en sus des différents mouvements décrits ci-dessus, à un épaissement puis à un amincissement, du fait de la contraction et de la relaxation du myocarde dans le plan radial et circonférentiel. Cette contraction des cardiomyocytes dans les trois dimensions de l'espace est fondamentale et nécessaire aux ventricules pour générer un volume d'éjection suffisant (55).



**Figure 8.** Nouvelle description du cycle cardiaque selon le concept de la structure en corde ou en double hélice du myocarde. Panneau A: phase de drainage. Panneau B: phase de compression. Panneau C: phase d'éjection. Panneau D: phase de décompression. Panneau E: phase de suction ventriculaire. Chacune des phases est identifiée par la portion en gras de la courbe de pression ventriculaire gauche représentée par une double ligne. La pression aortique est représentée en pointillés. La pression auriculaire gauche est représentée par une ligne simple. D'après Torrent-Guasp (46).

### 3. Nouvelle définition des différentes phases du cycle cardiaque

Cette nouvelle description du cycle cardiaque résulte en une redéfinition des différentes phases du cycle cardiaque initialement par Wiggers (22). Dans cette nouvelle conception, la systole comprend deux phases : la phase de compression et la phase d'éjection. La diastole comprend trois phases : la phase de décompression, la phase de suction ventriculaire et la phase de drainage (Figure 8).

La phase de compression correspond à la contraction isovolumique. Cette phase débute donc à la fermeture des valves mitrale et tricuspide et s'achève à l'ouverture de la valve aortique et pulmonaire.

La phase d'éjection correspond uniquement à la phase d'éjection rapide, à savoir la phase initiale de l'éjection au cours de laquelle la pression ventriculaire atteint un maximum.

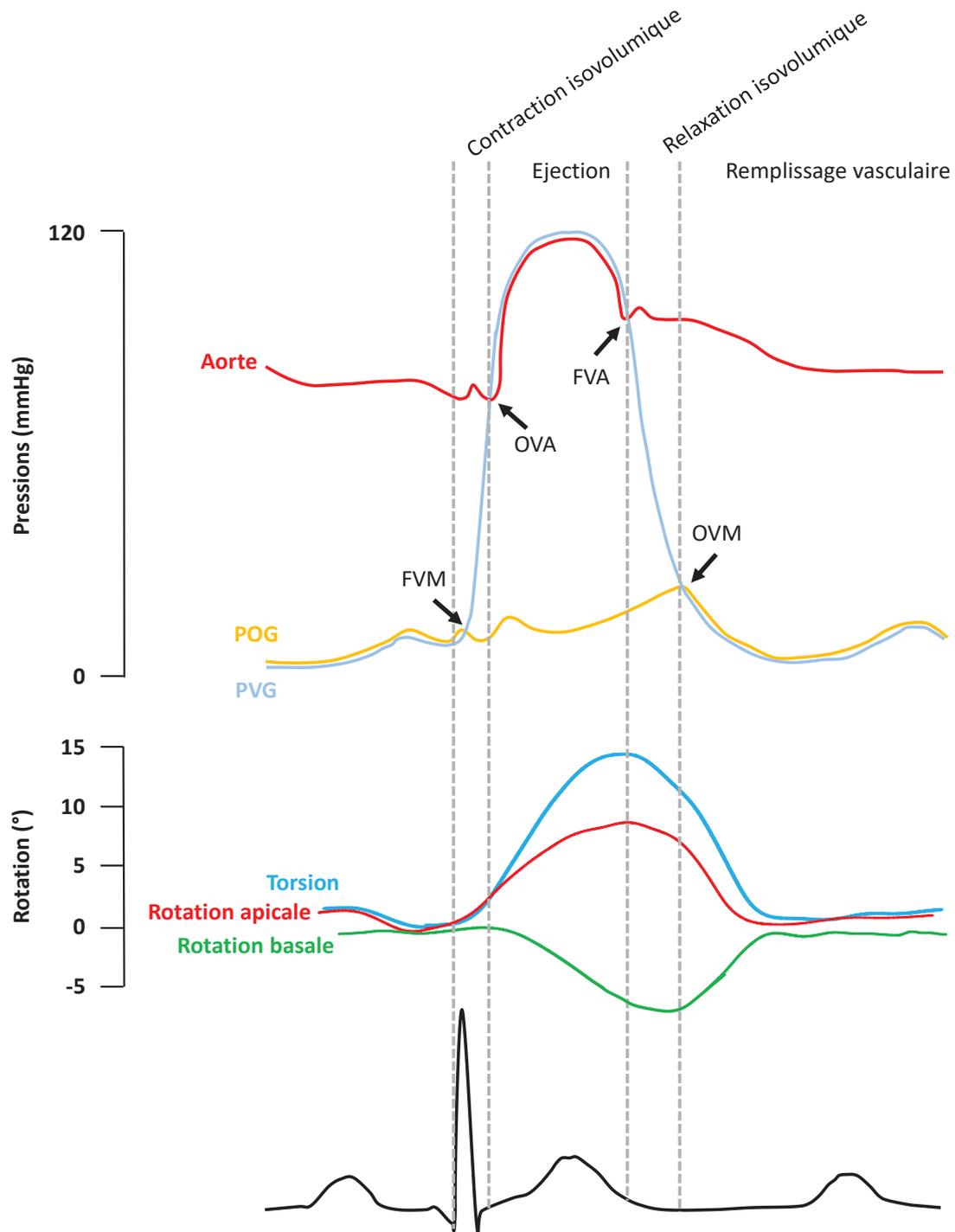
La phase de décompression englobe à la fois à la phase d'éjection lente, à savoir la phase tardive de l'éjection au cours de laquelle la pression ventriculaire commence à diminuer, mais également la relaxation isovolumique. Cette phase s'achève donc à l'ouverture des valves mitrale et tricuspide.

La phase de succion ventriculaire correspond au remplissage précoce. Elle débute donc à l'ouverture de la valve mitrale et tricuspide et s'achève lorsque les pressions ventriculaire et auriculaire tendent à s'égaliser, annulant de fait le gradient de pression entre les oreillettes et les ventricules et arrêtant *de facto* le remplissage précoce.

La phase de drainage englobe à la fois la diastase et la systole auriculaire et s'achève donc à la fermeture des valves mitrale et tricuspide. Au cours cette phase, le remplissage ventriculaire est le simple fait de la systole auriculaire.

## **E. Description actuelle de la torsion et la détorsion du ventricule gauche au cours du cycle cardiaque**

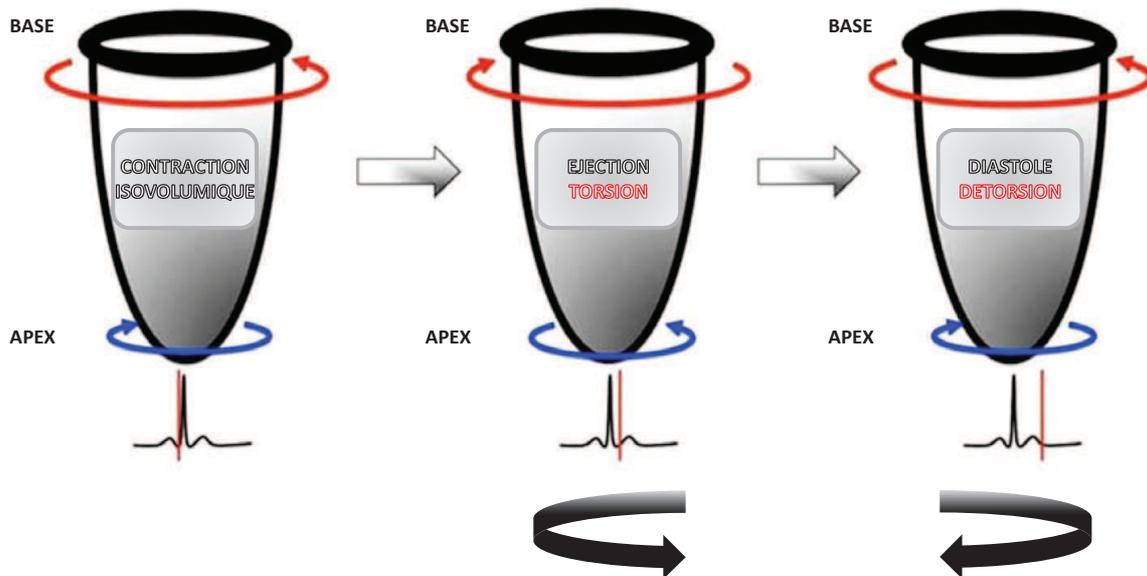
La description actuelle de la chronologie de la torsion et de la détorsion du ventricule gauche au cours du cycle cardiaque diffère de la description théorique proposée par Torrent-Guasp et repose toujours sur la description des différentes phases du cycle cardiaque proposée par Wiggers (64-66) (Figure 9).



**Figure 9.** Chronologie de la torsion et de la détorsion du ventricule gauche dans le cycle cardiaque. FVM: fermeture de la valve mitrale, OVA: ouverture de la valve aortique, FVA: fermeture de la valve aortique, OVM: ouverture de la valve mitrale.

### 1. Au cours de la contraction isovolumique

Au cours de la contraction isovolumique, la dépolarisation commence dans la région sous-endocardique (65). La contraction des fibres myocardiques sous-endocardiques qui en découle, engendre un bref mouvement de rotation antihoraire de la base et horaire de l'apex du ventricule gauche, non décrit initialement par Torrent-Guasp (Figure 10).



**Figure 10.** Sens du mouvement de torsion et de détorsion du ventricule gauche au cours du cycle cardiaque. Les flèches rouges indiquent le sens de rotation de la base du ventricule gauche, les flèches bleues indiquent le sens de rotation de l'apex du ventricule gauche et les flèches noires indiquent le sens de la torsion et de la détorsion du ventricule gauche lors de l'éjection et de la phase initiale de la diastole. D'après Omar (163).

Néanmoins, il faut souligner que le sens de la rotation apicale du ventricule gauche pendant la contraction isovolumique dépend des techniques employées pour la mesurer. Ainsi, l'apex du ventricule gauche a un mouvement de rotation horaire lorsque ce dernier est mesuré par ciné-angiographie (25), sonomicrométrie (67), échocardiographie (68) ou à l'aide de dispositifs optiques dédiés (64). *A contrario*, l'apex du ventricule gauche a un mouvement de rotation antihoraire lorsque ce dernier est mesuré par imagerie par résonance magnétique (52, 69). Cette discordance entre les différentes techniques et l'imagerie par résonance magnétique a été imputée à la moins bonne résolution temporelle de cette dernière (67).

## *2. Au cours de l'éjection ventriculaire*

Au cours de l'éjection, la dépolarisation des parois du ventricule gauche est transmurale (65, 70). Dès lors, la contraction simultanée des fibres myocardiques sous-endocardiques et sous-épicaudiques entraîne un mouvement de rotation horaire de la base et antihoraire de l'apex du ventricule gauche, le sens de rotation étant régi par les fibres sous-épicaudiques. Il en résulte un mouvement de torsion du ventricule gauche antihoraire (Figure 10). En effet, l'amplitude de la rotation de la base est inférieure à l'amplitude de la rotation de l'apex du ventricule gauche, qui décide donc du sens de torsion du ventricule gauche (71, 72).

L'amplitude maximale du mouvement de torsion du ventricule gauche au cours de la systole est atteinte à la fin de la période d'éjection, quelques millisecondes avant la fermeture de la valve aortique et a une valeur comprise chez l'Homme entre 7 et 12° au repos (13) et aux alentours de 25° à l'exercice (66).

## *3. Au cours de la relaxation isovolumique*

Au cours de la relaxation isovolumique, la base et l'apex du ventricule gauche ont un mouvement de rotation inverse mais toujours en sens opposé, caractérisé par un mouvement de rotation antihoraire de la base et horaire de l'apex. Il en résulte donc un mouvement de détorsion du ventricule gauche dans le sens horaire, la rotation apicale décidant du sens de détorsion (Figure 10). En réalité, ce mouvement de détorsion du ventricule gauche débute lors de l'éjection ventriculaire (46), quelques millisecondes avant la fermeture de la valve aortique (60).

Entre 40% (60) et 50% du mouvement de détorsion a lieu pendant la relaxation isovolumique (26). La vitesse maximale du mouvement de détorsion du ventricule gauche est également atteinte pendant la relaxation isovolumique et est concomitante de l'ouverture de la valve mitrale (60, 61).

## *4. Au cours du remplissage précoce*

L'apex du ventricule gauche poursuit son mouvement de rotation horaire et la base son mouvement de rotation antihoraire. Ainsi, le ventricule gauche poursuit son mouvement de détorsion dans le sens horaire, à l'origine du phénomène de succion ventriculaire (24, 46, 60, 61).

### *5. Au cours de la diastase et de la systole auriculaire*

Comme mentionné précédemment, le ventricule gauche ne présente plus de mouvement de torsion ou de détorsion au cours de la diastase et de la systole auriculaire, du fait de la relaxation des différents segments de la bande contractile.

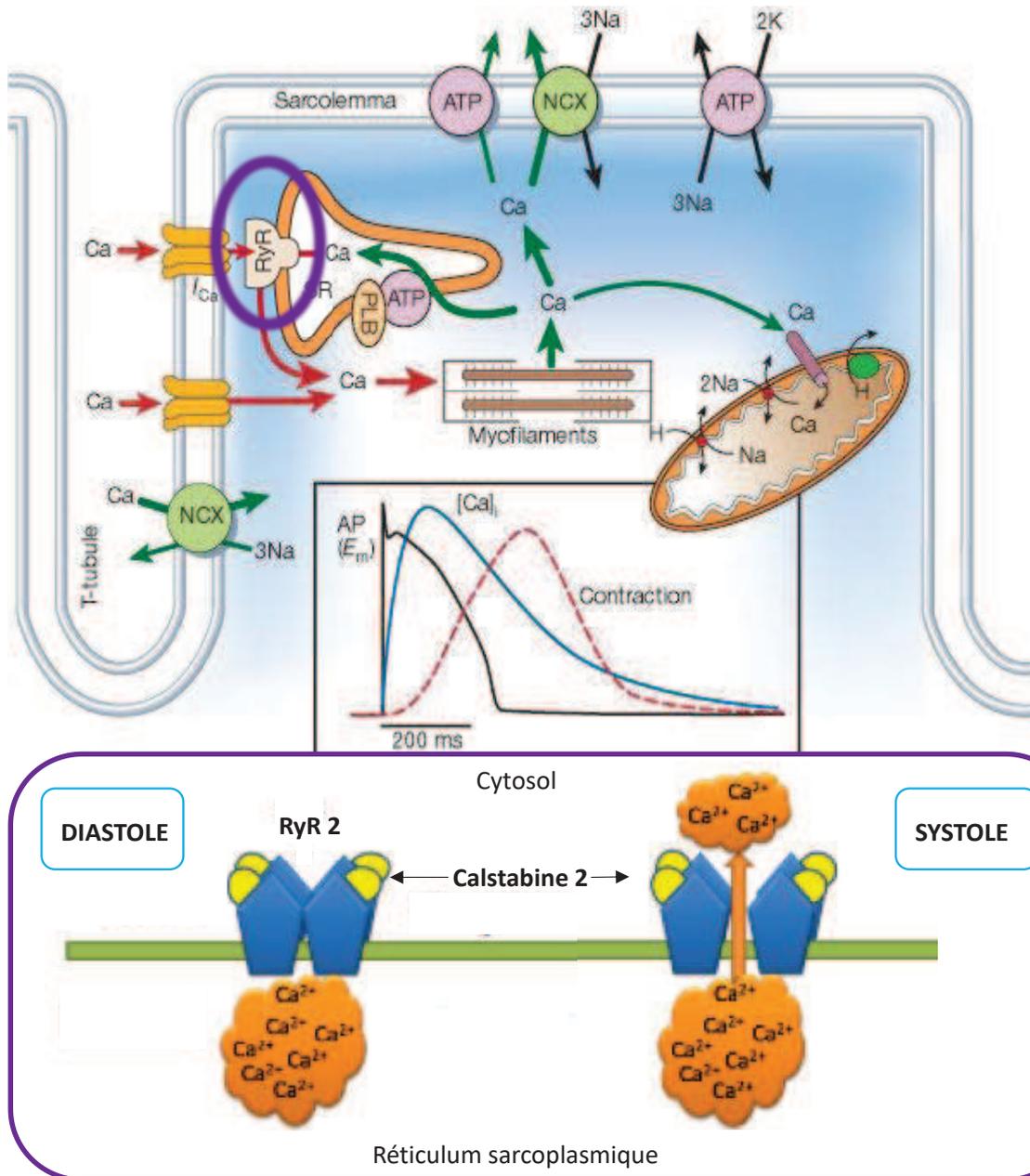
## **IV. LE COUPLAGE CONTRACTION-RELAXATION DU VENTRICULE GAUCHE**

### **A. Couplage de la torsion et de la détorsion du ventricule gauche**

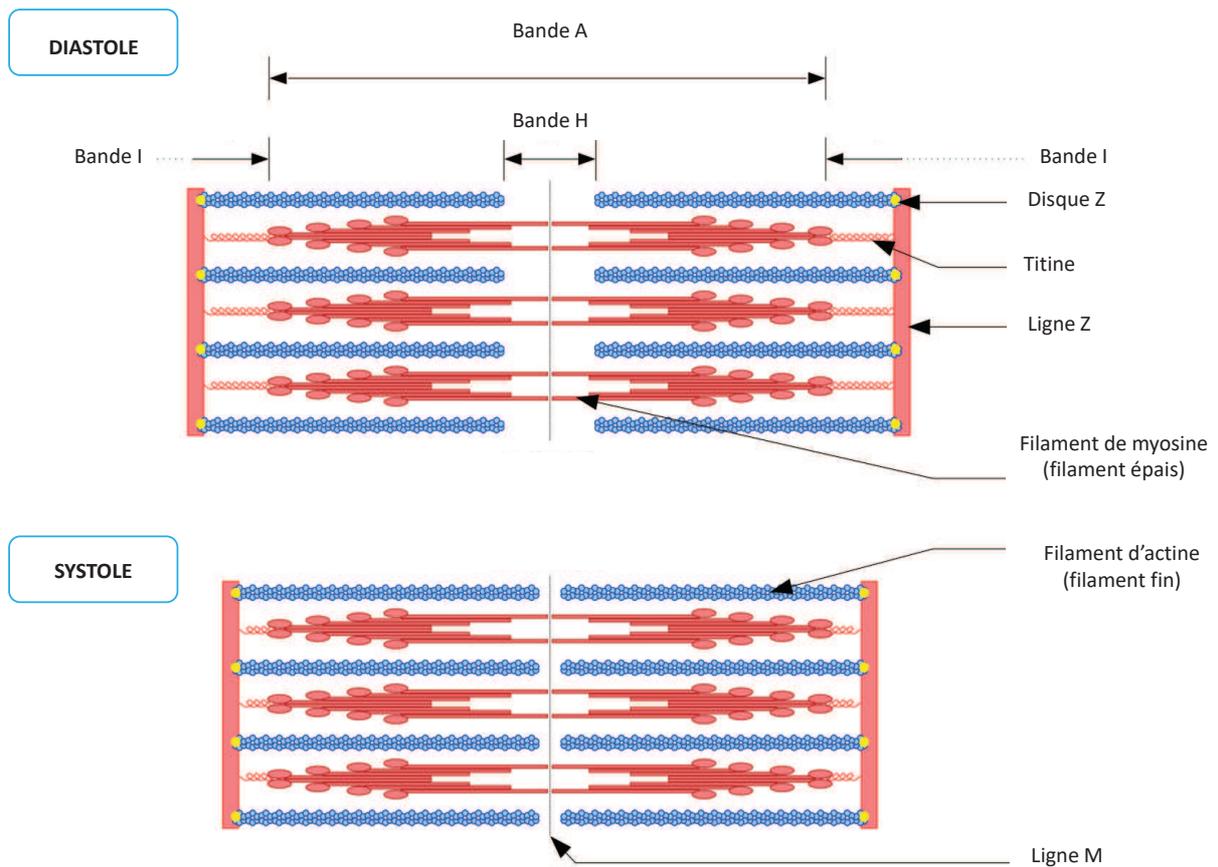
Lors de la contraction, l'énergie cinétique générée par la torsion du ventricule gauche est emmagasinée dans une protéine géante du sarcomère appelée titine (29, 30). Cette énergie est restituée lors de la relaxation ventriculaire (73) et permet le mouvement de détorsion du ventricule gauche (26, 74) à l'origine de la succion ventriculaire et du remplissage précoce du ventricule gauche (24, 60, 61). Il existe donc un couplage contraction-relaxation physiologique, parfaitement illustré par la forte corrélation qui peut exister entre la torsion et la détorsion du ventricule gauche (60, 61, 75-78).

### **B. Mécanismes cellulaires**

Le couplage contraction-relaxation est régulé au niveau cellulaire par l'interaction entre les mouvements calciques (Figure 11) et les protéines contractiles du sarcomère (Figure 12). En systole, l'augmentation de la concentration calcique cytosolique permet la contraction du sarcomère et un raccourcissement des cardiomyocytes. En diastole, la diminution de la concentration calcique cytosolique permet la relaxation du sarcomère et un allongement des cardiomyocytes. La persistance du couplage contraction-relaxation nécessite donc le maintien de l'homéostasie calcique et de l'intégrité des différents acteurs impliqués.



**Figure 11.** Schéma de l'homéostasie calcique. D'après Bers (81) et Andersson (510). NCX: échangeur sodium-calcium; RyR: récepteur à la ryanodine; PLB: phospholamban.



**Figure 12.** Représentation schématique d'un sarcomère.

### 1. Le phénomène "calcium-induced calcium-release"

Lors de l'arrivée d'un potentiel d'action, la dépolarisation membranaire du cardiomyocyte conduit à l'ouverture du canal calcique de type L, localisé dans la membrane plasmique des cardiomyocytes au niveau des tubules transverses. Il en résulte une entrée de calcium dans le cytosol du cardiomyocyte, appelée courant calcique lent, insuffisante pour déclencher la contraction du sarcomère, mais suffisante pour déclencher l'ouverture du canal calcique du réticulum sarcoplasmique encore appelé récepteur de la ryanodine de type 2. Ce phénomène dénommé "calcium-induced calcium-release" permet un couplage très fin entre l'excitation et la contraction (79).

## 2. La libération de calcium dans le cytosol

Les récepteurs de la ryanodine de type 2 sont localisés dans la membrane du réticulum sarcoplasmique (80), principal réservoir calcique intracellulaire des cardiomyocytes, au sein duquel le calcium est lié à la calséquestrine. Les récepteurs de la ryanodine de type 2 permettent lors de la systole la libération dans le cytosol du calcium contenu dans le réticulum sarcoplasmique. Leur activité est régulée par la calstabile 2. En systole, la calstabile 2 se dissocie du récepteur de la ryanodine qui peut alors libérer le calcium stocké dans le réticulum sarcoplasmique. En diastole, la fixation de la calstabile 2 sur le récepteur de la ryanodine maintient ce dernier fermé (81) (Figure 11).

Chaque canal calcique de type L est à proximité d'un certain nombre de récepteurs de la ryanodine de type 2, à l'origine d'une ouverture couplée de ces récepteurs de la ryanodine qui sont activés par le courant calcique lent (82). Les récepteurs alors activés libèrent chacun une quantité élémentaire de calcium, appelée étincelle calcique ("*sparks*" calciques) (83), dans le cytosol des cardiomyocytes. Ces étincelles calciques, visibles en microscopie confocale, sont à l'origine de l'activation de proche en proche de l'ensemble des récepteurs de la ryanodine de type 2 des cardiomyocytes et donc de la libération massive de calcium du réticulum sarcoplasmique vers le cytosol. La forte augmentation de la concentration calcique cytosolique qui en résulte est à l'origine de la contraction du sarcomère et *in fine* du raccourcissement des cardiomyocytes (81).

## 3. La contraction du sarcomère

Le sarcomère représente l'élément unitaire contractile des cardiomyocytes. Délimité à chaque extrémité en microscopie optique par deux bandes sombres, les stries Z, il est composé majoritairement de deux protéines contractiles : les filaments fins d'actine et les filaments épais de myosine, de protéines régulatrices constituées par les différentes isoformes de la troponine (troponine I, C et T) et la tropomyosine, et de la titine, protéine géante dont l'extrémité N-terminale est attachée sur le disque Z du sarcomère et l'extrémité C-terminale sur la bande M du sarcomère (Figure 12). Les cardiomyocytes expriment deux isoformes de la titine : l'isoforme N2BA qui est la plus compliant et l'isoforme N2B, plus rigide. L'isoforme N2B est prédominante chez les rongeurs, tandis que la forme N2BA est majoritaire chez les animaux de plus grande taille (84). De surcroît ; le ratio N2B/N2BA évolue au cours du développement cardiaque, avec une transition progressive d'une expression majoritaire de l'isoforme N2B vers une expression majoritaire de l'isoforme N2BA (85). Ainsi, la principale fonction de la titine est de réguler la résistance passive à l'étirement des

cardiomyocytes (86-89). Les autres rôles de la titine sont le maintien de l'architecture du sarcomère et la transduction mécano-chimique (90).

La contraction du sarcomère résulte de l'étroite interaction entre les deux protéines contractiles que sont les filaments d'actine et de myosine. Cette interaction est principalement régulée par la concentration calcique cytosolique et le couple adénosine di et triphosphate (ADP/ATP) (91). Lorsque la concentration calcique cytosolique est faible, à savoir en diastole, la troponine I empêche toute interaction entre l'actine et la myosine, en permettant à la tropomyosine de masquer le site d'interaction entre les deux protéines contractiles. En systole, la libération de calcium dans le cytosol va entraîner la fixation de ce dernier sur la troponine C, qui va changer de conformation et permettre le déplacement de la tropomyosine, la libération des sites de fixation des filaments de myosine sur les filaments d'actine et *in fine* la formation d'un pont actine-myosine. A ce moment-là, l'ADP et le phosphate inorganique contenus dans la tête de myosine sont libérés, induisant une flexion de cette dernière et ainsi une traction du filament d'actine par rapport au filament de myosine. Il en résulte une contraction du sarcomère avec un rapprochement des deux stries Z.

#### *4. La recapture de calcium dans le réticulum sarcoplasmique*

La fin de la contraction du sarcomère et le début de l'allongement des cardiomyocytes est initiée par la baisse de la concentration calcique cytosolique qui résulte de deux mécanismes principaux. Premièrement, la recapture du calcium dans le réticulum sarcoplasmique par la SERCA2a (Sarco Endoplasmic Reticulum Calcium ATPase), qui représente le principal mécanisme et qui permet une reconstitution des stocks calciques intracellulaires nécessaires à la prochaine contraction. Deuxièmement, l'extrusion du calcium hors du cardiomyocyte par divers échangeurs ou canaux, au premier rang desquels l'échangeur sodium-calcium (92) (Figure 11). La mitochondrie pourrait également participer à la baisse de la concentration calcique cytosolique, même si son rôle exact est actuellement toujours débattu.

La SERCA2a est une protéine transmembranaire du réticulum sarcoplasmique chargée de la recapture du calcium cytosolique lors de la diastole. Ainsi, la SERCA2a engendre un effet lusitrope positif en améliorant la relaxation musculaire, mais également inotrope positif en augmentant le stock calcique disponible dans le réticulum sarcoplasmique pour la contraction suivante. Son activité est étroitement régulée par le phospholamban. En systole, le phospholamban inhibe l'activité de la SERCA2a. En diastole, la phosphorylation du phospholamban par la protéine kinase-A lève le frein

inhibiteur qu'exerce ce dernier sur la SERCA2a, permettant la recapture du calcium cytosolique dans le réticulum sarcoplasmique (81).

### 5. La relaxation du sarcomère

La relaxation du sarcomère résulte de l'arrêt de l'interaction entre les filaments d'actine et de myosine (91). Ainsi, la baisse de la concentration calcique cytosolique entraîne deux phénomènes. Premièrement, la fixation d'une molécule d'ATP au niveau de la tête de myosine, diminuant l'affinité entre les filaments d'actine et de myosine et résultant *in fine* en une rupture du pont actine-myosine. Deuxièmement, la dissociation du calcium de la troponine C, permettant un retour des filaments d'actine et de myosine dans leur configuration initiale. Il en résulte une relaxation du sarcomère avec un éloignement des deux stries Z.

### 6. Rôle du cytosquelette

En sus des filaments d'actine et de myosine, le cytosquelette des cardiomyocytes se compose des microtubules et des filaments intermédiaires. Les microtubules sont principalement formés de tubuline et sont principalement localisés au niveau de l'appareil contractile et du réticulum sarcoplasmique des cardiomyocytes (93). Ce sont des composants dynamiques du cytosquelette qui ont la capacité de se polymériser et de se dépolymériser rapidement dans le cytoplasme. De cette façon, les microtubules participent aux déformations des cardiomyocytes en réponse à des contraintes mécaniques. Les filaments intermédiaires sont constitués de protéines fibrillaires réparties en six classes distinctes. Dans les cardiomyocytes, la desmine et la synémine sont présentes dans le cytoplasme (94, 95) et les lamines sont présentes dans le noyau (96). Contrairement aux filaments d'actine et de myosine et aux microtubules, les filaments intermédiaires ne participent pas aux mouvements des cardiomyocytes et ont principalement un rôle de structure architecturale.

Au cours de la contraction et de la relaxation du myocarde, le cytosquelette des cardiomyocytes a deux rôles essentiels, que sont la mécanotransmission et la mécanotransduction. La mécanotransmission est la transmission des contraintes mécaniques générées par les ponts actine-myosine à l'ensemble du cardiomyocyte et *in fine* du myocarde, permettant une contraction homogène du myocarde. La mécanotransduction est l'activation de voies de signalisation intracellulaire particulières en réponse à la déformation de certains composants du cytosquelette, permettant l'adaptation de l'expression protéique aux contraintes mécaniques du cardiomyocyte. Enfin, le cytosquelette des cardiomyocytes joue également un rôle dans le couplage excitation-

contraction en maintenant à proximité les tubules-T, le sarcomère et le réticulum sarcoplasmique, formant ainsi des diades.

## V. MESURE DE LA TORSION ET DE LA DETORSION DU VENTRICULE GAUCHE

Depuis la première mise en évidence de la torsion et de la détorsion du ventricule gauche chez l'Homme au début des années 1970 par Ian Mc Donald (10) puis Nigel Ingels (11), de nombreuses techniques, initialement invasives et désormais non-invasives, ont été développées pour quantifier la torsion et la détorsion du ventricule gauche. Les avantages et inconvénients de chacune de ces techniques sont résumés dans le tableau 2. Ne sont décrites ici que les techniques permettant la mesure de la torsion du ventricule gauche. Ainsi, la description d'un dispositif optique fonctionnant à l'aide d'une source lumineuse et permettant d'évaluer uniquement la rotation apicale du ventricule gauche dans un modèle animal canin ne sera pas abordée ici (64).

TECHNIQUES DE MESURE DE LA TORSION ET DE LA DETORSION DU VENTRICULE GAUCHE		
	AVANTAGES	INCONVENIENTS
<b>Techniques invasives</b>		
Ciné-angiographie	Précision de la mesure	Invasif Limité au peropératoire de chirurgie cardiaque Limité à la recherche expérimentale
Sonomicrométrie	Précision de la mesure	Invasif Limité au peropératoire de chirurgie cardiaque Limité à la recherche expérimentale
<b>Techniques non-invasives</b>		
Imagerie par résonance magnétique	Non-invasif Haute résolution spatiale Précision de la mesure	Faible résolution temporelle Analyse chronophage Disponibilité limitée Contre-indiquée en cas de pacemaker ou de défibrillateur
Echocardiographie		
<i>Doppler tissulaire</i>	Non-invasif Disponibilité Coût peu élevé Haute résolution temporelle	Dépendant de l'angle d'insonation Artéfacts liés aux mouvements translationnels du myocarde Difficulté à obtenir la rotation apicale réelle Analyse nécessitant des algorithmes mathématiques complexes
<i>Speckle tracking</i>	Non-invasif Disponibilité Coût peu élevé Indépendant de l'angle d'insonation Fréquence d'acquisition des images peu élevée	Faible résolution temporelle comparée au Doppler tissulaire Pas d'analyse des speckles en dehors du plan d'acquisition Difficulté à obtenir la rotation apicale réelle Absence de standardisation dans l'acquisition des images Variabilité des logiciels d'analyse entre les échographes

**Tableau 2.** Principaux avantages et inconvénients des techniques de mesure de la torsion et de la détorsion du ventricule gauche.

## **A. Techniques invasives**

### *1. La ciné-angiographie*

Cette technique consiste à suturer en peropératoire de chirurgie cardiaque des marqueurs radio-opaques dans l'épicaarde de la paroi du ventricule gauche, puis à suivre le déplacement des marqueurs au cours de plusieurs cycles cardiaques par ciné-angiographie (10, 11, 97-99).

### *2. La sonomicrométrie*

Cette technique, considérée comme la technique de référence pour évaluer les techniques non-invasives, repose sur l'implantation, en peropératoire de chirurgie cardiaque, de cristaux piézo-électriques dans la paroi du ventricule gauche, puis sur la détection du déplacement des cristaux à l'aide d'un sonomicromètre en s'assurant de la qualité du signal ultrasonique à l'aide d'un oscilloscope (100, 101).

## **B. Techniques non-invasives**

### *1. L'imagerie par résonance magnétique*

L'imagerie par résonance magnétique est actuellement la technique de référence pour évaluer la torsion et la détorsion du ventricule gauche. Cette technique repose sur la possibilité de créer des marqueurs et de suivre leur déplacement au cours d'un cycle cardiaque à l'aide d'une séquence d'acquisition des images dédiée sur des coupes transversales au niveau de la base et de l'apex du cœur (52, 102, 103). Les principaux avantages de l'imagerie par résonance magnétique sont sa haute résolution spatiale et la précision de la mesure. En revanche, sa faible résolution temporelle peut grever les mesures réalisées, même si le développement de nouveaux protocoles d'acquisition des images permet désormais, en partie, d'atténuer cette principale limite technique (104, 105).

### *2. Le Doppler tissulaire en échocardiographie*

Le Doppler tissulaire permet de mesurer en échocardiographie le gradient de vélocité spatial instantané au niveau d'un segment myocardique au niveau de la base et de l'apex du ventricule gauche sur des coupes parasternales petit axe. Dès lors, l'intégration du gradient de vélocité permet

d'obtenir la mesure de la rotation apicale et basale du ventricule gauche et *in fine* la mesure de la torsion du ventricule gauche (106, 107).

Du fait d'une résolution temporelle supérieure à celle de l'imagerie par résonance magnétique (106), le Doppler tissulaire permet d'obtenir une mesure fiable de la torsion et de la détorsion du ventricule gauche, qui est bien corrélée aux mesures obtenues par imagerie par résonance magnétique (106, 107). Néanmoins, la dépendance des mesures à l'angle d'insonation entre la sonde d'échocardiographie et les structures cardiaques (106-110) représente la principale limite de cette technique, qui conduit à une faisabilité et à une reproductibilité réduites de la mesure (111). Enfin, la dépendance des mesures au mouvement translationnel secondaire à la respiration et à l'attraction exercée par le myocarde adjacent (composante en dehors du plan du mouvement), ainsi que la nécessité de recourir à des algorithmes mathématiques complexes limitent également l'utilisation du Doppler tissulaire pour la mesure de la torsion et de la détorsion du ventricule gauche en pratique clinique.

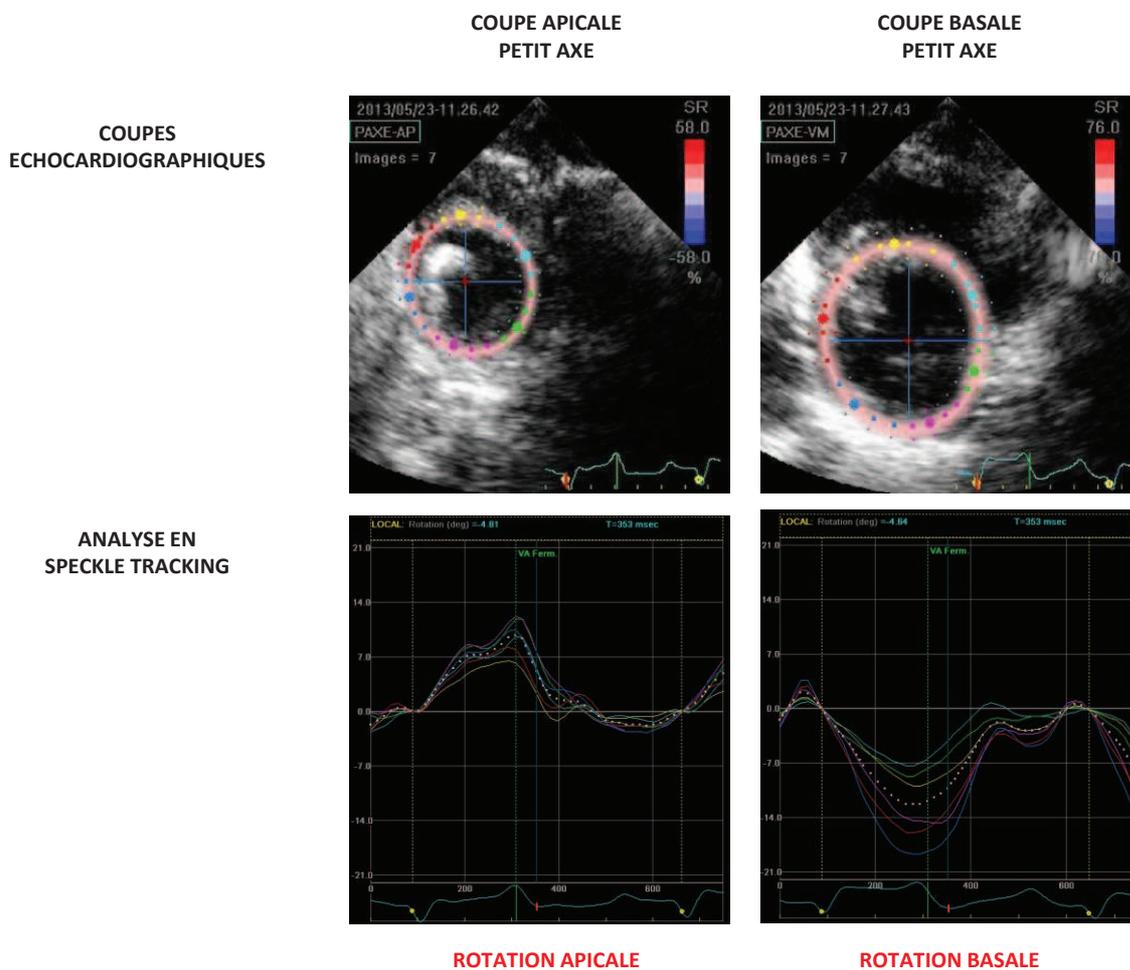
### 3. *Le speckle tracking en échocardiographie*

Cette technique, décrite en 2004 par Reisner, Leitman, Friedman et Lysyansky (112, 113) consiste au suivi, image par image tout au long d'un cycle cardiaque, de marqueurs acoustiques naturels appelés "*speckles*"; automatiquement identifiés par l'échocardiographe. L'échocardiographe peut ainsi fournir des informations sur le déplacement de ces *speckles* au cours du cycle cardiaque et *de facto* fournir des informations sur le mouvement tissulaire local (67, 68, 106, 107).

Contrairement au Doppler tissulaire, la technique de *speckle tracking* est indépendante de l'angle d'insonation entre la sonde d'échocardiographie et les structures cardiaques (114) et est indépendante tant du mouvement translationnel secondaire à la respiration que de l'attraction exercée par le myocarde adjacent (115). De surcroît, la fréquence d'acquisition des images nécessaire est moindre que celle nécessaire pour le Doppler tissulaire (116).

La mesure de la torsion et de la détorsion du ventricule gauche nécessite tout d'abord, comme pour le Doppler tissulaire, l'obtention des coupes parasternales petit axe de la base et de l'apex du ventricule gauche, puis leur analyse *a posteriori* à l'aide d'un logiciel dédié. Après délimitation manuelle du contour endocardique du ventricule gauche sur les coupes obtenues, le logiciel dédié délimite automatiquement les lignes épicaudique et mésocardiaque et définit ainsi la région d'intérêt au sein de laquelle sera suivi le mouvement des *speckles* tout au long du cycle cardiaque. Puis, après application de filtres et d'algorithmes mathématiques, le logiciel fournit une

mesure directe de la rotation apicale et basale du ventricule gauche (Figure 13). Enfin, la mesure de la torsion et de la détorsion du ventricule gauche est obtenue après traitement mathématique des données brutes de rotation ainsi obtenues.



**Figure 13.** Mesure de la rotation apicale et basale du ventricule gauche par la technique de *speckle tracking* à l'aide d'un échocardiographe Vivid 7 (GE Healthcare, Horten, Norvège).

La technique de *speckle tracking* permet ainsi d'obtenir une mesure de la torsion et de la détorsion du ventricule gauche fiable, bien corrélée aux mesures obtenues par imagerie par résonance magnétique (67, 107), reproductible et avec une faible variabilité inter et intra-observateur (117, 118). Les avantages principaux de cette technique par rapport à l'imagerie par résonance magnétique sont sa plus grande disponibilité, son utilisation possible au lit du patient, un temps de mesure plus court, ainsi que son moindre coût.

Néanmoins, la technique de *speckle tracking* comporte de nombreuses limites qui doivent être connues des cliniciens. Premièrement, la fiabilité de la mesure est grandement dépendante de la qualité de l'image échocardiographique obtenue (119) pour permettre, entre autre, une délimitation manuelle du contour endocardique du ventricule gauche la plus précise possible, afin d'obtenir une région d'intérêt incluant toute l'épaisseur du myocarde, puisqu'il existe une non-uniformité de mouvement entre les différentes couches du myocarde (120). Deuxièmement, la mesure de la rotation apicale dépend du positionnement de la sonde d'échocardiographie. Ainsi, il est recommandé de rapprocher la sonde d'échocardiographie de l'apex du ventricule gauche pour l'acquisition de la coupe parasternale petit axe de l'apex, au risque de sous-estimer la rotation apicale (121). Troisièmement, les différentes images échocardiographiques sont acquises au cours de cycle cardiaque différents. De ce fait, la mesure de la torsion, calculée comme la différence entre la rotation apicale et basale, ne peut pas refléter la véritable torsion du ventricule gauche si les cycles cardiaques sélectionnés pour les mesures n'ont pas la même durée (122). Quatrièmement, le *speckle tracking* repose sur une acquisition des images en deux dimensions. Dès lors, le mouvement de tous les *speckles* en dehors du plan d'acquisition ne peut être pris en compte dans la mesure des mouvements de rotation de la base et de l'apex du ventricule gauche. Pour remédier à cette limite, se développe depuis quelques années l'échocardiographie et le *speckle tracking* en trois dimensions (123). Néanmoins, les logiciels de *speckle tracking* en trois dimensions ne sont pas encore totalement aboutis au point et la fiabilité de la mesure n'est pas encore suffisante du fait de la faible résolution spatiale et temporelle des images échocardiographiques en trois dimensions (122, 124). Enfin, les filtres et les algorithmes mathématiques utilisés par l'échocardiographe sont conservés secrets par les industries et varient selon les échocardiographes, résultant en une « variabilité inter-échographe » de la mesure tant pour le *speckle tracking* en deux dimensions (125) qu'en trois dimensions (126).

# CHAPITRE II. MODULATION PHYSIOLOGIQUE ET MODIFICATION PATHOLOGIQUE DE LA TORSION ET DE LA DETORSION DU VENTRICULE GAUCHE

## I. MODULATIONS PHYSIOLOGIQUES

De nombreuses études expérimentales et cliniques montrent que chez le sujet sain, la torsion et la détorsion du ventricule gauche dépendent des conditions de charge cardiaque, de la contractilité ainsi que de l'activité lusitrope du cœur. Les effets des principales modifications physiologiques sont résumés dans le tableau 3.

MODULATIONS PHYSIOLOGIQUES DE LA TORSION ET DE LA DETORSION DU VENTRICULE GAUCHE		
	<i>TORSION</i>	<i>DETORSION</i>
Augmentation / Diminution de précharge	↗ / ↘	↗ / ↘ Indépendance aux conditions de charge?
Augmentation / Diminution de postcharge	↘ / ↗	↘ / ↗ Indépendance aux conditions de charge?
Augmentation de la contractilité	↗	↗
Diminution de la contractilité	↘	↘
Effort physique	↗	↗
Passage à l'âge adulte	↗	↗
Vieillesse	↗	↘

**Tableau 3.** Principales modifications physiologiques de la torsion et de la détorsion du ventricule gauche.

## A. Modifications des conditions de charge

### 1. Effets sur la torsion du ventricule gauche

Expérimentalement, toute modification de la précharge ou de la postcharge cardiaques induit une modification de la torsion du ventricule gauche (56, 127, 128). A postcharge cardiaque constante, toute augmentation de précharge résulte en une augmentation de la torsion du ventricule gauche (56). A précharge cardiaque constante, toute augmentation de postcharge résulte en une diminution de la torsion du ventricule gauche (56, 127, 128). Ainsi, la torsion du ventricule gauche est corrélée au volume télédiastolique ventriculaire gauche et inversement corrélée au volume télésystolique ventriculaire gauche (127).

Cette dépendance de la torsion du ventricule gauche aux conditions de charge du cœur existe également chez le sujet sain. Toute augmentation de la précharge par administration de sérum salé isotonique (129), ou diminution de la postcharge par administration de nitroprussiate de sodium (130) ou de trinitrine (131) résulte en une augmentation de la torsion du ventricule gauche. A *contrario*, toute augmentation de la postcharge, par exemple lors d'un effort isométrique (132), induit une diminution de la torsion du ventricule gauche.

Tous ces résultats suggèrent que des modifications relativement isolées de la précharge ou de la postcharge cardiaque affectent la torsion du ventricule gauche selon le principe de Frank-Starling (relation force-longueur) (133), ou le principe de la postcharge (relation force-vitesse) (134).

### 2. Effets sur la détorsion du ventricule gauche

Chez le sujet sain, toute modification des conditions de charge cardiaque induit une variation similaire de la détorsion et de la torsion du ventricule gauche (129, 130, 135). Ceci peut s'expliquer par le couplage contraction-relaxation, comme en atteste la forte corrélation qui existe entre la torsion et la détorsion du ventricule gauche (60, 61, 75-78).

Néanmoins, les effets des modifications des conditions de charge sur la détorsion du ventricule gauche ne sont pas aussi univoques. De façon inattendue et sans que d'explications claires ne soient pour le moment avancées, la détorsion du ventricule gauche semble également avoir un certain degré d'indépendance aux conditions de charge. Ainsi, l'augmentation de la précharge cardiaque par administration de sérum salé isotonique (131, 136), l'augmentation de la postcharge par administration de méthoxamine (136) ou lors d'un effort isométrique (132), ainsi que la diminution de la postcharge par administration trinitrine (131) n'ont pas d'effet sur la détorsion du

ventricule gauche, que la détorsion soit mesurée par imagerie par résonance magnétique ou par la technique de *speckle tracking* en échocardiographie.

## **B. Modifications de la contractilité cardiaque**

### *1. Augmentation de la contractilité*

Toute augmentation de la contractilité, par administration de dobutamine (26, 56, 99, 103, 127, 137-139) ou entraînement électrosystolique externe de l'oreillette gauche (103), induit une augmentation de la torsion du ventricule gauche.

De la même façon, toute augmentation de la contractilité résulte en une augmentation de la détorsion du ventricule gauche (26, 99, 135, 136, 138), qui devient également plus précoce dans le cycle cardiaque en se produisant majoritairement lors de la relaxation isovolumique du ventricule gauche (26).

### *2. Diminution de la contractilité*

*A contrario*, toute altération de la contractilité cardiaque, induite par une ischémie myocardique après ligature du réseau coronaire ou par l'administration de  $\beta$ -bloquant, résulte en une diminution de la torsion (61, 103, 138, 139) et de la détorsion (61, 135, 138) du ventricule gauche. A nouveau, ces variations similaires de la détorsion et de la torsion du ventricule gauche peuvent s'expliquer par le couplage contraction-relaxation.

## **C. Modifications liées à l'effort physique**

Les effets de l'effort physique sur la torsion et la détorsion du ventricule gauche chez le sujet sain sont plus complexes à décrire. Tout d'abord, les variations de la torsion et de la détorsion du ventricule gauche au cours d'un effort physique résultent des modifications combinées des conditions de charge et de la contractilité cardiaque induites par l'effort physique. Ainsi, tout effort physique entraîne une forte augmentation de la torsion et de la détorsion du ventricule gauche, du fait de l'effet combiné de l'augmentation de la précharge et de la contractilité cardiaque ainsi que de la diminution de la postcharge cardiaque (76-78, 140). Cette augmentation de la torsion et de la détorsion du ventricule gauche au cours d'un effort physique diminue avec l'âge (141) et est très

altérée chez les sujets avec une cardiomyopathie hypertrophique (60, 78) ou une insuffisance cardiaque à fraction d'éjection préservée (142), expliquant, entre autre, la mauvaise tolérance à l'effort de ces patients.

Il est intéressant de noter que l'effort physique induit une augmentation de la torsion et de la détorsion du ventricule gauche dans les mêmes proportions, illustrant de fait la préservation du couplage contraction-relaxation et ce, quelle que soit l'intensité de l'effort physique (60, 76-78). La préservation du couplage contraction-relaxation joue probablement un rôle crucial dans l'adaptation cardiaque à l'effort physique et dans la préservation du volume d'éjection systolique alors que le temps dévolu au remplissage ventriculaire est *de facto* diminué. En effet, l'augmentation de la torsion résulte en une augmentation de la détorsion du ventricule gauche, qui résulte elle-même en une augmentation de la succion ventriculaire et donc *in fine* en la préservation du remplissage précoce du ventricule gauche.

L'effort physique a également des effets sur la torsion et la détorsion du ventricule gauche des sujets au repos. Ces effets dépendent de la nature de l'effort et du degré d'entraînement des sujets. A ce titre, les sports d'endurance comme le marathon, à l'inverse des sports de force comme l'haltérophilie, induisent une augmentation de la torsion et de la détorsion du ventricule gauche au repos (143, 144). *A contrario*, les sportifs professionnels ont une torsion et une détorsion du ventricule gauche au repos moins importante que des sujets en bonne santé du même âge non sportifs (145, 146). Cette diminution de la torsion et de la détorsion au repos traduit très probablement une adaptation physiologique du cœur à l'entraînement, qui permet aux sportifs d'augmenter leur réserve de torsion et de détorsion à l'effort et *in fine* d'augmenter leurs performances.

## **D. Modifications liées à l'âge**

Entre l'enfance et l'âge adulte, la torsion et la détorsion du ventricule gauche augmente et ce quelle que soit la technique utilisée pour les mesurer (147, 148). De surcroît, le mouvement de rotation de la base du ventricule gauche change de sens entre l'enfance et l'âge adulte tandis que le mouvement de rotation de l'apex ne varie pas. Ainsi, dans l'enfance, l'apex et la base du ventricule gauche ont un mouvement de rotation antihoraire lors de l'éjection ventriculaire. A l'adolescence, la base du ventricule gauche n'a plus de mouvement de rotation. A l'âge adulte, la base du ventricule gauche a un mouvement de rotation horaire tandis que l'apex a un mouvement de rotation antihoraire, à l'origine d'un véritable mouvement de torsion du ventricule gauche lors de l'éjection

ventriculaire. Ces modifications du sens de rotation de la base du ventricule gauche sont liées à la maturation de la structure en double hélice du myocarde (147).

Le vieillissement induit de façon concomitante une diminution de la précharge cardiaque et une augmentation de la postcharge cardiaque (149-151), ce qui devrait logiquement résulter une diminution de la torsion et de la détorsion du ventricule gauche, au vu de l'effet des modifications des conditions de charge sur la torsion et la détorsion décrites précédemment.

En réalité, le vieillissement induit une augmentation de la torsion du ventricule gauche (141, 147, 148, 152-161). Cette augmentation, qui peut sembler paradoxale, pourrait être liée à la dysfonction sous-endocardique physiologique liée au vieillissement, induite par des phénomènes de fibrose et d'ischémie (154). Dès lors, l'amplitude du mouvement de rotation généré par la contraction des fibres myocardiques sous-endocardiques et qui s'oppose normalement au mouvement généré par les fibres sous-épicardiques diminue, résultant en une augmentation de la torsion du ventricule gauche. Il est important de souligner que cette augmentation « paradoxale » de la torsion ne traduit en rien un potentiel rôle bénéfique de la dysfonction sous-endocardique, mais pourrait plutôt être considérée comme une adaptation physiologique du cœur, qui contribuerait à la préservation du volume d'éjection systolique et de la fraction d'éjection ventriculaire gauche en dépit des troubles de la fonction systolique longitudinale du ventricule gauche induits par la dysfonction sous-endocardique (157). De surcroît, le rôle réel de la dysfonction sous-endocardique dans cette augmentation de torsion du ventricule gauche lors du vieillissement n'est toujours pas totalement clarifié.

*A contrario*, les troubles de la relaxation ventriculaire liés au vieillissement résultent en une altération de la détorsion du ventricule gauche, qui est non seulement réduite mais également retardée dans le cycle cardiaque, survenant après l'ouverture de la valve mitrale (147, 148, 155, 156, 158, 162).

## II. MODIFICATIONS PATHOLOGIQUES

En clinique, la mesure de la torsion et de la détorsion du ventricule gauche prend tout son sens pour caractériser au mieux les diverses pathologies cardiaques et les mécanismes physiopathologiques qui les sous-tendent. Si les caractéristiques de la torsion du ventricule gauche diffèrent entre les cardiopathies, la détorsion du ventricule gauche est systématiquement diminuée dans toutes les cardiopathies (163). Les caractéristiques de la torsion et de la détorsion du ventricule gauche dans les principales pathologies cardiaques sont résumées dans le tableau 4. La caractérisation de la torsion et de la détorsion du ventricule gauche en cas de dysfonction diastolique, en particulier dans le contexte de l'hypertension artérielle et de l'hypertrophie ventriculaire gauche, sera traitée ultérieurement dans un chapitre dédié. En effet, cette problématique est en lien direct avec les différents travaux expérimentaux, exposés dans la partie expérimentale du manuscrit, menés dans un modèle d'hypertension artérielle chronique et d'hypertrophie ventriculaire gauche chez le gros animal induites par la perfusion continue d'angiotensine II.

MODULATIONS PATHOLOGIQUES DE LA TORSION ET DE LA DETORSION DU VENTRICULE GAUCHE			
	<i>TORSION</i>	<i>DETORSION</i>	<i>DETORSION DANS LE CYCLE CARDIAQUE</i>
Cardiomyopathie hypertrophique	↗	↘	Retardée
Cardiomyopathie dilatée	↘	↘	Retardée
Cardiopathie ischémique	Ischémie sous-endocardique : ↗ Ischémie transmurale : ↘	↘	Retardée
Insuffisance cardiaque à FE réduite	↘	↘	Retardée
Péricardite constrictive	→	→	-
Cardiopathie restrictive	↘	↘	-
Insuffisance mitrale	→ ou ↗	↘	Retardée
Rétrécissement aortique	↗	↘	Retardée
Cardiomyopathie de non-compaction	Pas de mouvement de torsion	Pas de mouvement de détorsion	-

**Tableau 4.** Torsion et détorsion du ventricule gauche dans les principales pathologies cardiaques. FE : fraction d'éjection

## A. Cardiomyopathie hypertrophique

Au repos, chez les patients atteints de cardiomyopathie hypertrophique, la torsion du ventricule gauche est préservée ou augmentée (60, 78, 164-167), en particulier chez les patients avec une cardiomyopathie obstructive (168). L'augmentation de la torsion résulte principalement de l'augmentation de la rotation basale du ventricule gauche (169). Deux mécanismes sont probablement impliqués dans cette augmentation de la torsion du ventricule gauche. D'une part la fibrose myocardique, avec une augmentation de la torsion d'autant plus marquée que la fibrose myocardique est importante (170). D'autre part, la dysfonction sous-endocardique, principalement localisée à la base du ventricule gauche et liée à des phénomènes ischémiques (171), qui augmente la rotation basale et *in fine* la torsion du ventricule gauche. En effet, la dysfonction sous-endocardique réduit l'amplitude du mouvement de rotation basale généré par la contraction des fibres myocardiques sous-endocardiques et qui s'oppose normalement au mouvement de rotation basale généré par les fibres sous-épicardiques. Néanmoins, chez les patients avec des gradients intraventriculaires très élevés, la torsion du ventricule gauche diminue du fait de l'augmentation majeure de la postcharge cardiaque que l'obstruction génère (172). Enfin, il est important de noter que les patients avec un génotype pourvoyeur de cardiomyopathie hypertrophique ont une torsion du ventricule gauche augmentée, même si l'épaisseur de la paroi du ventricule gauche est normale (173). La détorsion du ventricule gauche est à la fois diminuée et retardée au cours du cycle cardiaque, commençant après la fermeture de la valve aortique et se terminant après l'ouverture de la valve mitrale, bien après la fin de la relaxation isovolumique (60, 168, 174). Ainsi, l'effet dissocié de la cardiomyopathie hypertrophique sur la torsion et la détorsion du ventricule gauche souligne la perte du couplage contraction-relaxation.

Au cours d'un effort physique, l'augmentation de la torsion et de la détorsion du ventricule gauche est très altérée chez les sujets atteints d'une cardiomyopathie hypertrophique (60, 78), illustrant l'absence de réserve contractile de ces patients à l'effort. De surcroît, la torsion et la détorsion n'augmentent pas nécessairement dans les mêmes proportions, soulignant à nouveau la perte du couplage contraction-relaxation. Tant l'absence de réserve contractile que la perte du couplage contraction-relaxation participent à la mauvaise tolérance à l'effort de ces patients.

L'alcoolisation septale permet d'améliorer la détorsion du ventricule gauche qui survient alors de façon plus précoce dans le cycle cardiaque et résulte ainsi en une diminution de la pression de remplissage ventriculaire gauche et en une meilleure tolérance à l'effort (175). Enfin, comme la fibrose est un facteur de risque reconnu de mort subite chez les patients avec une cardiomyopathie dilatée, la mesure de la torsion du ventricule gauche pourrait avoir un intérêt tout particulier pour

identifier les patients les plus à risque de mort subite et chez qui l'implantation d'un défibrillateur est primordiale.

## **B. Cardiomyopathie dilatée**

En cas de cardiomyopathie dilatée, y compris d'origine non-ischémique, la torsion du ventricule gauche est diminuée (176, 177) tandis que la détorsion du ventricule gauche est diminuée et retardée au cours du cycle cardiaque (177, 178). Un mouvement de torsion paradoxal avec une inversion des sens de rotation de la base et de l'apex du ventricule gauche peut être observé chez certains patients (179, 180) et est associé à un remodelage ventriculaire plus sévère (179). Enfin, chez les patients les plus sévères, la rotation apicale est très profondément altérée, de sorte que la rotation basale devient le principal déterminant de la torsion du ventricule gauche (181).

Les altérations de la torsion et de la détorsion du ventricule gauche sont directement corrélées à l'altération de la fraction d'éjection ventriculaire gauche (176, 177). Cette altération de la torsion résulte directement du changement de forme du ventricule gauche et de la modification de l'architecture en double hélice des fibres myocardiques. A ce titre, chez des patients atteints d'une cardiomyopathie dilatée et à fraction d'éjection ventriculaire gauche similaire, la torsion du ventricule gauche est directement liée à l'index de sphéricité de ce dernier (182). Chez ces patients, l'altération de la torsion du ventricule gauche résulte également de l'apparition d'une fibrose myocardique, l'importance de l'altération de la torsion étant corrélée à l'importance de la fibrose (183).

L'effet de la resynchronisation cardiaque sur la torsion du ventricule gauche est en cours d'évaluation. Des résultats préliminaires montrent que la resynchronisation permet d'améliorer la torsion du ventricule gauche et qu'une amélioration immédiate de la torsion du ventricule gauche après resynchronisation est un facteur prédictif de remodelage inverse du ventricule gauche à six mois (184). Enfin, chez les patients transplantés cardiaques, la mesure de la torsion du ventricule gauche pourrait permettre de détecter de façon non-invasive un rejet aigu du greffon (185).

## **C. Cardiopathie ischémique**

Les effets de l'ischémie myocardique sur la torsion et la détorsion en clinique n'ont été que peu documentés et sont complexes. Ils dépendent principalement de l'extension transmurale et de la taille de la zone ischémique.

En cas d'ischémie uniquement sous-endocardique, la torsion du ventricule gauche augmente du fait de la dysfonction sous-endocardique, comme décrit en cas de vieillissement du myocarde (voir paragraphe précédent).

En cas d'ischémie transmurale, la torsion du ventricule gauche est diminuée (186, 187) tandis que la détorsion du ventricule gauche est non seulement diminuée mais également retardée au cours du cycle cardiaque (186). Ces altérations sont cependant objectivées uniquement chez les patients avec une fraction d'éjection ventriculaire gauche réduite (186). Les altérations de la torsion et de la détorsion du ventricule gauche sont d'autant plus importantes que l'ischémie est étendue et la fraction d'éjection ventriculaire gauche réduite (188-190). Ainsi, le couplage contraction-relaxation semble également préservé en cas de cardiopathie ischémique, ce qui explique très probablement l'amélioration concomitante de la fonction systolique et diastolique du ventricule gauche observée après revascularisation du myocarde par pontage aorto-coronarien (191).

Enfin, la mesure de la torsion du ventricule gauche chez les patients avec une cardiopathie ischémique pourrait être un facteur pronostique important. D'une part, l'importance de l'altération de la torsion du ventricule gauche observée lors de l'épisode ischémique pourrait être un facteur prédictif intéressant du remodelage ventriculaire à moyen terme (187). D'autre part, l'augmentation de la torsion du ventricule gauche lors d'une échographie de stress réalisée quelques mois après l'épisode ischémique pourrait également être un facteur prédictif intéressant de remodelage inverse du ventricule gauche, facteur de bon pronostic à long terme chez les patients avec une cardiopathie ischémique (192).

## **D. Insuffisance cardiaque à fraction d'éjection réduite**

Chez les patients avec une insuffisance cardiaque à fraction d'éjection réduite symptomatique, définie par l'association d'une dyspnée ou une élévation de la pression artérielle pulmonaire d'occlusion et d'une fraction d'éjection ventriculaire gauche < 50%, la torsion du ventricule gauche est diminuée au repos, du fait d'une diminution de la rotation de la base et de l'apex du ventricule gauche (138, 193-195). De surcroît, la torsion du ventricule gauche est d'autant

plus diminuée que la fraction d'éjection ventriculaire gauche est altérée (193). Enfin, au cours d'un effort physique, l'augmentation de la torsion du ventricule gauche est très altérée chez les sujets atteints d'insuffisance cardiaque à fraction d'éjection réduite (195). La détorsion du ventricule gauche est à la fois diminuée et retardée dans le cycle cardiaque, ne débutant qu'après la fermeture de la valve aortique. Cette diminution de la détorsion peut s'expliquer par la préservation du couplage contraction-relaxation en cas d'insuffisance cardiaque à fraction d'éjection réduite, comme en atteste la corrélation qui existe entre la torsion et la détorsion du ventricule gauche chez ces patients (138).

## **E. Péricardite constrictive et cardiopathies restrictives**

La péricardite constrictive et les cardiopathies restrictives peuvent avoir la même présentation clinique mais diffèrent par leurs mécanismes physiopathologiques. Les cardiopathies restrictives se caractérisent par une infiltration du myocarde qui induit une dysfonction sous-endocardique mais préserve la fonction sous-épicardique. Dès lors, la fonction ventriculaire gauche longitudinale est altérée mais la torsion et la détorsion du ventricule gauche sont préservées. *A contrario*, la péricardite constrictive se caractérise par un épaissement et une rigidité du péricarde qui induit une dysfonction sous-épicardique mais préserve la fonction sous-endocardique. Ainsi, la fonction ventriculaire gauche longitudinale est préservée mais la torsion et la détorsion du ventricule gauche sont diminuées (196).

## **F. Cardiopathie valvulaire**

### *1. Insuffisance mitrale*

Chez les patients avec une insuffisance mitrale chronique sans altération de la fonction contractile ventriculaire gauche, la torsion du ventricule gauche est préservée (197) voire augmentée (198), du fait de l'augmentation de la précharge cardiaque qui en résulte, alors que la détorsion est diminuée et retardée dans le cycle cardiaque (197). Chez ces patients, la chirurgie valvulaire s'accompagne d'une normalisation de la torsion du ventricule gauche (199). *A contrario*, chez les patients avec une insuffisance mitrale chronique compliquée d'une altération de la fonction contractile ventriculaire gauche, la torsion du ventricule gauche diminue (200).

Quoi qu'il en soit, les altérations de la torsion et de la détorsion du ventricule gauche sont corrélées à la sévérité de l'insuffisance mitrale chronique (197, 201). Ainsi, la surveillance de la

torsion et de la détorsion du ventricule gauche pourrait aider le clinicien à déterminer le meilleur moment pour la prise en charge chirurgicale de ces patients. A ce titre, une étude récente a montré qu'une chirurgie réparatrice de la valve mitrale permet de mieux préserver la torsion du ventricule gauche qu'un remplacement valvulaire (202).

## 2. Rétrécissement aortique

La sténose aortique induit une augmentation de la rotation apicale et de la torsion du ventricule gauche (203, 204). Le mécanisme principal de cette augmentation de la torsion du ventricule gauche semble être la dysfonction sous-endocardique (205, 206), comme précédemment décrit pour la cardiomyopathie hypertrophique ou la cardiopathie ischémique. La détorsion du ventricule gauche est à la fois diminuée et retardée au cours du cycle cardiaque (207). Cette altération de la détorsion joue probablement un rôle dans l'élévation de la pression de remplissage ventriculaire gauche observée chez les patients avec un rétrécissement aortique (208). L'importance de l'altération de la torsion et de la détorsion du ventricule gauche dépend de la sévérité du rétrécissement aortique (207, 209).

Le remplacement valvulaire aortique s'accompagne d'une diminution de la torsion du ventricule gauche (209, 210), qui semble perdurer, voire même s'accroître plusieurs années après la chirurgie (211). Les données des effets de l'implantation d'une bioprothèse aortique par voie percutanée sur la torsion du ventricule gauche sont encore peu nombreuses. Il semblerait néanmoins que l'organisation architecturale des fibres myocardiques serait mieux préservée en cas de voie d'abord fémorale qu'en cas de voie d'abord apicale qui altérerait la rotation apicale du ventricule gauche et *in fine* la torsion du ventricule gauche (212).

## G. Cardiomyopathie de non-compactation

La cardiomyopathie de non-compactation se caractérise par un défaut d'accolement des fibres myocardiques entre la cinquième et la huitième semaine d'embryogénèse, qui résulte en la formation de nombreux récessus au niveaux de segments hypertrophiés et souvent hypokinétiques des deux ventricules (213, 214).

Ces anomalies de la structure cardiaque induisent une rotation de la base et de l'apex du ventricule gauche dans le même sens, appelée « mouvement de rotation rigide » (215, 216), qui résulte en une quasi-absence de mouvement de torsion du ventricule gauche (215, 217-220) et donc

*de facto* en l'absence de mouvement de détorsion du ventricule gauche. Ce « mouvement de rotation rigide » pourrait d'ailleurs être un des éléments diagnostiques importants de la cardiomyopathie de non-compaction (219). Néanmoins, certains patients atteints de cette cardiomyopathie ne présentent pas cette anomalie mécanique (220-222) et ont un meilleur pronostic fonctionnel (220).

## **H. Cardiotoxicité des chimiothérapies**

Récemment, la mesure de la torsion du ventricule gauche a été utilisée pour essayer de détecter précocement la cardiotoxicité des anthracyclines, avant toute altération des paramètres classiques de fonction systolique, tels que la fraction d'éjection ventriculaire gauche, qui ne s'altèrent que tardivement. Ainsi, il existe une corrélation entre la dose d'anthracyclines reçue et la mesure de la torsion du ventricule gauche (223). Dans ce contexte particulier, l'effet de la cardiotoxicité des chimiothérapies sur la détorsion du ventricule gauche n'a jamais été étudié.

Malgré l'apport d'une meilleure compréhension de la physiopathologie et d'éventuelles implications cliniques et thérapeutiques, la mesure de la torsion et de la détorsion du ventricule gauche en pratique clinique n'est toutefois pas encore recommandée (12). D'une part, il existe une variabilité certaine de la mesure entre les deux techniques non-invasives actuellement disponibles que sont l'imagerie par résonance magnétique et le *speckle tracking*. D'autre part, il perdure un manque de standardisation dans le traitement de l'image en imagerie par résonance magnétique et dans l'acquisition des coupes parasternales petit axe en échocardiographie.

# CHAPITRE III. TORSION ET DETORSION DU VENTRICULE GAUCHE ET DYSFONCTION DIASTOLIQUE

## I. PHYSIOPATHOLOGIE DE LA DYSFONCTION DIASTOLIQUE

La dysfonction diastolique se caractérise par l'incapacité du ventricule gauche à se relaxer et à se laisser distendre au cours de la diastole (3, 4). Ainsi, la dysfonction diastolique résulte d'une altération de la relaxation active et/ou de la compliance passive du ventricule gauche, à l'origine d'une altération du remplissage ventriculaire qui se traduit par une augmentation de la pression de remplissage du ventricule gauche (4).

### A. Altération de la relaxation active du ventricule gauche

La dysfonction diastolique se caractérise entre autre par l'incapacité du ventricule gauche à se relaxer, en particulier en cas de tachycardie (224). Physiologiquement, la relaxation active du ventricule gauche correspond à la dissociation des ponts actine-myosine. Dès lors, tout paramètre qui interfère, tant au niveau du ventricule gauche qu'au niveau des cardiomyocytes, avec la dissociation des ponts actine-myosine peut contribuer à l'altération de la relaxation du ventricule gauche.

#### *1. Modifications des conditions de charge cardiaque*

Toute modification des conditions de précharge et/ou de postcharge peut influencer la vitesse de relaxation du ventricule gauche (225). Ainsi, toute application d'une précharge au muscle papillaire suite à son étirement ralentit la relaxation induite par une stimulation  $\beta$ -adrénergique (226). De la même façon, toute augmentation de la postcharge cardiaque peut retarder et ralentir la relaxation du ventricule gauche (227, 228).

## 2. Altérations de l'homéostasie calcique

Les altérations de l'homéostasie calcique peuvent toucher les différents acteurs impliqués dans la recapture et dans la libération du calcium cytosolique, à savoir la SERCA2a et sa protéine régulatrice le phospholamban, ainsi que les récepteurs de la ryanodine de type 2 et leur protéine régulatrice la calstabilité 2.

En cas d'insuffisance cardiaque, incluant tant une dysfonction systolique qu'un certain degré de dysfonction diastolique, il existe une diminution de l'expression de la SERCA2a et du phospholamban (229, 230) à l'origine d'une moindre recapture du calcium cytosolique résultant en une augmentation de la concentration cytosolique de calcium lors de la diastole et *in fine* en une altération de la relaxation du ventricule gauche. La surexpression de l'échangeur sodium-calcium peut compenser cette baisse d'activité de la SERCA2a en extrudant le calcium hors de la cellule (231, 232). Néanmoins, l'augmentation de la concentration sodique cytosolique et la prolongation du potentiel d'action qui en résultent peuvent également retarder la relaxation du ventricule gauche (233, 234). De façon concomitante, il existe une hyperphosphorylation dépendante de la protéine kinase-A des récepteurs de la ryanodine de type 2, à l'origine d'une dissociation de la calstabilité 2 (235-237). De plus, l'expression de la calstabilité 2 est également diminuée (238). Ces anomalies peuvent être à l'origine de fuites calciques diastoliques, donc d'une augmentation de la concentration calcique cytosolique en diastole, qui résulte *in fine* également en une altération de la relaxation du ventricule gauche.

En cas de dysfonction diastolique isolée sans altération majeure de la fonction systolique, il existe également des altérations de l'homéostasie calcique susceptibles d'altérer la relaxation du ventricule gauche. Ainsi, l'étude de l'homéostasie calcique dans des modèles d'hypertrophie ventriculaire gauche sans altération de la fonction systolique révèle une diminution de l'expression des récepteurs de la ryanodine de type 2 (239-242), une hyperphosphorylation des récepteurs de la ryanodine de type 2 (243), ainsi qu'une diminution de l'expression de la SERCA2a, alors que l'expression du phospholamban et de l'échangeur sodium-calcium est inchangée (243). Enfin, il semblerait que l'extrusion de calcium hors de la cellule par l'échangeur sodium-calcium soit également diminuée en cas d'hypertrophie ventriculaire gauche (244).

### 3. Modifications du sarcomère et de ses protéines régulatrices

Des modifications de la myosine peuvent être à l'origine d'une altération de la relaxation du ventricule gauche. D'une part, la prédominance de l'isoforme  $\beta$  par rapport à l'isoforme  $\alpha$  de la chaîne lourde de la myosine ralentit la relaxation du ventricule gauche (245). D'autre part, une mutation touchant le site d'interaction de la myosine avec l'actine (mutation R403Q de l'isoforme  $\alpha$  de la chaîne lourde) prolonge significativement la relaxation du ventricule gauche dans un modèle murin, y compris chez les animaux jeunes sans hypertrophie ventriculaire gauche ou dysfonction systolique (246).

La phosphorylation de la troponine I, dépendante de la protéine kinase-A, diminue la sensibilité des myofilaments au calcium, permet ainsi la dissociation des ponts actine-myosine et accélère la relaxation ventriculaire (247-249). A ce titre, l'étude de la relaxation de cardiomyocytes issus de biopsies prélevées chez des patients hypertendus avec une hypertrophie ventriculaire gauche et une dysfonction diastolique sans altération de la fraction d'éjection révèle une altération de la relaxation, non retrouvée dans les cardiomyocytes issus de patients sans antécédent d'hypertension artérielle et d'hypertrophie ventriculaire gauche. Cette altération de la relaxation résulte d'une persistance des ponts actine-myosine associée à une hypophosphorylation de près de 25% de la troponine I (250).

En sus de l'hypophosphorylation de la troponine I, celle de la protéine C liée à la myosine (ou MyBP-C) pourrait être un autre mécanisme impliqué dans l'altération de la relaxation ventriculaire gauche (251-253). Ce rôle de la protéine C liée à la myosine a récemment été mis en exergue dans un modèle murin dans lequel, la phosphorylation de cette protéine induit une accélération de la relaxation ventriculaire gauche, alors que l'absence de phosphorylation de la protéine C liée à la myosine induit le développement d'une dysfonction diastolique et d'un phénotype d'insuffisance cardiaque à fraction d'éjection préservée (254).

### 4. Altérations de la synthèse du monoxyde d'azote

Le monoxyde d'azote (NO) et sa voie de signalisation intracellulaire jouent un rôle central dans la fonction diastolique et en particulier la relaxation du ventricule gauche. En effet, son second messenger, la guanosine monophosphate cyclique, d'une part réduit la sensibilité des myofilaments au calcium, permettant ainsi la dissociation des ponts actine-myosine et *in fine* la relaxation ventriculaire, et d'autre part potentialise la recapture du calcium cytosolique par le réticulum sarcoplasmique (255, 256). L'effet cardiaque autocrine et paracrine du monoxyde d'azote dépend de

l'isoforme et de la localisation de la NO synthase qui le produit (257). Ainsi, les effets bénéfiques du monoxyde d'azote sur la relaxation du ventricule gauche tant chez le sujet sain (255) que chez les sujets atteints de cardiomyopathie dilatée (258) ou de sténose aortique (259) sont médiés par le monoxyde d'azote synthétisé par l'isoforme endothéliale de la NO synthase. *A contrario*, l'altération de la synthèse et du catabolisme du monoxyde d'azote est étroitement liée au développement d'une dysfonction diastolique chez des patients en insuffisance cardiaque chronique (260, 261). De même, l'altération de la NO synthase est associée au développement d'une dysfonction diastolique dans un modèle de souris hypertendues (262). De façon intéressante, les altérations de la synthèse du monoxyde d'azote pourraient différer selon le sexe (263).

Enfin, la dissociation des ponts actine-myosine est un processus actif qui nécessite de l'énergie. Ainsi, l'altération de la relaxation du ventricule gauche peut également résulter d'un déficit énergétique cardiaque (264-266). Dès lors, le monoxyde d'azote synthétisé par l'isoforme endothéliale de la NO synthase pourrait également améliorer la relaxation du ventricule gauche par son action régulatrice du métabolisme cardiaque (257, 267).

## **B. Altération de la compliance passive du ventricule gauche**

En l'absence de toute atteinte de l'endocarde ou du péricarde, l'altération de la compliance passive du ventricule gauche résulte principalement d'une modification de la composition de la matrice extracellulaire et des caractéristiques des cardiomyocytes. De façon intéressante, il existe une interaction étroite entre la composition de la matrice extracellulaire et les caractéristiques des cardiomyocytes, qui repose sur les protéines de la matrice extracellulaire. Ainsi, toute modification de la composition de la matrice extracellulaire peut modifier tant les fonctions (268) que la survie des cardiomyocytes (269).

### *1. Modification de la composition de la matrice extracellulaire*

La matrice extracellulaire est principalement composée de protéines fibrillaires (collagène de type I et de type III, élastine), des protéoglycanes et des protéines de la membrane basale (collagène de type IV, laminine, fibronectine). La rigidité de la matrice extracellulaire est déterminée par la quantité des fibres de collagène, l'abondance des fibres de collagène de type I et le degré de chevauchement des fibres de collagène. En cas de dysfonction diastolique, les trois déterminants de la rigidité de la matrice extracellulaire peuvent être touchés.

La surabondance de fibres de collagène de type I résulte d'un déséquilibre entre leur synthèse excessive et leur dégradation diminuée (270), conduisant à la fibrose interstitielle et *in fine* à une diminution de la compliance du ventricule gauche. Cette synthèse excessive a été mise en exergue chez les patients hypertendus par l'augmentation de la concentration plasmatique de la partie carboxy-terminale du procollagène de type I (271, 272). La dégradation excessive des fibres de collagène de type I résulte d'une moindre activité des métalloprotéinases et d'une activité accrue des inhibiteurs tissulaires des métalloprotéinases (273, 274). A ce titre, la concentration plasmatique de l'inhibiteur tissulaire des métalloprotéinases de type 1 a été proposé comme marqueur de développement de l'insuffisance cardiaque à fraction d'éjection préservée chez les patients hypertendus (275).

## *2. Modification des caractéristiques des cardiomyocytes*

En cas de dysfonction diastolique, la rigidité des cardiomyocytes est augmentée (276-279). Cette augmentation de la rigidité des cardiomyocytes est principalement liée à trois types de modifications de la titine, tant post-transcriptionnelles que post-traductionnelles.

Premièrement, il existe une modification du rapport entre les isoformes N2B et N2BA avec l'expression majoritaire de la forme N2B plus rigide (276, 280, 281). Deuxièmement, il existe une hypophosphorylation tant protéine kinase-A que protéine kinase-G (32, 281-284) ou protéine kinase  $C\alpha$  (285) dépendante de l'isoforme N2B, contribuant à renforcer sa rigidité et *in fine* la rigidité des cardiomyocytes. Cette hypophosphorylation, en particulier protéine kinase-G dépendante, résulte d'une moindre biodisponibilité du monoxyde d'azote (NO) du fait du stress oxydant (286). Troisièmement, le stress oxydatif peut induire la formation de ponts disulfures dans la structure de la titine N2B, renforçant sa rigidité (287).

Enfin, parallèlement à ces modifications de la titine, l'augmentation de la rigidité des cardiomyocytes résulte également de l'augmentation de la densité des microtubules, autre composant du cytosquelette des cardiomyocytes (288-291).

## *3. Modifications neuro-hormonales*

Toute atteinte ventriculaire gauche induit l'activation chronique du système rénine-angiotensine-aldostérone myocardique (292), qui joue également un rôle important dans l'altération de la compliance passive du ventricule gauche (293). Tout d'abord, l'activation de ce système

favorise le développement de l'hypertrophie ventriculaire gauche induite par une augmentation de la postcharge cardiaque et en particulier par l'hypertension artérielle (294). Par ailleurs, l'activation de ce système participe également à la modification de la composition de la matrice extracellulaire et *in fine* au développement de la fibrose interstitielle (31, 295). En effet, l'aldostérone stimule la synthèse de molécules profibrotiques telles que le facteur de croissance transformant-1 (TGF-1), l'endothéline-1 et l'inhibiteur de l'activateur du plasminogène 1 (PAI-1) (296). Il est important de noter que l'inhibition de ce système rénine-angiotensine-aldostérone myocardique permet d'atténuer voire de prévenir les effets délétères qu'il induit (292, 297, 298).

## **II. TORSION ET DETORSION DU VENTRICULE GAUCHE ET FONCTION DIASTOLIQUE**

### **A. Rôle de la torsion et de la détorsion du ventricule gauche dans la fonction diastolique**

#### *1. Rôle de la torsion du ventricule gauche*

Comme décrit précédemment, la torsion du ventricule gauche facilite l'éjection du sang dans l'aorte puis dans la circulation périphérique. Ainsi, il s'agit principalement un indice de fonction systolique, comme en atteste la forte corrélation qui existe entre la torsion du ventricule gauche, le volume d'éjection systolique et la fraction d'éjection ventriculaire gauche tant chez l'animal (56) que chez le volontaire sain (57).

De prime abord, la torsion ne semble donc pas devoir jouer de rôle particulier dans la fonction diastolique du ventricule gauche. Néanmoins, il existe un couplage contraction-relaxation physiologique, liant intimement la torsion et la détorsion du ventricule gauche (60, 61, 75-78), cette dernière étant l'élément clé de la fonction diastolique. Dès lors, la torsion intervient également dans la fonction diastolique du ventricule gauche. Plus la torsion diminue, plus la pression de remplissage du ventricule gauche est augmentée (130). Enfin, il a été montré expérimentalement que la torsion du ventricule gauche est un déterminant de la succion ventriculaire (101). Plus la torsion diminue, plus la pression minimale ventriculaire gauche atteinte en diastole, qui est un marqueur reconnu de la succion ventriculaire (299) est élevée (130).

## 2. Rôle de la détorsion du ventricule gauche

La détorsion du ventricule gauche est un élément clé de la fonction diastolique. Tout d'abord, la détorsion survient principalement pendant la phase de relaxation isovolumique (26, 60) et joue un rôle prépondérant dans la relaxation du ventricule gauche. Plus la détorsion diminue, plus la constante de temps de la relaxation isovolumique ( $\tau$ ) augmente (61, 135, 136) et plus la vitesse maximale du déplacement diastolique de l'anneau mitral dans le plan longitudinal lors du remplissage précoce, qui est un marqueur échocardiographique de fonction diastolique, est basse (300). Puis, la vitesse maximale du mouvement de détorsion du ventricule gauche, également atteinte pendant la relaxation isovolumique, est concomitante de l'ouverture de la valve mitrale (60, 61) et précède la formation du gradient de pression intraventriculaire (60), qui est un marqueur de la suction ventriculaire (301, 302). De surcroît, la détorsion est corrélée au gradient de pression intraventriculaire (61), de sorte que plus la détorsion diminue et plus la pression minimale ventriculaire gauche atteinte en diastole est élevée (130). En d'autres termes, la détorsion du ventricule gauche est le lien temporel entre la relaxation et la suction ventriculaire gauche (60, 61). *In fine*, plus la détorsion diminue, plus la pression de remplissage du ventricule gauche est augmentée, qu'elle soit mesurée de façon invasive (130) ou estimée de façon non-invasive par l'échocardiographie (300). Enfin, si la détorsion du ventricule gauche joue un rôle majeur dans la phase précoce de la diastole, à savoir la relaxation du ventricule gauche et la phase de remplissage précoce, son rôle semble être nettement moins déterminant dans la phase tardive de la diastole. A ce titre, la détorsion ne semble pas associée aux mesures de compliance du ventricule gauche (75, 135).

## B. Effets de la dysfonction diastolique sur la torsion et la détorsion du ventricule gauche

Au vu du rôle de la torsion et de la détorsion du ventricule gauche dans la fonction diastolique, tant la torsion que la détorsion devraient être altérées en cas d'atteinte de la fonction diastolique. En réalité, les effets de la dysfonction diastolique sur la torsion et la détorsion du ventricule gauche semblent être plus complexes et sont résumés dans le tableau 5.

TORSION ET DETORSION DU VENTRICULE GAUCHE ET DYSFONCTION DIASTOLIQUE			
	<i>TORSION</i>	<i>DETORSION</i>	<i>DETORSION DANS LE CYCLE CARDIAQUE</i>
Diabète	↗	→	-
Syndrome métabolique	↗	↗	-
Hypertension artérielle	→ ou ↗	↘	Retardée
Insuffisance cardiaque à FE préservée	→ ou ↘	→	± Retardée

**Tableau 5.** Effets de la dysfonction diastolique sur la torsion et la détorsion du ventricule gauche. FE : fraction d'éjection

### 1. Facteurs de risque de la dysfonction diastolique

Tous les patients avec une dysfonction diastolique, qu'elle soit associée ou non à une insuffisance cardiaque à fraction d'éjection préservée ont en commun de présenter de multiples facteurs de risque cardiovasculaire, en particulier l'âge (303-305), le diabète (306-309), l'hypertension artérielle (303, 304, 310-313) ou l'obésité (305, 307, 309).

### 2. Effets sur la torsion du ventricule gauche

Chez les patients présentant des facteurs de risque cardiovasculaire, la torsion du ventricule gauche est *a minima* préservée voire augmentée. Ainsi, la torsion du ventricule gauche est augmentée chez les patients diabétiques (314-316), chez les patients présentant un syndrome métabolique (317), alors que la torsion peut être préservée (318) ou augmentée (319-321) chez les patients hypertendus. *A contrario*, chez les patients présentant une insuffisance cardiaque à fraction d'éjection préservée, la torsion peut être préservée (138, 193, 322) ou diminuée (142, 194). Ces effets non univoques de la dysfonction diastolique sur la torsion du ventricule gauche peuvent avoir plusieurs explications.

Premièrement, ces facteurs de risque cardiovasculaires et l'hypertrophie ventriculaire gauche sont à l'origine des remaniements de la matrice extracellulaire conduisant à la fibrose myocardique (323) et à l'origine de phénomènes ischémiques microcirculatoires altérant la réserve coronaire (317, 324-326). Il en résulte une dysfonction sous-endocardique, puisque les fibres sous-endocardiques sont les plus sensibles à ces phénomènes de fibrose et d'ischémie (324, 327, 328). Cette dysfonction sous-endocardique induit d'une part une altération de la fonction longitudinale du ventricule gauche du fait de leur orientation parallèle au grand-axe du ventricule gauche (327, 329) et d'autre part, une augmentation de la torsion du ventricule gauche, puisque l'amplitude du mouvement de rotation généré par la contraction des fibres myocardiques sous-endocardiques, qui s'oppose normalement au mouvement généré par les fibres sous-épicardiques, diminue. Ainsi, cette augmentation de la torsion du ventricule gauche peut probablement être considérée comme un mécanisme compensateur de l'altération de la fonction longitudinale, permettant de préserver la fonction systolique du ventricule gauche et pouvant expliquer l'altération tardive de la fraction d'éjection ventriculaire gauche chez ces patients (193, 330, 331).

Deuxièmement, la grande majorité de ces patients présente un remodelage ventriculaire à type d'hypertrophie ventriculaire gauche. L'augmentation de l'épaisseur de la paroi ventriculaire modifie l'architecture des fibres myocardiques en majorant le bras de levier des fibres myocardiques sous-épicardiques (332). Dès lors, l'amplitude du mouvement de rotation généré par la contraction des fibres myocardiques sous-épicardiques augmente (53) et résulte *in fine* en une augmentation de la torsion du ventricule gauche, puisque le sens de rotation de la base et de l'apex du ventricule gauche est régi par les fibres sous-épicardiques.

Troisièmement, l'effet de la dysfonction diastolique sur la torsion du ventricule gauche pourrait dépendre de sa sévérité. Ainsi, chez les patients présentant une dysfonction diastolique mineure, la torsion du ventricule gauche est augmentée. Chez les patients présentant une dysfonction diastolique modérée, la torsion est similaire à la torsion chez les sujets sains. Enfin, chez les patients présentant une dysfonction diastolique sévère, la torsion du ventricule gauche diminue (330). Dès lors, la diminution de la torsion du ventricule gauche retrouvée dans certaines études traduit probablement que les patients inclus étaient à un stade plus avancé de la maladie avec une dysfonction non seulement sous-endocardique mais également sous-épicardique (142, 194).

### *3. Effets sur la détorsion du ventricule gauche*

Du fait de l'altération de la relaxation du ventricule gauche en cas de dysfonction diastolique et du rôle crucial joué par la détorsion du ventricule gauche au cours de cette phase, toute dysfonction diastolique devrait s'accompagner d'une altération de la détorsion du ventricule gauche. En réalité, les effets de la dysfonction diastolique sur la détorsion, à l'instar des effets sur la torsion, ne sont pas si univoques.

Chez les patients présentant des facteurs de risque cardiovasculaire, la détorsion du ventricule gauche peut être augmentée (317), préservée (315) ou alors non seulement diminuée mais également retardée dans le cycle cardiaque, se terminant après l'ouverture de la valve mitrale, bien après la fin de la relaxation isovolumique (75, 300). Chez les patients hypertendus, la détorsion du ventricule gauche est diminuée (318, 321) mais également retardée dans le cycle cardiaque (318). Enfin, chez les patients présentant une insuffisance cardiaque à fraction d'éjection préservée, la détorsion peut être préservée (193), ou alors préservée mais retardée dans le cycle cardiaque (138, 322).

Comme pour la torsion du ventricule gauche, l'effet de la dysfonction diastolique sur la détorsion du ventricule gauche pourrait dépendre de sa sévérité. Premièrement, la détorsion du ventricule gauche est augmentée en cas de dysfonction diastolique mineure, similaire à la détorsion chez les sujets sains en cas de dysfonction diastolique modérée et enfin diminuée en cas de dysfonction diastolique sévère (300, 330). Deuxièmement, la détorsion du ventricule gauche est retardée (138) ou d'autant plus retardée (300) dans le cycle cardiaque que la dysfonction diastolique semble sévère ou que l'hypertrophie ventriculaire gauche est importante (318).

Ainsi, par analogie avec la torsion, l'augmentation de la détorsion du ventricule gauche chez les patients les moins sévères pourrait être liée à une dysfonction exclusivement sous-endocardique. De même, cette augmentation de la détorsion du ventricule gauche pourrait être considérée comme un mécanisme compensateur de l'altération de la relaxation longitudinale, contribuant à préserver une pression de remplissage ventriculaire gauche et une pression auriculaire gauche non élevée (333).

Enfin, les mécanismes qui sous-tendent l'altération de la détorsion du ventricule gauche au cours de la dysfonction diastolique ne sont à l'heure actuelle pas clairement élucidés. L'hypertrophie ventriculaire gauche ainsi que les troubles de l'homéostasie calcique pourraient être impliqués (333).

### III. EVALUATION DE LA FONCTION DIASTOLIQUE EN CLINIQUE

#### A. Evaluation invasive

La méthode de référence pour l'évaluation de la fonction diastolique du ventricule gauche est le cathétérisme cardiaque, qui permet d'évaluer tant la relaxation active que la compliance passive du ventricule gauche.

##### 1. Evaluation de la relaxation active du ventricule gauche

L'évaluation de la relaxation active repose sur la mesure de la pression ventriculaire à l'aide d'un cathéter équipé d'un micro-manomètre. A partir de cette mesure, deux paramètres sont calculés : la constante de temps de la relaxation isovolumique ( $\tau$ ) et la valeur minimale de la dérivée première de la pression ventriculaire gauche par rapport au temps ( $dP/dt_{\min}$ ).

La constante de temps de la relaxation isovolumique ( $\tau$ ) est obtenue à partir de la modélisation mathématique de la courbe de décroissance de la pression ventriculaire gauche lors de la phase de relaxation isovolumique. De nombreux modèles mathématiques peuvent être utilisés pour le calcul de  $\tau$  (334-336), mais quel que soit le modèle utilisé, il est communément admis qu'une valeur de  $\tau$  supérieure à 48 ms traduit la présence d'une altération de la relaxation du ventricule gauche et *in fine* d'une dysfonction diastolique (337).

La valeur minimale de la dérivée première de la pression ventriculaire gauche par rapport au temps ( $dP/dt_{\min}$ ) permet de caractériser la vitesse de relaxation du ventricule gauche. Néanmoins, sa dépendance à la fréquence et aux conditions de charge cardiaque en font un indice peu fiable.

##### 2. Evaluation de la compliance passive du ventricule gauche

L'évaluation de la compliance passive repose sur la mesure concomitante de la pression et du volume ventriculaire gauche à l'aide respectivement d'un cathéter équipé d'un micro-manomètre et d'un cathéter à conductance. A partir de la courbe pression-volume alors obtenue, peuvent être calculées l'élastance ou la compliance passive du ventricule gauche (338, 339).

L'élastance du ventricule gauche se définit par le rapport, à un instant  $t$ , entre la variation de pression et la variation de volume du ventricule gauche. Plus usitée en clinique, la compliance passive du ventricule gauche qui correspond en réalité à l'inverse de l'élastance. En cas de

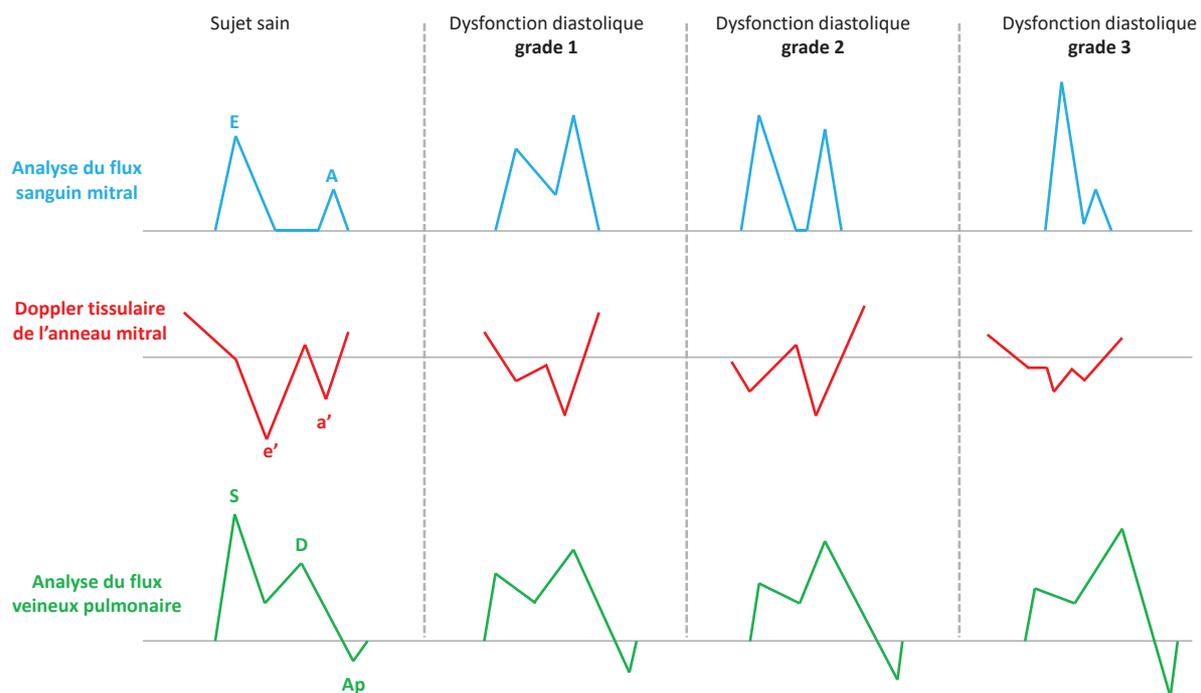
dysfonction diastolique, l'élastance du ventricule gauche est augmentée alors que sa compliance passive est diminuée.

## **B. Evaluation non-invasive**

L'évaluation non-invasive de la dysfonction diastolique repose sur la mesure de très nombreux paramètres en échocardiographie. Les recommandations pour l'évaluation de la fonction diastolique du ventricule gauche en échocardiographie ont été récemment mises à jour (340). Ici seuls les principaux paramètres sont décrits.

### *1. Analyse du flux sanguin mitral*

Initialement décrite par Appleton en 1988 (341), l'analyse du flux sanguin mitral pour caractériser la dysfonction diastolique est réalisée à l'aide du Doppler pulsé sur une coupe apicale quatre cavités. A l'ouverture de la valve mitrale, la pression dans le ventricule gauche continue de diminuer alors que la pression qui règne dans l'oreillette gauche est plus élevée. Il en résulte un gradient de pression entre l'oreillette et le ventricule gauche, qui génère une onde E, dont l'amplitude dépend de la relaxation du ventricule gauche et de la pression protodiastolique dans l'oreillette gauche. Puis, la pression dans le ventricule gauche s'élève et tend à s'égaliser avec la pression dans l'oreillette gauche, réduisant d'autant le gradient de pression entre le ventricule et l'oreillette gauche. Dès lors, le remplissage ventriculaire s'arrête et le Doppler ne détecte pas de vitesse sanguine significative au cours de cette phase appelée diastase. Enfin, la fin de la diastole est marquée par la systole auriculaire, qui génère une onde A, qui chez le sujet sain et jeune a une amplitude inférieure à celle de l'onde E (342). L'aspect du flux sanguin en Doppler dépend de la sévérité de la dysfonction diastolique (Figure 14).



**Figure 14.** Principaux paramètres échocardiographiques permettant d'évaluer la fonction diastolique ventriculaire gauche. E: onde générée par le remplissage précoce du ventricule gauche, A: onde générée par la systole auriculaire, e': onde générée par le déplacement diastolique de l'anneau mitral lors de la phase de remplissage précoce du ventricule gauche, a': onde générée par le déplacement diastolique de l'anneau mitral lors de la systole auriculaire, S: onde systolique antérograde, D: onde diastolique antérograde, Ap: onde diastolique rétrograde.

En cas d'altération isolée de la relaxation du ventricule gauche, la pression ventriculaire gauche décroît moins vite et à l'ouverture de la valve mitrale, le gradient de pression entre l'oreillette et le ventricule gauche est moindre. Il en résulte une diminution de l'amplitude et de la vitesse de décroissance (ou une augmentation du temps de décélération) de l'onde E et une augmentation compensatrice de la part du remplissage ventriculaire liée à la systole auriculaire, qui se traduit par une augmentation de l'amplitude de l'onde A. En conséquence, on observe une inversion du rapport E/A (343).

En cas de dysfonction diastolique plus marquée, l'altération de la relaxation du ventricule gauche entraîne une élévation des pressions d'amont du ventricule gauche. Dès lors, le gradient de pression entre l'oreillette et le ventricule gauche augmente, l'amplitude de l'onde E augmente et dépasse celle de l'onde A, donnant au flux sanguin mitral un aspect pseudo-normal. Le temps de décélération de l'onde E est également réduit (343). Pour faire la différence entre un profil de flux sanguin mitral normal et pseudo-normal, il peut être nécessaire de recourir à une manœuvre de Valsalva qui diminue la précharge cardiaque. En cas de profil pseudo-normal, la manœuvre de Valsalva permet de démasquer le trouble de la relaxation sous-jacent avec apparition d'un profil de flux sanguin mitral inversé ( $E/A < 1$ ). *A contrario*, en cas de profil normal, la baisse de la précharge

cardiaque induite par la manœuvre de Valsalva s'accompagne d'une diminution dans les mêmes proportions de l'amplitude de l'onde E et de l'onde A, résultant *in fine* en un flux sanguin mitral inchangé (344).

Enfin, lorsque la compliance du ventricule gauche est également très altérée, la pression dans l'oreillette gauche est très élevée et le gradient de pression entre l'oreillette et le ventricule gauche d'autant plus important. Il en résulte une onde E avec une très grande amplitude, bien supérieure à l'amplitude de l'onde A, et un temps de décélération très court. On parle d'un flux sanguin mitral d'aspect restrictif (343).

## 2. Doppler tissulaire de l'anneau mitral

La mesure de la vitesse de déplacement de l'anneau mitral en Doppler tissulaire est également réalisée sur une coupe apicale quatre cavités et doit être combinée la plupart du temps à l'analyse du flux sanguin mitral, qui n'a pas une excellente sensibilité diagnostique de la dysfonction diastolique (345).

Le déplacement dans le plan longitudinal de l'anneau mitral au cours du cycle cardiaque génère trois ondes : deux ondes diastoliques (e' et a') et une onde systolique (s'). Ainsi, par analogie avec l'analyse du flux mitral, l'onde e' correspond au déplacement diastolique de l'anneau mitral lors de la phase de remplissage précoce du ventricule gauche et l'onde a' au déplacement diastolique de l'anneau mitral lors du remplissage ventriculaire lié à la systole auriculaire. La vitesse maximale de l'onde e' est un bon reflet de la relaxation du ventricule gauche (346, 347) et à ce titre, sa diminution traduit une dysfonction diastolique (Figure 14).

Encore plus intéressante est l'analyse du rapport entre l'amplitude de l'onde E du flux sanguin mitral et la vitesse maximale de l'onde e' (rapport E/e'). En effet, les principaux déterminants de l'amplitude de l'onde E sont la pression dans l'oreillette gauche, la relaxation du ventricule gauche et l'âge, tandis que la vitesse de l'onde e' dépend principalement de la relaxation du ventricule gauche et de l'âge. Ainsi, le rapport E/e' est une estimation fiable de la pression de remplissage du ventricule gauche (348). Toute élévation du rapport E/e' traduit une élévation de la pression de remplissage du ventricule gauche et inversement.

### *3. Vitesse de propagation du flux transmitral*

La vitesse de propagation du flux transmitral ( $V_p$ ) est mesurée sur une coupe apicale quatre cavités à l'aide du mode M-couleur. Cette vitesse de propagation est inversement proportionnelle à la constante de temps de la relaxation isovolumique ( $\tau$ ). De surcroît, le rapport  $E/V_p$  est un bon reflet de la pression de remplissage du ventricule gauche. Plus le rapport  $E/V_p$  est élevé, plus la pression de remplissage du ventricule gauche est élevée (349, 350).

### *4. Vitesse maximale du flux d'insuffisance tricuspide*

En règle générale, les patients présentant une dysfonction diastolique ont une élévation de la pression artérielle pulmonaire systolique. Dès lors, en l'absence de toute pathologie pulmonaire, une élévation de la pression artérielle pulmonaire systolique peut traduire une augmentation de la pression de remplissage du ventricule gauche, comme en atteste la corrélation qui existe entre ces deux paramètres (351). La pression artérielle pulmonaire systolique peut être estimée à partir de la mesure de la vitesse maximale du flux d'insuffisance tricuspide en Doppler continu sur une coupe apicale quatre cavités ou parasternale petit axe dirigée vers les cavités droites en vertu du théorème de Bernouilli (352).

### *5. Analyse du flux veineux pulmonaire*

Le flux sanguin dans les veines pulmonaires se compose de trois ondes. Une première onde systolique antérograde (S) générée par la relaxation de l'oreillette gauche et l'abaissement du plancher mitral résultant de la contraction du ventricule gauche. Une deuxième onde diastolique antérograde (D) générée par la phase de remplissage précoce (onde E mitrale) qui provoque une aspiration du sang à partir des veines pulmonaires. Une troisième onde diastolique rétrograde ( $A_p$ ) contemporaine de la systole auriculaire (353-355).

L'analyse du flux veineux pulmonaire est réalisée à l'aide du Doppler pulsé sur une coupe apicale quatre cavités, de préférence au niveau de la veine supérieure droite (356). En cas d'élévation de la pression de remplissage du ventricule gauche, l'amplitude de l'onde D devient supérieure à l'amplitude de l'onde S ( $S/D < 1$ ) (357) et l'amplitude et la durée de l'onde  $A_p$  augmentent et deviennent très supérieures à celles de l'onde A mitrale (358) (Figure 14).

## 6. Surface ou volume de l'oreillette gauche

Il existe un lien important entre le remodelage de l'oreillette gauche et les indices échocardiographiques de dysfonction diastolique (359). Ainsi, une augmentation de la surface ou du volume de l'oreillette gauche, réalisée en coupe apicale quatre ou deux cavités peut traduire une augmentation chronique de la pression de remplissage du ventricule gauche. Il est néanmoins important de garder à l'esprit qu'une dilatation de l'oreillette gauche peut être rencontrée dans d'autres pathologies cardiaques, indépendamment de toute dysfonction diastolique.

## C. Place de la mesure de la torsion et de la détorsion du ventricule gauche

La torsion, qui est principalement un indice de fonction systolique du ventricule gauche n'a, à l'heure actuelle, aucune place dans l'évaluation de la fonction diastolique, en dépit de l'existence d'un couplage contraction-relaxation physiologique. *A contrario*, la détorsion est un élément clé de la fonction diastolique du ventricule gauche, qui est le lien temporel entre la relaxation et la succion ventriculaire gauche (60, 61) et qui est liée à la pression de remplissage du ventricule gauche (130, 300). A ce titre, sa mesure pourrait avoir toute sa place dans l'évaluation de la fonction diastolique, ce d'autant qu'elle peut désormais être réalisée de façon non-invasive à l'aide de l'imagerie par résonance magnétique ou par la technique de *speckle tracking* en échocardiographie comme précédemment décrit.

Ainsi, la mesure de la détorsion en échocardiographie pourrait être un outil séduisant pour l'évaluation de la fonction diastolique au lit du patient. En particulier, plus que la détorsion en elle-même, le moment de survenue dans le cycle cardiaque de la détorsion pourrait être un marqueur pertinent de dysfonction diastolique, puisque la détorsion est systématiquement retardée au cours du cycle cardiaque en cas de dysfonction diastolique (75, 138, 300, 318, 322). Néanmoins, les paramètres de torsion et de détorsion du ventricule gauche ne sont pas directement fournis par l'échocardiographe et l'obtention de leur mesure nécessite une analyse complexe et chronophage *a posteriori* des données brutes obtenues en échocardiographie. Dès lors, l'étude de la détorsion, comme de la torsion, du ventricule gauche est pour le moment confinée au champ de la recherche fondamentale ou clinique et n'a pas trouvé sa place dans l'évaluation clinique de la fonction diastolique (340), à l'instar de tous les nouveaux indices de fonction diastolique proposés, qui reposent également sur la technique du *speckle tracking*.

## IV. APPROCHES PHARMACOLOGIQUES DE LA DYSFONCTION DIASTOLIQUE

Les stratégies pharmacologiques proposées dans la dysfonction diastolique, qu'elle soit associée ou non à une insuffisance cardiaque à fraction d'éjection préservée, sont de deux ordres. La première a pour but de ralentir la progression de la dysfonction diastolique en contrôlant les facteurs de risque cardiovasculaire et de réduire la symptomatologie éventuelle des patients et d'optimiser la fonction diastolique, par exemple en réduisant la fréquence cardiaque. En particulier, la prise en charge de l'hypertension artérielle est fondamentale : plus de la moitié des patients hypertendus présentent une dysfonction diastolique (31, 305, 360, 361) et la prise en charge de l'hypertension artérielle s'accompagne d'une amélioration de la fonction diastolique (361). Deuxièmement, les approches pharmacologiques plus sélectives de la dysfonction diastolique ont pour cible les différents mécanismes à l'origine de l'altération de la relaxation et de la compli-ance du ventricule gauche, tels que les modifications de la composition de la matrice extracellulaire ou les altérations de l'homéostasie calcique. De façon intéressante, certains agents comme les  $\beta$ -bloquants couvrent les deux approches.

### A. Approches pharmacologiques non sélectives de la dysfonction diastolique

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

L'effet potentiellement bénéfique des  $\beta$ -bloquants procède d'un triple mécanisme. Premièrement, en réduisant la fréquence cardiaque, les  $\beta$ -bloquants augmentent le temps dévolu au remplissage du ventricule gauche (31, 362). Deuxièmement, les  $\beta$ -bloquants améliorent la fonction diastolique en diminuant la pression artérielle (363). Enfin, les  $\beta$ -bloquants peuvent interférer avec l'homéostasie calcique et en particulier le récepteur de la ryanodine de type 2. En cas de dysfonction diastolique, il existe une hyperphosphorylation dépendante de la protéine kinase-A des récepteurs de la ryanodine de type 2, à l'origine d'une dissociation de la calstabile 2 (235-237, 243). En interrompant la voie de signalisation intracellulaire  $\beta$ -adrénergique, les  $\beta$ -bloquants limitent l'action de la protéine kinase-A, diminuent la phosphorylation des récepteurs de la ryanodine de type 2 et stabilisent la liaison entre ces récepteurs et leur protéine régulatrice calstabile 2, ce qui *in fine* permet de limiter les fuites calciques diastoliques qui participent à l'altération de la relaxation du ventricule gauche (364, 365).

Néanmoins, en dépit des effets bénéfiques de  $\beta$ -bloquants sur la dysfonction diastolique (366), aucun essai thérapeutique randomisé n'a permis de démontrer un quelconque effet bénéfique de leur administration sur la mortalité ou le pronostic de ces patients (367-369), à l'inverse de leur effet bénéfique très clairement démontré chez les patients avec une insuffisance cardiaque à fraction d'éjection réduite.

## 2. L'ivabradine

L'absence de bénéfice observé avec les  $\beta$ -bloquants pourrait en partie être lié à leur effet lusitrope négatif chez des patients qui présentent une altération de la relaxation ventriculaire gauche, ainsi qu'à leur effet inotrope négatif.

L'ivabradine est un inhibiteur sélectif des canaux  $I_f$ . En réduisant la pente de dépolarisation diastolique au niveau des cellules pacemaker du nœud sinusal, l'ivabradine n'exerce qu'un effet chronotrope négatif et n'a, à la différence des  $\beta$ -bloquants, pas d'effet sur l'inotropie, la circulation coronaire et la relaxation ventriculaire gauche (370-374). Ainsi, l'administration d'ivabradine pourrait être particulièrement intéressante en cas de dysfonction diastolique de par cet effet chronotrope négatif isolé qui permettrait uniquement d'augmenter le temps dévolu au remplissage du ventricule gauche. A ce titre, l'administration chronique d'ivabradine dans un modèle murin d'insuffisance cardiaque à fraction d'éjection préservée permet d'améliorer tant la fonction diastolique, que la fonction systolique ou la compliance vasculaire (375). De façon intéressante, cet effet bénéfique de l'ivabradine pourrait ne pas seulement être médié par son effet chronotrope négatif propre, mais également par un effet bénéfique sur l'homéostasie calcique (376), la biodisponibilité du monoxyde d'azote (377), l'expression de l'isoforme N2B de la titine (375) et la formation de collagène (378-380), autant de mécanismes impliqués dans la physiopathologie de la dysfonction diastolique.

Chez l'Homme, des données préliminaires ont montré que l'administration d'ivabradine pendant une semaine permettait d'améliorer la tolérance à l'effort des patients avec une insuffisance cardiaque à fraction d'éjection préservée (381). Néanmoins, ni l'essai SIGNIFY, mené chez les patients avec une cardiopathie ischémique sans signe clinique d'insuffisance cardiaque et sans dysfonction systolique (382), ni l'essai EDIFY, mené chez les patients avec une insuffisance cardiaque à fraction d'éjection préservée (383) n'ont montré d'effet de l'ivabradine sur la fonction diastolique et le pronostic des patients. Pire, dans l'essai SIGNIFY, l'administration d'ivabradine s'accompagnait chez les patients coronariens les plus sévères, d'une augmentation du risque d'infarctus du myocarde et du risque de mortalité liée à un évènement cardiovasculaire (382).

### *3. Les inhibiteurs calciques*

L'effet potentiellement bénéfique des inhibiteurs calciques pourrait résulter de mécanismes d'action variés : la diminution de la pression artérielle, l'effet chronotrope négatif, la régression de l'hypertrophie ventriculaire gauche et la modulation de l'homéostasie calcique (384). Ainsi, l'amélioration de la fonction diastolique par les inhibiteurs calciques a été confirmée dans de rares études, la plupart de petits effectifs (385-390).

### *4. Les inhibiteurs du système rénine-angiotensine-aldostérone*

Les inhibiteurs du système rénine-angiotensine-aldostérone sont représentés par les inhibiteurs de l'enzyme de conversion (IEC) et les antagonistes du récepteur AT<sub>1</sub> à l'angiotensine II (ARAII). Leur intérêt potentiel passe principalement par leur effet antihypertenseur (391), mais également par leur effet sur le remodelage du ventricule gauche, qui permet une diminution de l'hypertrophie et donc de la masse ventriculaire gauche (392-394).

Néanmoins, les trois grands essais thérapeutiques (CHARM-preserved, PEP-CHF, I-PRESERVE) qui ont testé l'utilisation de ces molécules chez les patients avec une insuffisance cardiaque à fraction d'éjection préservée n'ont pas mis en évidence de bénéfice évident, en dehors d'une tendance à une diminution des hospitalisations et à une amélioration des symptômes (395-397), y compris dans la population spécifique des sujets âgés (398), à l'inverse de leur effet bénéfique très clairement démontré chez les patients avec une insuffisance cardiaque à fraction d'éjection réduite.

### *5. Les antagonistes de l'aldostérone*

Chez l'animal, l'administration d'antagonistes de l'aldostérone permet de prévenir le développement de la fibrose (399-401).

Chez l'Homme, des données préliminaires ont montré que l'administration d'antagonistes de l'aldostérone permettait d'améliorer la fonction diastolique chez les patients avec une insuffisance cardiaque à fraction d'éjection préservée (402, 403). Néanmoins, les deux grands essais thérapeutiques qui ont évalué l'intérêt des antagonistes de l'aldostérone chez les patients avec une dysfonction diastolique patente, voire une insuffisance cardiaque à fraction d'éjection préservée, apportent des résultats non univoques. L'essai Aldo-DHF montre que l'administration d'un antagoniste de l'aldostérone pendant un an permet d'améliorer la fonction diastolique des patients sans pour autant améliorer leur tolérance à l'effort ou leur qualité de vie (404). Plus récemment,

l'essai TOPCAT ne retrouve aucun bénéfice à administrer un antagoniste de l'aldostérone, que ce soit en termes de mortalité, sur l'incidence des arrêts cardiaque ou sur l'incidence des hospitalisations, en dehors d'une moindre tendance à l'hospitalisation pour insuffisance cardiaque (405). Cependant, il existe dans l'essai TOPCAT une grande hétérogénéité entre les groupes de patients inclus selon leur origine géographique. Ainsi, une analyse *post-hoc* dans le sous-groupe de patients inclus sur le continent américain semble retrouver un effet bénéfique du traitement tant sur la mortalité que sur l'incidence des hospitalisations pour insuffisance cardiaque (406). Il faut cependant noter que les patients inclus dans l'essai TOPCAT semblent avoir une amélioration de leur qualité de vie, retrouvée dès le quatrième mois d'administration du traitement et qui perdure encore 36 mois après le début du traitement (407). Enfin, une étude récente conduite chez 150 sujets avec une insuffisance cardiaque à fraction d'éjection préservée et symptomatiques à l'effort, montre que l'administration pendant six mois d'un antagoniste de l'aldostérone permet d'améliorer la tolérance à l'effort de ces patients (408).

## 6. Les diurétiques

Chez l'animal, l'administration de diurétiques permet de prévenir le développement de l'hypertrophie ventriculaire gauche (409).

Chez les patients cliniquement en surcharge, les diurétiques sont indispensables et permettent d'améliorer tant les symptômes (410) que les conditions de charge du ventricule gauche. Il est important de souligner que leur utilisation chez les patients avec une insuffisance cardiaque à fraction d'éjection préservée non symptomatique pourrait se révéler délétère (411).

## 7. Les digitaliques

Du fait de leur effet sur la fréquence cardiaque, les digitaliques pourraient avoir un intérêt. Néanmoins, aucun bénéfice aux digitaliques, que ce soit en termes de mortalité ou d'hospitalisation pour un motif cardiovasculaire, n'a été retrouvé chez les patients avec une insuffisance cardiaque à fraction d'éjection préservée (412).

## **B. Approches pharmacologiques ciblant la dysfonction diastolique**

### *1. Les modulateurs de la voie de la guanosine monophosphate cyclique (GMPc)*

La guanosine monophosphate cyclique (GMPc) est un nucléotide cyclique intracellulaire qui active la protéine kinase-G, elle-même impliquée dans la phosphorylation de nombreuses protéines intracellulaires, dont la titine. Ainsi l'hypophosphorylation protéine kinase-G dépendante de l'isoforme N2B de la titine est responsable d'une augmentation de la rigidité des cardiomyocytes, qui contribue grandement à l'altération de la compliance du ventricule gauche à l'origine de la dysfonction diastolique (32, 281-284). Cette hypophosphorylation résulte d'une moindre biodisponibilité du monoxyde d'azote (NO) du fait du stress oxydant (286). A ce titre, toutes les thérapeutiques visant à augmenter la concentration intracellulaire de GMPc peuvent être potentiellement intéressantes pour la prise en charge de la dysfonction diastolique.

Les inhibiteurs de la phosphodiesterase 5 préviennent la dégradation du GMPc en GMP par la phosphodiesterase 5 et entraînent donc une augmentation de la concentration intracellulaire de GMPc. Dès lors, les effets d'inhibiteurs de la phosphodiesterase 5 comme le sildénafil ont été testés dans la dysfonction diastolique. Chez l'animal, l'administration de sildénafil permet d'augmenter la phosphorylation de la titine et d'améliorer la compliance du ventricule gauche, indépendamment de l'âge des animaux (413), mais également de réduire l'hypertrophie ventriculaire gauche, ainsi que les phénomènes inflammatoires et d'apoptose au sein du myocarde (414). Chez des patients avec une insuffisance cardiaque à fraction d'éjection préservée et une hypertension pulmonaire, l'administration de sildénafil entraîne une amélioration de la fonction cardiaque (415). Néanmoins, le grand essai multicentrique RELAX qui a évalué l'intérêt du sildénafil chez 216 patients avec une insuffisance cardiaque à fraction d'éjection préservée symptomatique retrouve que l'administration de sildénafil pendant 12 semaines n'améliore ni la tolérance à l'effort ni la qualité de vie des patients (416). Ces résultats décevants pourraient s'expliquer par une certaine hétérogénéité dans la gravité des patients inclus ; des études ancillaires retrouvent que les patients diabétiques (417), ou en fibrillation auriculaire (418) sont à un stade de la maladie plus avancé. Dès lors, il serait intéressant d'évaluer les effets du sildénafil chez ces patients. Il faut cependant noter que l'étude ancillaire s'intéressant plus spécifiquement aux patients avec une altération du couplage ventriculo-artériel droit ne révèle aucun effet du sildénafil sur la fonction ventriculaire droite ou la tolérance à l'effort (419).

Après son activation par le NO, la guanylate cyclase soluble induit la formation de GMPc et entraîne donc une augmentation de la concentration intracellulaire de GMPc. Dès lors, les stimulateurs oraux de la guanylate cyclase soluble sont une autre piste intéressante. A ce titre, l'essai

de phase II SOCRATES-PRESERVED mené chez 477 patients avec une insuffisance cardiaque à fraction d'éjection préservée montre une amélioration de la qualité de vie des patients après l'administration pendant 12 semaines d'un stimulateur oral de la guanylate cyclase, le vericiguat (420) sans effet secondaire rapporté (421). Il faut cependant noter que des études monocentriques avec de plus petits effectifs ne retrouvent pas d'effet patent de stimulateurs oraux de la guanylate cyclase soluble tant chez les patients avec une insuffisance cardiaque à fraction d'éjection préservée et une hypertension pulmonaire (422), que chez les patients avec une insuffisance cardiaque à fraction d'éjection préservée dans les suites d'un infarctus du myocarde (423).

## 2. Les inhibiteurs du courant sodique tardif

Physiologiquement, le courant sodique tardif participe à la genèse du potentiel d'action. Dans le contexte d'ischémie myocardique ou d'insuffisance cardiaque, le canal sodique reste activé de façon permanente et induit une entrée massive de sodium dans la cellule. En réaction, l'échangeur  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  (ou canal NCX) change de sens de fonctionnement pour extruder le sodium excès, résultant *in fine* en une surcharge calcique cytosolique, notamment pendant la diastole (424, 425). Ce mécanisme participe à l'altération de la relaxation du ventricule gauche.

La ranolazine, un inhibiteur du courant sodique tardif, permet ainsi d'améliorer la fonction diastolique sur du muscle papillaire isolé (426, 427) ou dans des modèles murins hypertensifs (428, 429) ainsi que le remodelage ventriculaire (430). Les effets bénéfiques sur la fonction diastolique de la ranolazine ont été partiellement confirmés chez l'Homme dans le contexte d'insuffisance cardiaque à fraction d'éjection préservée (431). Alors qu'une diminution de la pression télédiastolique du ventricule gauche est observée après l'administration de ranolazine, ni la constante de temps de la relaxation isovolumique ( $\tau$ ), ni le rapport  $E/e'$  à l'échocardiographie ne varient. *A contrario*, une étude récente mais monocentrique retrouve une amélioration de la fonction diastolique, attestée par une diminution du rapport  $E/e'$  chez des patients diabétiques avec une dysfonction diastolique marquée (432).

### 3. Le LCZ696

Les peptides natriurétiques (BNP, ANP), qui sont dégradés par la néprilysine, possèdent en sus de leur action natriurétique une action antiproliférative. Le LCZ696 est une molécule recombinante associant un antagoniste du récepteur AT<sub>1</sub> à l'angiotensine II (Valsartan) et un inhibiteur de la néprilysine (433), dont l'administration résulte en une augmentation de la biodisponibilité des peptides natriurétiques (434).

Testé dans le cadre de l'essai multicentrique de phase II PARAMOUNT chez 301 patients avec une insuffisance cardiaque à fraction d'éjection préservée symptomatique (435), l'administration de LCZ696 pendant 12 semaines semble avoir des effets physiologiques intéressants, avec une diminution de la concentration plasmatique de NT-proBNP ainsi que de la surface et du volume de l'oreillette gauche. Ces résultats suggèrent un intérêt potentiel de cette molécule, la diminution de Nt-proBNP étant associée à un meilleur pronostic chez les patients insuffisants cardiaque (436). De surcroît, l'administration de LCZ696 ne semble pas avoir d'effet délétère sur la fonction rénale (437). A la lumière de ces résultats physiologiques prometteurs, vient de débiter l'essai de phase III PARAGON-HF (NCT01920711) qui vise à évaluer l'effet de l'administration de LCZ696 sur la mortalité liée à un évènement cardiovasculaire et sur l'incidence des hospitalisations pour insuffisance cardiaque chez les patients avec une insuffisance cardiaque à fraction d'éjection préservée (438). Enfin, chez des patients hypertendus, l'administration de LCZ696 pendant 52 semaines permet de réduire significativement l'hypertrophie ventriculaire gauche (439).

### 4. Autres stratégies pharmacologiques en cours d'évaluation

Les statines, par leurs effets pléiotropiques, peuvent diminuer le stress oxydant et améliorer la biodisponibilité du monoxyde d'azote (NO) (440), représentant *de facto* une stratégie pharmacologique intéressante chez les patients avec une insuffisance cardiaque à fraction d'éjection préservée. Des données préliminaires issues d'essais de phase II et de registres révèlent que les statines pourraient améliorer le pronostic de ces patients (441, 442). Ces données encourageantes nécessitent cependant d'être confirmées dans des essais thérapeutiques de plus grande envergure (443).

La carence martiale est retrouvée chez près de 50% des patients avec une insuffisance cardiaque à fraction d'éjection préservée, sans pour autant qu'elle ne soit associée à la dysfonction diastolique ou à la tolérance à l'exercice de ces patients (444). Un essai thérapeutique est en cours pour évaluer les effets d'une supplémentation ferrique sur les symptômes, la tolérance à l'exercice et

la qualité de vie des patients avec une insuffisance cardiaque à fraction d'éjection préservée (FAIR-HPEF, NCT03074591).

L'altération de la relaxation du ventricule gauche peut également résulter d'un déficit énergétique cardiaque (264-266). Des études préliminaires menées dans des modèles murins d'insuffisance cardiaque à fraction d'éjection préservée montrent qu'un apport en L-Carnitine diminue la fibrose cardiaque (445). Dans ce contexte, une étude pharmacologique (Mito-HFPEF) testant l'intérêt d'un modulateur mitochondrial, l'elamipretide, connu pour améliorer la production énergétique mitochondriale mais également diminuer le stress oxydant, devrait débiter chez les patients avec une insuffisance cardiaque à fraction d'éjection préservée.

### **C. Impact des stratégies pharmacologiques sur la torsion et la détorsion du ventricule gauche**

Les effets de ces différentes approches pharmacologiques sur la torsion et la détorsion du ventricule gauche n'ont pas ou très peu été étudiés. Seuls des données concernant les  $\beta$ -bloquants et les traitements antihypertenseurs sont disponibles. Ces données sont à chaque fois issues d'études de petit effectif, qui n'avaient pas forcément pour objectif d'évaluer l'effet de ces molécules sur la torsion et la détorsion du ventricule gauche.

L'administration de  $\beta$ -bloquants s'accompagne dans des modèles expérimentaux canins d'une diminution dose-dépendante de la rotation de l'apex du ventricule gauche et de la torsion du ventricule gauche (61, 139), ainsi que d'une diminution également dose-dépendante de la détorsion (61). L'effet des  $\beta$ -bloquants sur la rotation de la base du ventricule gauche est contradictoire entre les deux études. Kim et collègues trouvent que l'administration de  $\beta$ -bloquants n'a pas d'effet sur la rotation de la base du ventricule gauche (139). *A contrario*, Notomi et collègues objectivent une diminution dose-dépendante de la rotation basale du ventricule gauche après l'administration  $\beta$ -bloquants (61). La seule explication pour expliquer cette discordance réside éventuellement dans la différence de technique échocardiographique utilisée pour mesurer la torsion et la détorsion du ventricule gauche, le *speckle tracking* pour l'étude de Kim et collègues et le Doppler tissulaire pour Notomi et collègues. Chez les patients avec une dysfonction diastolique, un traitement par  $\beta$ -bloquants diminue la torsion et la détorsion du ventricule gauche, alors qu'un traitement par inhibiteurs calciques ou inhibiteurs de l'enzyme de conversion (IEC) ne semble pas avoir d'effet sur la torsion et la détorsion (138).

Les effets d'un traitement par antagonistes du récepteur AT<sub>1</sub> à l'angiotensine II (ARA II) sur la torsion et la détorsion du ventricule gauche ont également été évalués (446, 447). L'administration d'un ARA II pendant un mois chez des patients hypertendus non traités avec une hypertrophie ventriculaire gauche n'a aucun effet sur la torsion mais diminue la détorsion du ventricule gauche. Après 12 mois de traitement, l'hypertrophie ventriculaire gauche régresse, la torsion diminue et la détorsion est encore plus diminuée. De façon plus générale, le contrôle de l'hypertension artérielle en lui-même semble s'opposer à l'hypertrophie ventriculaire gauche, l'augmentation de torsion et la diminution de détorsion du ventricule gauche induites par l'hypertension artérielle, et ce quel que soit le traitement antihypertenseur administré :  $\beta$ -bloquants, inhibiteurs calciques, inhibiteurs de l'enzyme de conversion (IEC), antagonistes du récepteur AT<sub>1</sub> à l'angiotensine II (ARA II), diurétiques (321). Ainsi, l'effet sur la torsion et la détorsion du ventricule gauche semble davantage lié au contrôle de l'hypertension artérielle qu'à un réel effet propre des traitements antihypertenseurs.

Cette diminution de la torsion lors de l'administration d'un ARA II ou plus sûrement après contrôle de l'hypertension artérielle est très probablement liée à la régression de l'hypertrophie ventriculaire gauche et pourrait résulter d'un double mécanisme. Premièrement, la régression de l'hypertrophie s'accompagne d'une amélioration de la dysfonction sous-endocardique (324). Dès lors, l'amplitude du mouvement de rotation généré par la contraction des fibres myocardiques sous-endocardiques et qui s'oppose normalement au mouvement généré par les fibres sous-épicardiques augmente. Ceci résulte en une diminution de la torsion du ventricule gauche. Deuxièmement, la régression de l'hypertrophie s'accompagne d'une apoptose des fibres myocardiques sous-épicardiques (448). Dès lors, l'amplitude du mouvement de rotation généré par la contraction des fibres myocardiques sous-épicardiques diminue, résultant également en une diminution de la torsion du ventricule gauche, puisque l'amplitude du mouvement généré par la contraction des fibres myocardiques sous-épicardiques est supérieure à l'amplitude du mouvement généré par les fibres sous-endocardiques (53).

## **PARTIE EXPERIMENTALE**

## CHAPITRE IV. OBJECTIFS DU TRAVAIL

Comme décrit dans la partie bibliographique de ce manuscrit, l'hypertension artérielle chronique et l'hypertrophie ventriculaire qui en résulte induisent une altération de la fonction ventriculaire gauche et en particulier de la fonction diastolique. Cette dysfonction diastolique s'accompagne également d'une dysfonction systolique. A ce titre, le laboratoire d'accueil a démontré, à l'aide d'un modèle d'hypertension artérielle chronique chez le porc éveillé et chroniquement instrumenté, l'existence d'une altération des capacités d'adaptation des phases de contraction et de relaxation isovolumiques à l'augmentation de fréquence cardiaque (449). Ainsi, **le premier objectif** de ce travail était d'évaluer les effets sur la fonction ventriculaire gauche d'une réduction de la fréquence cardiaque par l'administration d'ivabradine, un inhibiteur sélectif des canaux  $I_f$  dépourvu d'effet inotrope et lusitrope, dans ce contexte d'hypertension artérielle chronique et d'hypertrophie ventriculaire gauche.

L'altération de la relaxation ventriculaire gauche induite par l'hypertension artérielle chronique et l'hypertrophie ventriculaire gauche résulte également en une altération du remplissage ventriculaire gauche qui est exacerbée en cas d'augmentation de la fréquence cardiaque. De surcroît, ce phénomène est concomitant de l'altération de la contraction isovolumique, illustrant la probable préservation du couplage contraction-relaxation. Dans ce contexte, **le deuxième objectif** de ce travail était d'évaluer les effets d'une réduction de la fréquence cardiaque par l'administration d'ivabradine sur le remplissage ventriculaire gauche. Le retentissement des anomalies de la contraction isovolumique a également été étudié dans ces conditions au vu du couplage contraction-relaxation qui existe.

Néanmoins, les temps de contraction et de relaxation isovolumiques ne sont que des marqueurs temporels de la fonction ventriculaire gauche. Dès lors, **le troisième objectif** de ce travail était de caractériser la fonction ventriculaire gauche et d'étudier le couplage contraction-relaxation au cours de l'hypertension artérielle chronique et de l'hypertrophie ventriculaire gauche à l'aide de paramètres de fonction ventriculaire intégrant à la fois les dimensions temporelle et mécanique de la contraction et de la relaxation ventriculaires gauches, à savoir la torsion et la détorsion du ventricule gauche. Par ailleurs, les mécanismes cellulaires potentiellement impliqués dans le couplage contraction-relaxation ont été également étudiés.

Enfin, rejoignant les premier et deuxième parties de ce travail expérimental, **le quatrième objectif** de ce travail était d'évaluer, dans ce contexte d'hypertension artérielle chronique et d'hypertrophie ventriculaire gauche, les effets d'une réduction de la fréquence cardiaque par l'administration d'ivabradine sur la fonction ventriculaire gauche, en caractérisant cette dernière à l'aide de la torsion et la détorsion du ventricule gauche.

# CHAPITRE V. MATERIEL ET METHODES

## I. CADRE REGLEMENTAIRE

Ce travail a été mené au sein de l'équipe 3 « Stratégies pharmacologiques et thérapeutiques expérimentales de l'ischémie myocardique et de l'insuffisance cardiaque » de l'institut Mondor de Recherche Biomédicale (IMRB, INSERM U 955, Faculté de médecine, Université Paris Est Créteil et l'École Nationale Vétérinaire d'Alfort). Ce travail a été réalisé dans le respect du cadre législatif français relatif à l'expérimentation animale après obtention de l'avis favorable du comité local d'éthique animale (ComEth AFSSA-ENVA-UPEC, agrément #11-0059).

## II. ANIMAUX

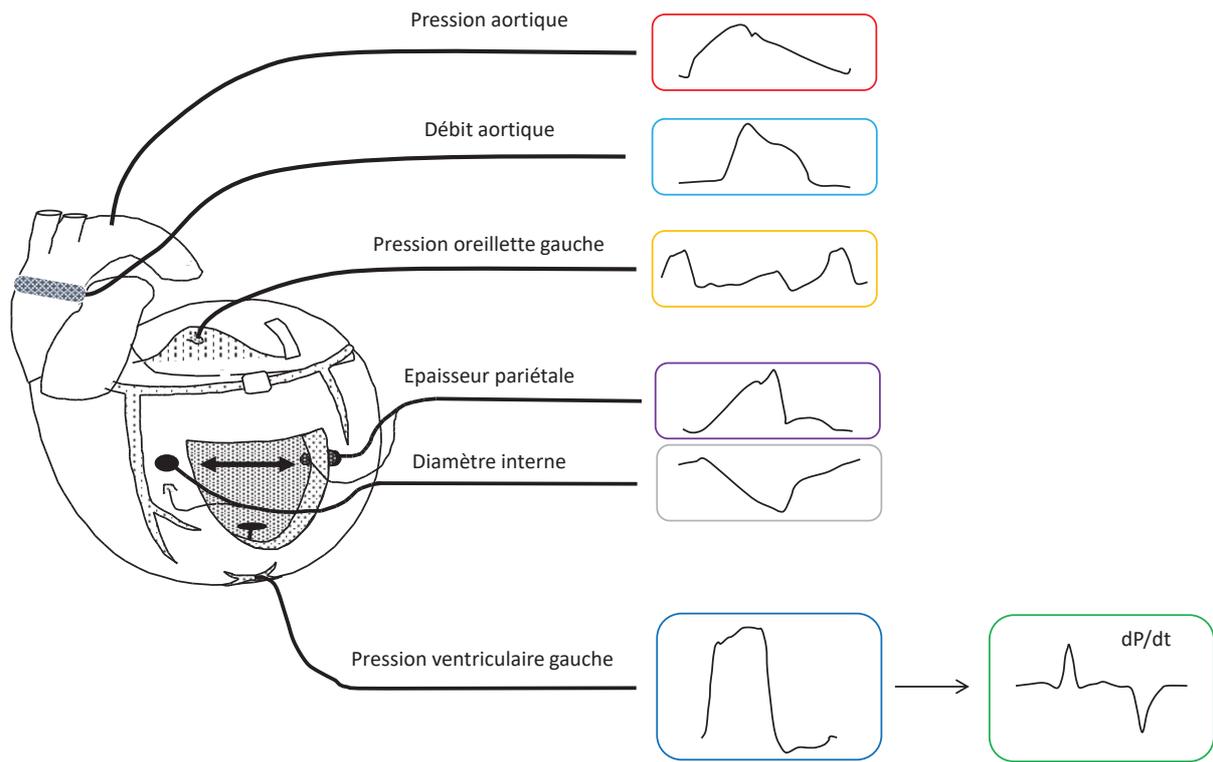
Ce travail a été mené chez des truies pesant entre 20 et 30 kilos, issues d'un élevage déclaré dans la production de porcs dédiés à la recherche expérimentale animale (Lebeau, Gambais, France).

## III. INSTRUMENTATION DES ANIMAUX

Après une semaine d'adaptation à l'animalerie, tous les animaux étaient chroniquement instrumentés à l'aide de dispositifs nécessaires aux différentes mesures hémodynamiques lors d'une intervention chirurgicale réalisée sous anesthésie générale (Figure 15). La prémédication consistait en l'administration d'azapérone (8 mg/kg). L'induction anesthésique consistait en l'administration d'une association de kétamine (10 mg/kg), de diazépam (1 mg/kg), de morphine (2 mg/kg) et d'un curare (vécuronium, 0,5 mg/kg). Puis, les animaux étaient placés sous ventilation mécanique invasive après intubation orotrachéale et ventilés mécaniquement en mode volume contrôlé (respirateur Alpha 100, Minerve vétérinaire) avec des volumes courants de 8 mL/kg de poids réel et une fréquence respiratoire entre 18 et 24 respirations par minute, adaptée pour obtenir une fraction expirée en dioxyde de carbone comprise entre 35 et 40 mmHg. Au cours de l'intervention, l'anesthésie générale était assurée par l'inhalation continue d'isoflurane.

L'intervention chirurgicale consistait à réaliser une thoracotomie gauche au niveau du quatrième ou du cinquième espace intercostal afin d'avoir accès aux différentes structures anatomiques où allaient être implantés les différents dispositifs. Un cathéter rigide en Tygon (diamètre interne de 1mm, Bioblock, Illkrich, France) était inséré dans l'aorte thoracique descendante. Après la réalisation d'une péricardotomie, un autre cathéter rigide était implanté dans l'oreillette gauche et un cathéter souple en Silastic (diamètre interne de 1mm, Sedat, Irigny, France) était implanté dans l'artère pulmonaire. Un capteur de pression miniaturisée était introduit et fixé au niveau de l'apex du ventricule gauche (capteur P5A, Königsberg Instrument Inc, Pasadena, Californie, Etats-Unis d'Amérique). Deux paires de cristaux piézo-électriques étaient placés dans la paroi du ventricule gauche. La première paire de cristaux était positionnée de part et d'autre de la paroi ventriculaire gauche avec un cristal implanté en sous-endocardique et un cristal implanté en sous-épicaire, afin de mesurer l'épaisseur de la paroi du ventricule gauche au cours du cycle cardiaque. La deuxième paire de cristaux était constituée de deux cristaux implantés en sous-endocardique à mi-hauteur entre la base et l'apex du ventricule gauche, l'un dans la paroi antérieure et l'autre dans la paroi postérieure afin de mesurer le diamètre interne du ventricule gauche au cours du cycle cardiaque. Les cristaux étaient placés en regard l'un de l'autre et leur bon alignement était vérifié en peropératoire par la visualisation du signal ultrasonique sur un oscilloscope (Hameg Instruments, Francfort, Allemagne). Deux électrodes de stimulation permettant l'entraînement électrosystolique externe du cœur, étaient également implantées à la surface de l'oreillette gauche. Enfin, une bague de mesure de débit (Transonic Systems Inc, Ithaca, New-York, Etats-Unis d'Amérique) était placée autour de l'aorte initiale ascendante pour la mesure du débit cardiaque. Après la mise en place des différents dispositifs, le péricarde était laissé ouvert, l'hémopneumothorax était aspiré et chaque plan chirurgical était suturé. L'ensemble des cathéters et câbles électriques étaient tunnellisés dans le plan sous-cutané jusqu'au dos de l'animal et extériorisés dans la région interscapulaire.

Les soins postopératoires associaient une analgésie postopératoire par morphiniques (Fentanyl, dispositif transdermique, 100 µg/h) pendant quatre jours et une antibioprophylaxie à l'aide de quinolones (enrofloxacin, 2 mg/kg/j) et pénicillines (amoxicilline à libération prolongée, 15 mg/kg tous les deux jours) pendant une semaine. Les pansements ainsi que la vérification du bon fonctionnement des différents dispositifs étaient contrôlés toutes les 72 heures. Après deux à trois semaines de convalescence, vérification de l'apyrexie et de la qualité des signaux enregistrés, les animaux étaient inclus dans le protocole expérimental et étudiés à l'état éveillé après avoir été placés dans un hamac dédié.



**Figure 15.** Instrumentation chronique des animaux pour l'obtention des différents paramètres hémodynamiques.

## IV. PARAMETRES MESURES

### A. Paramètres hémodynamiques

#### 1. Mesure des pressions aortique, auriculaire et ventriculaire gauches

La pression aortique et auriculaire gauche étaient mesurées à l'aide d'un capteur de pression P23XL (Becton-Dickinson, Franklin Lakes, New-Jersey, Etats-Unis d'Amérique) connecté à un amplificateur (Système 6, module 204, San Diego, CA, USA). La pression ventriculaire gauche était mesurée à l'aide du capteur de pression Königsberg P5A, calibré *in vivo* à partir des courbes de pression aortique et auriculaire gauche.

## *2. Mesure du débit cardiaque*

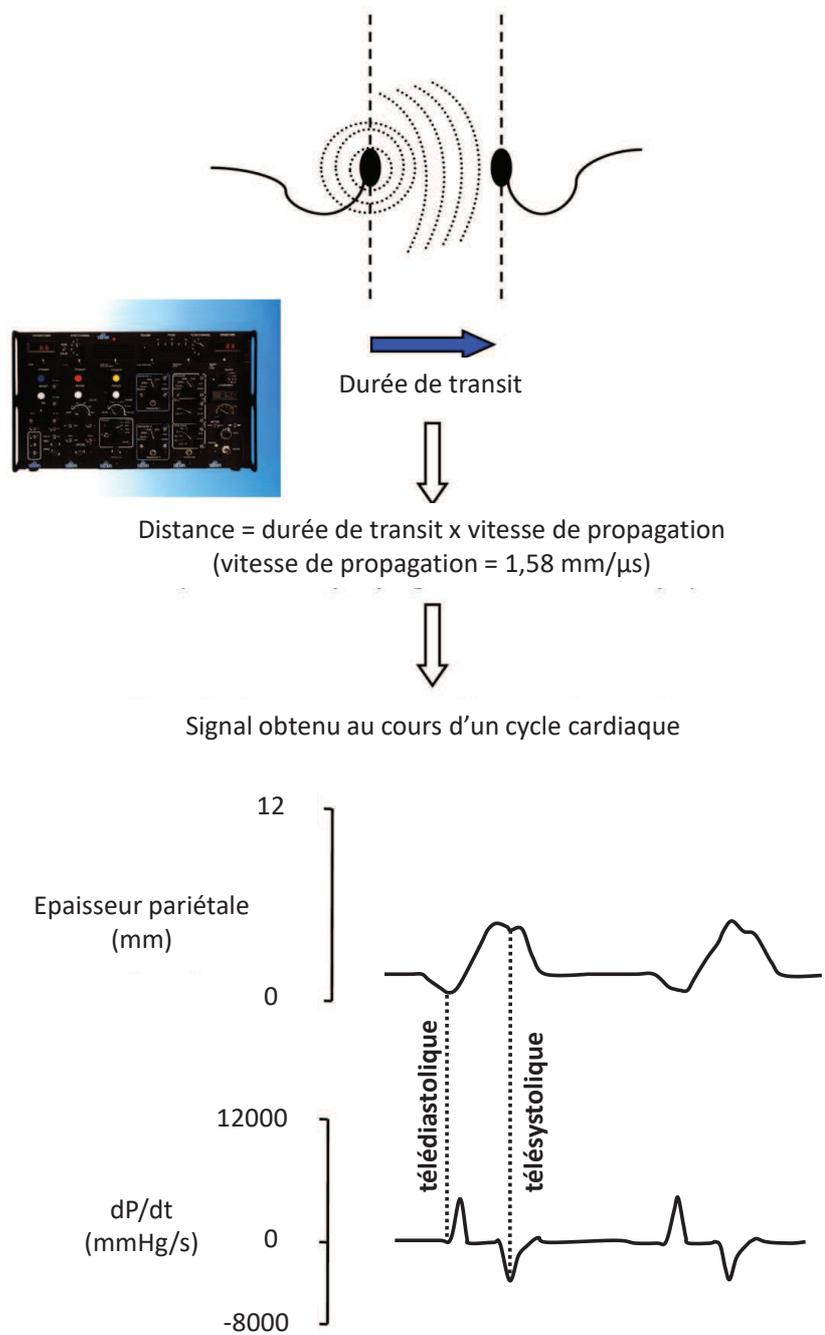
Le débit cardiaque était mesuré à l'aide de la bague de débit placée autour de l'aorte initiale ascendante et connectée à un module de mesure Transonic T206 (Transonic Systems Inc, Ithaca, New-York, Etats-Unis d'Amérique).

## *3. Mesure de l'épaisseur de la paroi et du diamètre interne du ventricule gauche*

Décrite pour la première fois en 1954 (450), la mesure instantanée et continue de l'épaisseur de la paroi et du diamètre interne du ventricule gauche repose sur la détection par le deuxième cristal piézo-électrique des ultrasons produits par l'excitation du premier cristal et la mesure du temps entre les deux cristaux piézo-électriques (Figure 16). Ainsi, le sonomicromètre (Système 6, module 201, San Diego, Californie, Etats-Unis d'Amérique) mesure le temps de transit du signal ultrasonique et, en le multipliant par la vitesse de propagation des ultrasons (1580 m/s dans les milieux biologiques), calcule la distance entre les deux cristaux. Au cours des différents enregistrements, la qualité du signal ultrasonique était contrôlée en continue à l'aide d'un oscilloscope (Hameg Instruments, Francfort, Allemagne).

L'épaisseur télédiastolique de la paroi du ventricule gauche était mesurée à la fin de la contraction auriculaire, à savoir au pied de l'onde positive de la dérivée première de la pression ventriculaire gauche par rapport au temps ( $dP/dt$ ). L'épaisseur télésystolique de la paroi du ventricule gauche était mesurée au moment du pic négatif de la  $dP/dt$  (Figure 16). L'épaississement systolique du myocarde, paramètre de contractilité transmurale régionale, était calculé selon la formule suivante : (épaisseur télésystolique – épaisseur télédiastolique) / épaisseur télédiastolique et exprimé en pourcentage.

Le diamètre interne télédiastolique du ventricule gauche était mesuré à la fin de la contraction auriculaire, à savoir au pied de l'onde positive de la  $dP/dt$ . Le diamètre interne télésystolique du ventricule gauche était mesuré au moment du pic négatif de la  $dP/dt$  (Figure 16). La fraction de raccourcissement, paramètre de contractilité globale, était calculée selon la formule suivante : (diamètre télédiastolique – diamètre télésystolique) / diamètre télédiastolique et exprimée en pourcentage.



**Figure 16.** Principe de mesure de l'épaisseur pariétale et du diamètre interne du ventricule gauche par sonomicrométrie à l'aide de cristaux piézo-électriques.

#### *4. Mesure des intervalles de temps du cycle cardiaque*

La télédiastole était définie par le début de la montée de la pression ventriculaire gauche juste après la contraction auriculaire gauche et correspondait ainsi à l'augmentation initiale du signal de  $dP/dt$ . L'intersection des tracés de la pression aortique et ventriculaire gauche permettait de déterminer l'ouverture et la fermeture de la valve aortique, comme en atteste leur superposition avec le signal de débit aortique. Celle des tracés des pressions auriculaire et ventriculaire gauches permettait de déterminer l'ouverture et la fermeture de la valve mitrale.

Le temps de contraction isovolumique correspondait à la période du cycle cardiaque entre la fermeture de la valve mitrale et l'ouverture de la valve aortique. Le temps d'éjection correspondait à la période du cycle cardiaque entre l'ouverture et la fermeture de la valve aortique. Le temps de relaxation isovolumique correspondait à la période du cycle cardiaque entre la fermeture de la valve aortique et l'ouverture de la valve mitrale. Le temps de remplissage correspondait à la période du cycle cardiaque entre la fin de la relaxation isovolumique et la télédiastole.

#### *5. Evaluation de la relaxation isovolumique*

La relaxation isovolumique correspond à la période du cycle cardiaque pendant laquelle la pression ventriculaire décroît à volume de la cavité constant. Ainsi, la relaxation isovolumique peut se définir comme l'intervalle de temps compris entre le pic négatif de  $dP/dt$ , à savoir la fermeture de la valve aortique, et la valeur de pression ventriculaire gauche correspondant à la pression télédiastolique du battement suivant à laquelle 5 mmHg sont ajoutés.

La courbe de décroissance de la pression ventriculaire gauche peut être modélisée à l'aide de différents modèles mono-exponentiels asymptotiques ou non-asymptotiques. Le modèle de Weiss implique que l'asymptote est égale à 0 et que l'évolution de la pression ventriculaire gauche au cours du temps soit caractérisée par l'équation suivante :  $P = P_0 \cdot e^{-t/\tau}$ , où  $P_0$  est la valeur de pression ventriculaire gauche au pic négatif de  $dP/dt$  ( $t=0$ ),  $t$  le temps et  $\tau$  la constante de temps de la relaxation isovolumique (334). Les autres modélisations de la courbe de décroissance de la pression ventriculaire gauche utilisent des modèles à asymptote non nulle :  $P = (P_0 - P_B) \cdot e^{-t/\tau} + P_B$ , où  $P_B$  est la valeur de l'asymptote (451),  $P_0$  la valeur de pression ventriculaire gauche au pic négatif de  $dP/dt$  ( $t=0$ ),  $t$  le temps et  $\tau$  la constante de temps de la relaxation isovolumique.

Nous avons choisis de caractériser la courbe de décroissance de la pression ventriculaire gauche à l'aide de la régression logistique suivante, selon la méthode décrite par Matsubara et validée par Sensaki :  $P = P_A/(1 + e^{-t/\tau}) + P_B$ , où  $P_A$  est une constante d'amplitude,  $P_B$  la valeur de l'asymptote,  $t$  le temps et  $\tau$  la constante de temps de la relaxation isovolumique (335, 336).

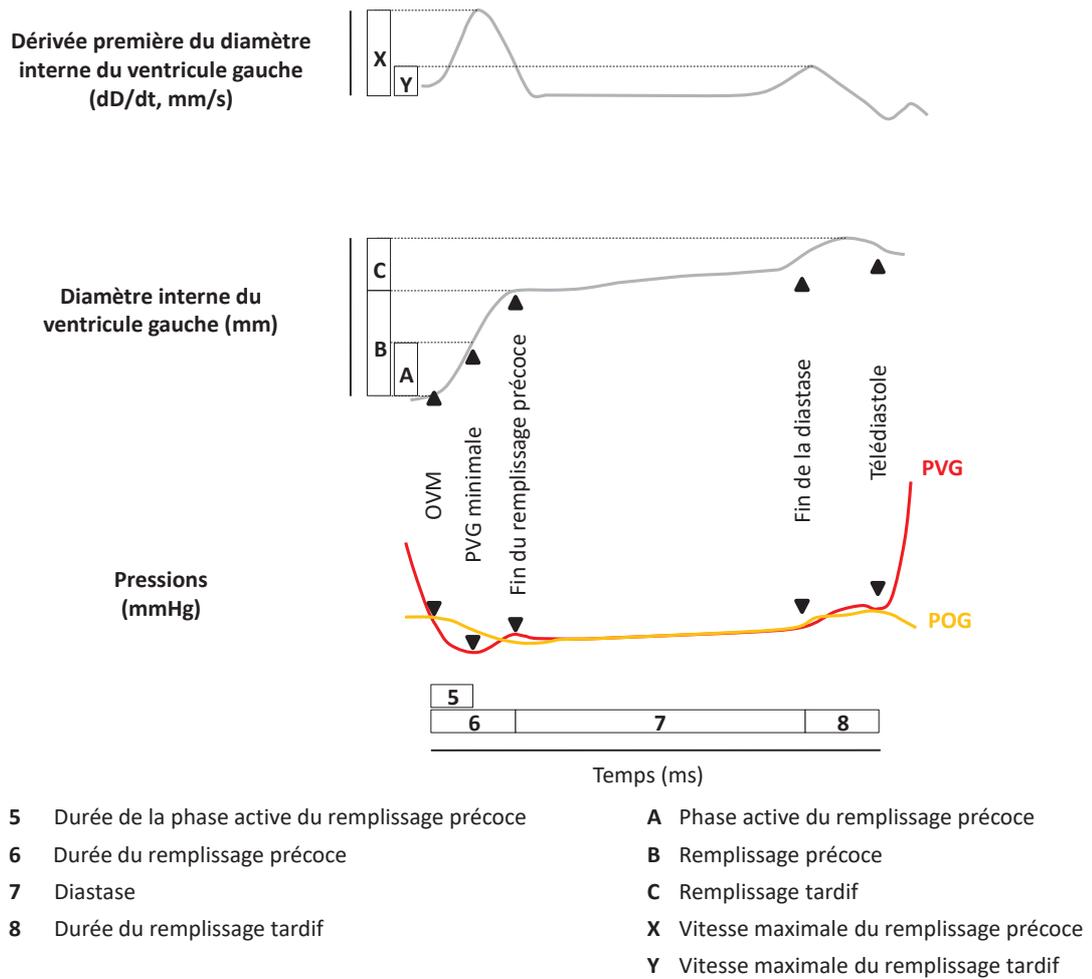
## 6. Evaluation des phases du remplissage ventriculaire gauche

Les différentes phases du remplissage ventriculaire gauche étaient identifiées à partir du signal de mesure du diamètre interne du ventricule gauche. Chacune des phases était caractérisée par la variation et la vitesse maximale de variation du diamètre interne du ventricule gauche, ainsi que par leur durée. Le remplissage du ventricule gauche se divise ainsi en trois phases successives (Figure 17).

La première phase est la phase précoce. Elle débute à l'ouverture de la valve mitrale, déterminée par l'intersection des tracés de la pression auriculaire gauche et ventriculaire gauche pour se terminer à la diastase, lorsque les pressions auriculaire et ventriculaire gauche s'égalisent. Le remplissage précoce est médié par le gradient de pression entre l'oreillette et le ventricule gauches. La phase initiale du remplissage précoce, appelée phase active du remplissage précoce, débute alors même que le ventricule gauche poursuit sa relaxation et se termine en même temps que la relaxation ventriculaire. Ainsi, la phase initiale du remplissage précoce débute à l'ouverture de la valve mitrale, déterminée par l'intersection des tracés de la pression auriculaire gauche et ventriculaire gauche pour se terminer lorsque la pression ventriculaire gauche atteint sa valeur minimale.

La deuxième phase est une phase stationnaire appelée diastase, au cours de laquelle les pressions auriculaire et ventriculaire gauche s'égalisent, arrêtant *de facto* le remplissage ventriculaire gauche. Dès lors, le volume du ventricule gauche ne varie pas au cours de la diastase.

La troisième et dernière phase est la phase tardive. Elle succède immédiatement à la diastase et correspond à la période comprise entre le pied de l'onde de contraction auriculaire sur le tracé de la pression ventriculaire gauche et la fermeture de la valve mitrale. Lors de la phase tardive, le remplissage ventriculaire gauche résulte de la systole auriculaire.



**Figure 17.** Définition des différentes phases du remplissage du ventricule gauche. OVM: ouverture de la valve mitrale, PVG: pression ventriculaire gauche, POG: pression dans l'oreillette gauche.

## 7. Recueil des données

L'ensemble des signaux hémodynamiques étaient simultanément enregistrés en continu (fréquence d'acquisition de 1 kHz) puis analysés *a posteriori* à l'aide de la version 4.2 du logiciel dédié HEM (Notocord Systems, Croissy sur Seine, France).

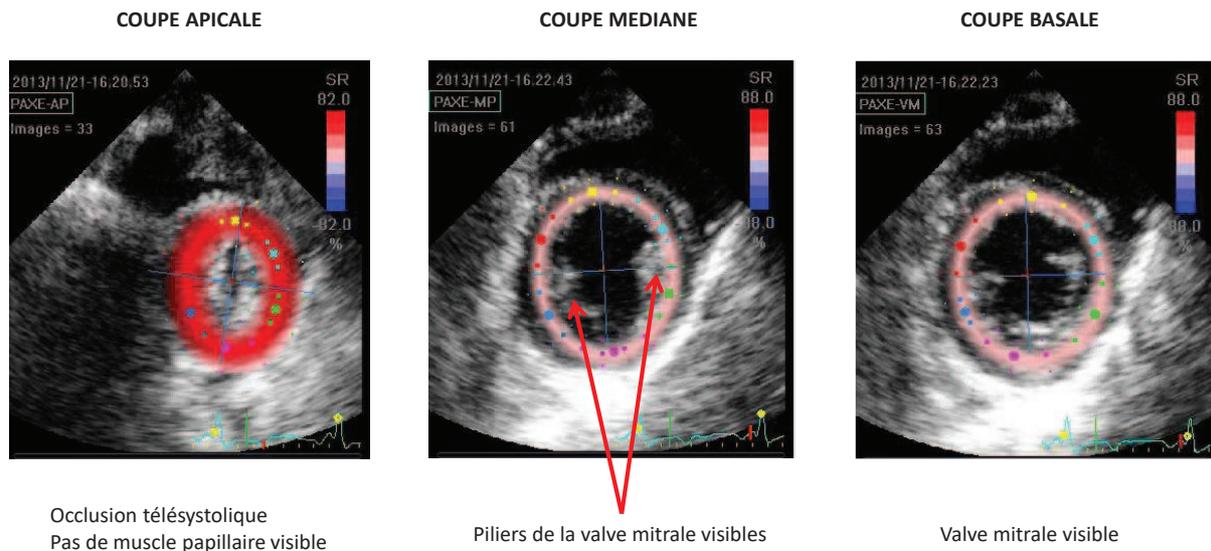
## B. Paramètres échocardiographiques

### 1. Acquisition des coupes échocardiographiques

Toutes les échocardiographies transthoraciques étaient réalisées à l'aide d'un échocardiographe Vivid 7 (GE Healthcare, Horten, Norvège). La sonde d'échographie avait une fréquence de 3,5 MHz. La fréquence d'acquisition des images étaient de 68 à 80 images par seconde. Une attention toute particulière était portée à enregistrer les différentes coupes échocardiographiques avec la même fréquence d'acquisition et à obtenir les différentes coupes à des fréquences cardiaques similaires. Toutes les coupes échocardiographiques étaient enregistrées simultanément avec un tracé ECG.

A chaque examen échocardiographique, six coupes étaient enregistrées. Tout d'abord, les coupes apicales deux, trois et quatre cavités. Ces trois coupes permettaient de visualiser les différentes parois du ventricule gauche en grand axe, à savoir dans le plan longitudinal, l'oreillette gauche, ainsi que les valves mitrale et aortique. Puis, étaient obtenues les trois coupes parasternales petit axe (Figure 18). Ces trois coupes permettaient de visualiser le ventricule gauche en coupe transversale sur toute sa hauteur. La coupe basale coupait le ventricule gauche au niveau de la valve mitrale qui devait être visualisée et avoir un aspect spécifique dit «en museau de tanche». La coupe médiane coupait le ventricule gauche au niveau des deux piliers postéromédian et antérolatéral de la valve mitrale, qui devaient être visualisés. La coupe apicale coupait le ventricule gauche au niveau de son apex et devait avoir les deux caractéristiques suivantes : l'absence de visualisation de muscle papillaire et l'occlusion télésystolique du ventricule gauche.

Toutes les mesures étaient réalisées *a posteriori* à l'aide d'un logiciel d'analyse dédié (EchoPac 6.0, GE Healthcare).



**Figure 18.** Coupes parasternales petit axe du ventricule gauche nécessaires pour la mesure de la torsion et de la détorsion (coupes apicale et basale) ainsi que la mesure du strain radial et circonférentiel (coupes apicale, médiane et basale) du ventricule gauche.

## 2. Mesures morphologiques

Les différentes dimensions linéaires du ventricule gauche étaient obtenues par la mesure directe des différentes structures à partir de la coupe médiane petit axe, qui coupe le ventricule gauche au niveau des deux piliers postéromédian et antérolatéral de la valve mitrale. Ainsi, ont été recueillis le diamètre télédiastolique du ventricule gauche, l'épaisseur diastolique du septum interventriculaire et l'épaisseur diastolique de la paroi postérieure du ventricule gauche.

La masse du ventricule gauche était estimée à partir des dimensions linéaires du ventricule gauche selon la formule suivante :  $\text{masse} = 0,8 \times \{1,04 [(DTDVG + SIVd + PPVGd)^3 - (DTDVG)^3]\} + 0,6$  (452), où DTDVG correspond au diamètre télédiastolique du ventricule gauche, SIVd correspond à l'épaisseur diastolique du septum interventriculaire et PPVGd correspond à l'épaisseur diastolique de la paroi postérieure du ventricule gauche.

La surface de l'oreillette gauche était mesurée en télédiastole sur la coupe apicale quatre cavités en délimitant manuellement ses contours.

### *3. Mesures de la fraction d'éjection ventriculaire gauche*

La mesure bidimensionnelle de la fraction d'éjection du ventricule gauche était obtenue selon la méthode de référence actuelle, la méthode des disques biplans (règle de Simpson modifiée) à l'aide de la formule suivante : fraction d'éjection = (volume télédiastolique – volume télésystolique) / volume télédiastolique (452).

Cette méthode repose sur l'assomption géométrique que le ventricule gauche a une forme elliptique. Le volume total du ventricule gauche est obtenu à partir de la sommation d'une pile de disques elliptiques. La hauteur de chaque disque correspond à une fraction prédéfinie du grand axe du ventricule gauche et le calcul des surfaces de chaque disque repose sur la mesure des diamètres du ventricule gauche après délimitation manuelle de l'endocarde dans deux coupes apicales orthogonales, à savoir les coupes apicales quatre et deux cavités.

### *4. Mesures du flux mitral en Doppler pulsé*

La mesure des différents paramètres Doppler du flux mitral était réalisée en coupe apicale quatre cavités. Pour ce faire, la fenêtre d'échantillonnage du Doppler pulsé était alignée sur la valve mitrale et placée 1 à 3 mm au-dessus de cette dernière (352). La vitesse de défilement était réglée entre 25 et 50 mm/seconde pour pouvoir visualiser la variabilité respiratoire du flux mitral. Les mesures étaient effectuées en période télé-expiratoire et moyennées sur trois cycles cardiaques consécutifs.

Ainsi étaient recueillies la vitesse maximale des deux ondes E et A composant le flux mitral. La première onde, ou onde E, est un reflet du gradient de pression auriculo-ventriculaire protodiastolique et correspond ainsi à la phase de remplissage précoce. La deuxième onde, ou onde A, correspond au gradient de pression auriculo-ventriculaire télédiastolique généré par la systole auriculaire et correspond ainsi à la phase de remplissage tardif.

### *5. Mesures de la vitesse de déplacement de l'anneau mitral en Doppler tissulaire*

La mesure de la vitesse de déplacement de l'anneau mitral en Doppler tissulaire était réalisée en coupe apicale quatre cavités. Pour ce faire, après avoir sélectionné le mode Doppler tissulaire, la fenêtre d'échantillonnage du Doppler pulsé était initialement placée environ un centimètre à l'intérieur de l'insertion de la valve mitrale sur la face latérale puis septale de l'anneau mitral (352). Le placement de la fenêtre d'échantillonnage pouvait être secondairement ajusté pour obtenir

l'ensemble du signal Doppler généré par le déplacement dans le plan longitudinal de l'anneau mitral au cours du cycle cardiaque. La vitesse de défilement était réglée entre 50 et 100 mm/seconde pour pouvoir visualiser la variabilité respiratoire du signal. Les mesures étaient effectuées en période télé-expiratoire et moyennées sur trois cycles cardiaques consécutifs. Enfin, les mesures obtenues au niveau de l'insertion de la valve mitrale sur la face latérale et septale de l'anneau mitral étaient moyennées.

Le déplacement dans le plan longitudinal de l'anneau mitral au cours du cycle cardiaque génère trois ondes : deux ondes diastoliques ( $e'$  et  $a'$ ) et une onde systolique ( $s'$ ). Ainsi, étaient recueillies la vitesse maximale des ondes  $e'$  et  $s'$ . L'onde  $e'$  correspond au déplacement diastolique de l'anneau mitral lors de la phase de remplissage précoce du ventricule gauche. L'onde  $s'$  correspond au déplacement systolique de l'anneau mitral et est considéré comme un paramètre régional de la fonction contractile du ventricule gauche.

A partir de la mesure de l'onde E et de l'onde  $e'$  était calculé le rapport  $E/e'$  qui est actuellement considéré comme la meilleure estimation échocardiographique de la pression de remplissage du ventricule gauche (348).

## *6. Mesures des temps du cycle cardiaque*

Les différents temps du cycle cardiaque étaient mesurés en échocardiographie à l'aide du Doppler pulsé. Par convention, le début du cycle cardiaque correspondait au début de la systole, automatiquement placée par l'échocardiographe 10 ms avant le pic de l'onde R à l'ECG.

Les temps d'ouverture et de fermeture de la valve aortique étaient mesurés à partir de la mesure du flux sous-aortique en Doppler pulsé, à savoir l'intégrale temps-vitesse du flux sous-aortique. L'ouverture de la valve aortique correspondait au début du signal de l'intégrale temps-vitesse du flux sous-aortique. La fermeture de la valve aortique correspondait à la fin du signal de l'intégrale temps-vitesse du flux sous-aortique. Les temps d'ouverture et de fermeture de la valve mitrale étaient mesurés à partir de la mesure du flux mitral en Doppler pulsé. L'ouverture de la valve mitrale correspondait au début du signal Doppler du flux mitral, à savoir au début de l'onde E. La fermeture de la valve mitrale correspondait à la fin du signal Doppler du flux mitral, à savoir à la fin de l'onde A.

En plaçant la fenêtre d'échantillonnage du Doppler pulsé dans la chambre de chasse du ventricule gauche, juste en dessous des valves aortiques et à proximité de la valve mitrale, il est possible d'enregistrer simultanément l'intégrale temps-vitesse du flux sous-aortique et le flux mitral.

Ainsi, il est possible de visualiser simultanément l'ouverture et la fermeture des valves aortique et mitrale (352). Les différents intervalles de temps ont été évalués comme suit :

- le temps de contraction isovolumique : intervalle de temps compris entre le début de la systole (automatiquement placée par l'échocardiographe 10 ms avant le pic de l'onde R à l'ECG) et le début de l'intégrale temps-vitesse du flux sous-aortique ;

- le temps de relaxation isovolumique : intervalle de temps compris entre la fin de l'intégrale temps-vitesse du flux sous-aortique et le début de l'onde E du signal Doppler du flux mitral ;

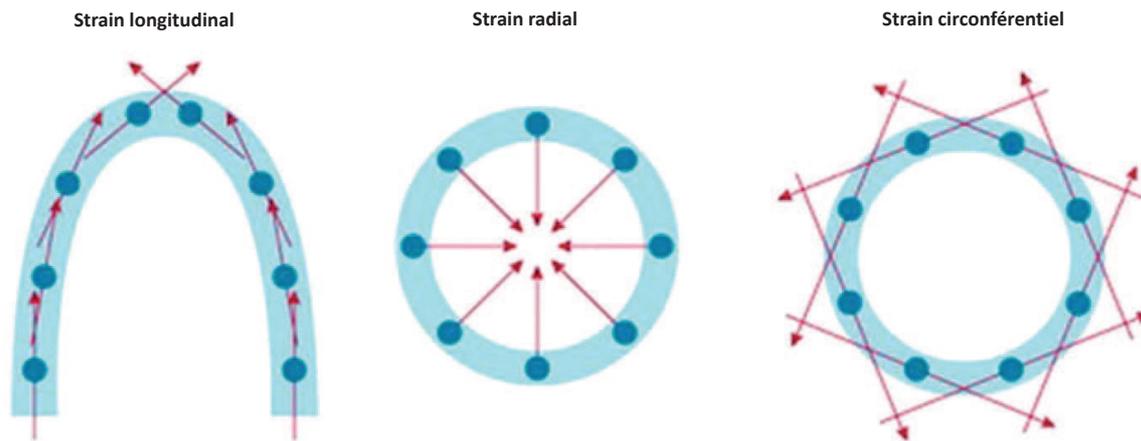
- le temps d'éjection : durée de l'intégrale temps-vitesse du flux sous-aortique ;

- le temps de remplissage : durée du signal Doppler du flux mitral, à savoir l'intervalle de temps compris entre le début de l'onde E et la fin de l'onde A ;

- la durée totale du cycle cardiaque correspondait à l'intervalle de temps entre les deux marqueurs signalant le début de la systole et automatiquement placés par l'échocardiographe 10 ms avant le pic de l'onde R à l'ECG.

## 7. Mesures du *strain* et *strain rate* radial et circonférentiel du ventricule gauche

La mesure du *strain* multidirectionnel et du *strain rate* est une technique de quantification précise de la fonction et de la contractilité cardiaque apparue il y a une quinzaine d'années (453). Contrairement à la fraction d'éjection du ventricule gauche, paramètre de fonction systolique ventriculaire gauche classiquement utilisé, les mesures du *strain* et du *strain rate* sont moins sujettes à la variabilité intra et inter-observateur de la mesure (454) et permettent surtout d'évaluer la déformation du myocarde dans toutes les directions et non pas seulement dans ses composantes radiale et longitudinale (111) (Figure 19). Enfin, la mesure du *strain* permet de détecter des anomalies de la fonction systolique du ventricule gauche alors même que la fraction d'éjection ventriculaire gauche est conservée, tant chez les patients hypertendus (455, 456) que chez les patients avec une insuffisance cardiaque à fraction d'éjection préservée (142, 193, 194, 456, 457). Initialement mesurés en Doppler tissulaire (108, 109), l'obtention de ces paramètres repose désormais sur la technique du *speckle tracking*, décrite précédemment dans la partie bibliographique du manuscrit.



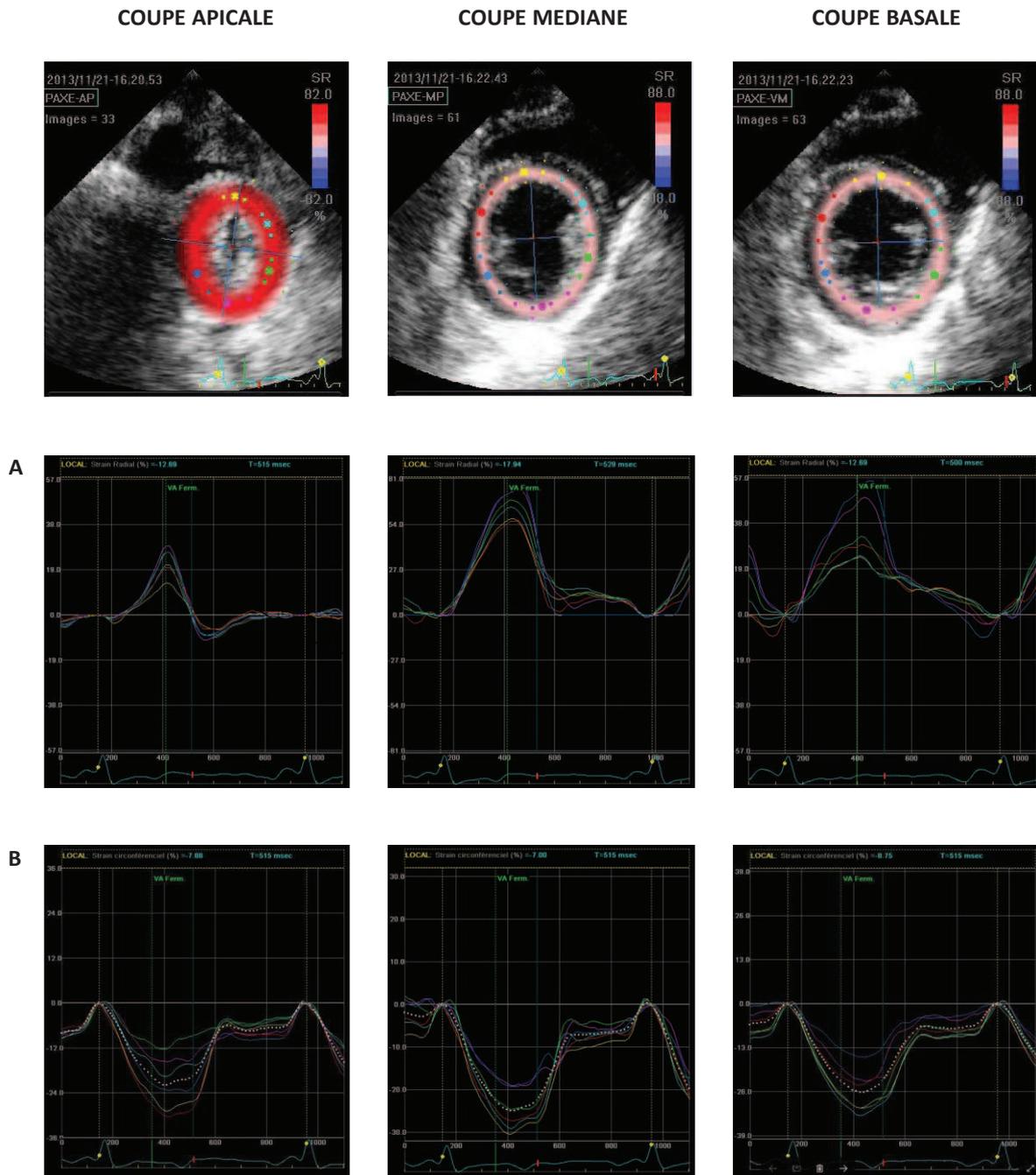
**Figure 19.** Evaluation de la déformation (strain) du myocarde du ventricule gauche dans le plan longitudinal (strain longitudinal), radial (strain radial) et circonférentiel (strain circonférentiel). Les points bleus représentent les "speckles" dont le déplacement, modélisé par les flèches rouges, est analysé dans un plan donné image par image au cours du cycle cardiaque. D'après Blessberger (114).

Le *strain*, paramètre sans unité physique, correspond au déplacement des *speckles* au cours du cycle cardiaque et caractérise donc la déformation myocardique. Par convention, le *strain* correspond à la longueur de la fibre myocardique en télésystole ( $L$ ) rapportée à sa longueur initiale en télédiastole ( $L_0$ ) et s'exprime en pourcentage de modification par rapport à la dimension originelle :  $strain (\%) = (L-L_0)/L_0$ . Une valeur de *strain* positive indique un étirement ou un épaississement des fibres myocardiques. Une valeur de *strain* négative indique un raccourcissement ou un amincissement des fibres myocardiques. Egalement par convention, le terme *strain* fait référence à la valeur maximale ou pic de *strain* au cours du cycle cardiaque (114).

Le *strain rate* représente la vitesse de déplacement des *speckles* au cours du cycle cardiaque et caractérise la vitesse de déformation myocardique. Le *strain rate* correspond donc à la dérivée première du *strain* par rapport au temps et est exprimé en  $s^{-1}$ . Il peut être déterminé au cours de la systole ou de la diastole (114).

Les mesures du *strain* et du *strain rate* radial et circonférentiel du ventricule gauche nécessitent tout d'abord une analyse par *speckle tracking* des trois coupes parasternales petit axe, à savoir la coupe basale, la coupe médiale et la coupe apicale. Cette analyse était réalisée *a posteriori* à l'aide d'un logiciel dédié (EchoPac 6.0, GE Healthcare). Après avoir tracé manuellement le contour endocardique du ventricule gauche, le logiciel définissait automatiquement la région d'intérêt après délimitation des lignes épicaudique et mésocardiaudique et permettait d'obtenir, pour chacune des trois coupes parasternales petit axe, pour un cycle cardiaque donné, des données brutes de *strain* et de *strain rate* pour les différentes parois du ventricule gauche (Figure 20). Puis, les données brutes de

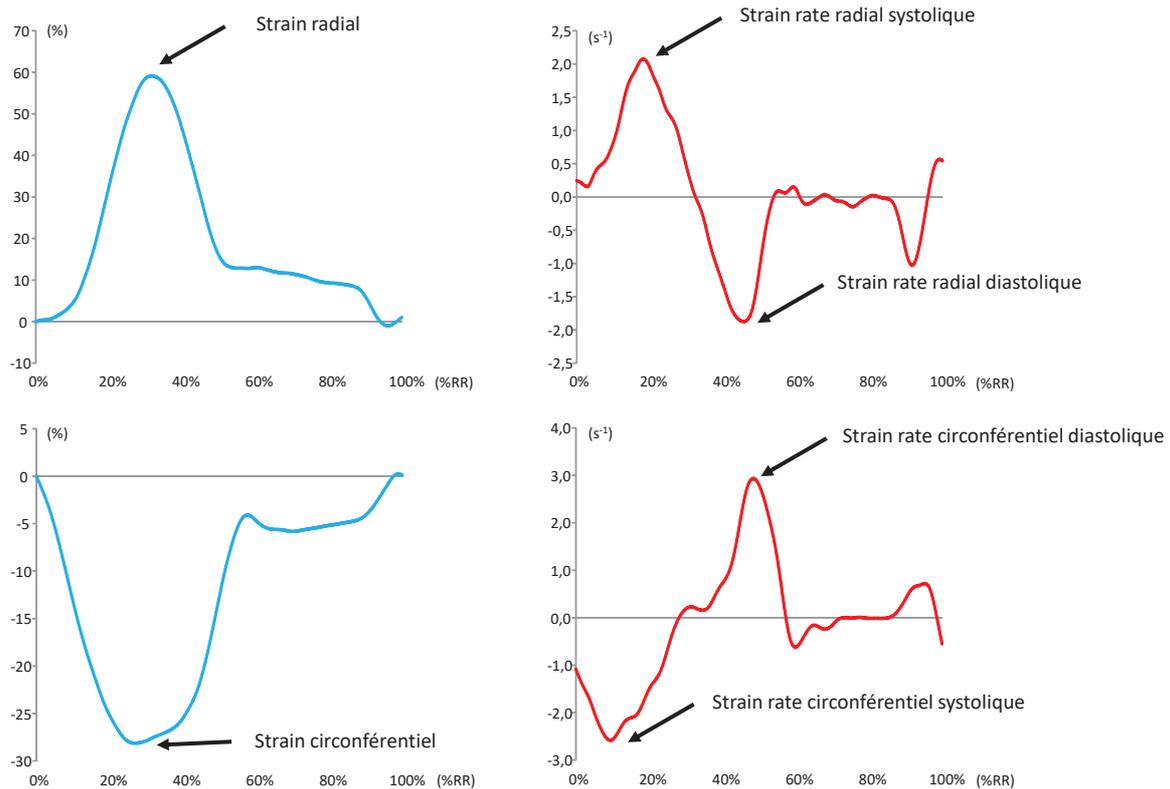
*strain* et de *strain rate* ainsi obtenues étaient exportées pour analyse dans un feuille de calcul Excel dédiée (Excel, Microsoft Corp, Seattle, Washington, Etats-Unis d'Amérique) spécifiquement construite pour l'obtention du *strain* et du *strain rate*. En effet, à l'exception du *strain* longitudinal, tant le *strain* que le *strain rate* radial et circonférentiel ne sont pas directement fournis par l'échocardiographe.



**Figure 20.** Exemple de données brutes de déformation du myocarde (strain) pour les différentes parois du ventricule gauche pour chacune des trois coupes parasternales petit axe. Chaque ligne de couleur représente une paroi donnée. Le marqueur jaune sur l'ECG, automatiquement placé par l'échocardiographe 10 ms avant le pic de l'onde R, délimite le cycle cardiaque d'intérêt. Panneau A: déformation dans le plan radial (strain radial). Panneau B: déformation dans le plan circonférentiel (strain circonférentiel).

L'analyse des données brutes obtenues nécessitent alors plusieurs étapes. La première étape consistait à délimiter précisément les bornes du cycle cardiaque d'intérêt. Par convention, le début du cycle cardiaque correspondait au début de la systole, automatiquement placée par l'échocardiographe 10 ms avant le pic de l'onde R à l'ECG. Néanmoins, lors de l'analyse en *speckle tracking*, l'échocardiographe fournissait toujours des données brutes qui correspondaient à la fin du cycle cardiaque précédent et au début du cycle cardiaque suivant le cycle cardiaque d'intérêt. La deuxième étape consistait à normaliser la durée de chaque cycle cardiaque d'intérêt pour s'affranchir de la variabilité de la fréquence cardiaque entre chaque animal (322). Ainsi, le début et la fin du cycle cardiaque représentait respectivement 0% et 100% du temps de cycle total. La troisième étape consistait à éliminer, pour chacune des trois coupes parasternales petit axe, les données brutes de *strain* et de *strain rate* correspondant aux différentes parois du ventricule gauche pour lesquels les speckles n'étaient pas correctement suivis, image par image, tout au long du cycle cardiaque, du fait principalement d'une mauvaise échogénicité. La quatrième et dernière étape consistait à réaliser une interpolation cubique des données brutes de *strain* et de *strain rate* ainsi sélectionnées pour chacune des trois coupes parasternales petit axe. Ainsi, les paramètres de *strain* et de *strain rate* du ventricule gauche, obtenus à partir du *strain* et du *strain rate* des différentes coupes parasternales petit axe, correspondaient bien à l'addition de points isochronaux (75, 197).

Le *strain* correspondait ainsi à la déformation du myocarde au cours du cycle. Il a été évalué dans les plan radial (valeur positive) et circonférentiel (valeur négative). Les *strain rate* correspondaient à la vitesse maximale de déformation et était exprimé en  $s^{-1}$ . Le *strain rate* était évalué en systole et en diastole (Figure 21). Enfin, le moment de survenue dans le cycle cardiaque du *strain rate* diastolique radial et circonférentiel était exprimé en pourcentage de cycle cardiaque.



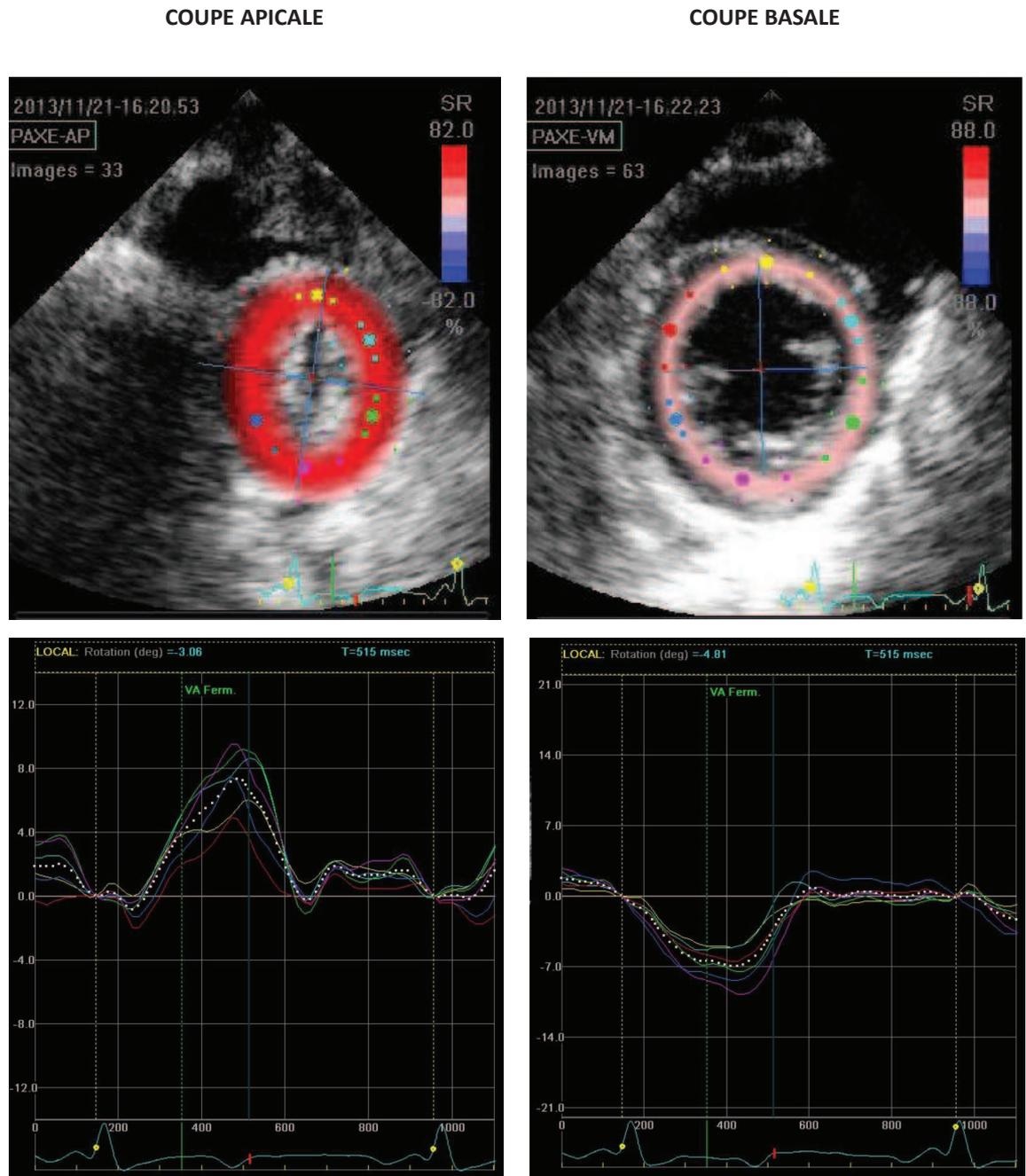
**Figure 21.** Panneau de gauche: déformation du myocarde (strain) du ventricule gauche dans le plan radial et circonférentiel au cours du cycle cardiaque. Panneau de droite: vitesse de déformation myocardique (strain rate) du ventricule gauche dans le plan radial et circonférentiel au cours du cycle cardiaque. Le temps est exprimé en pourcentage de cycle cardiaque, 0% représentant le début du cycle cardiaque et 100% la fin du cycle cardiaque.

### 8. Mesures de la torsion et de la détorsion du ventricule gauche

La mesure de la torsion et de la détorsion du ventricule gauche repose sur l'analyse par *speckle tracking* (67, 68, 106, 107) des coupes parasternales petit axe basale et apicale du ventricule gauche. Cette analyse était réalisée *a posteriori*, à l'aide d'un logiciel dédié (EchoPac 6.0, GE Healthcare).

Après avoir tracé manuellement le contour endocardique du ventricule gauche, le logiciel définissait automatiquement la région d'intérêt après délimitation des lignes épicaudique et mésocardiaudique et permettait d'obtenir, pour chacune des deux coupes parasternales petit axe, pour un cycle cardiaque donné, des données brutes de rotation apicale et basale pour les différentes parois du ventricule gauche (Figure 22). Puis, les données brutes de rotation ainsi obtenues étaient exportées pour analyse dans un fichier Excel dédié (Excel, Microsoft Corp, Seattle, Washington, Etats-Unis d'Amérique) spécifiquement mis au point pour l'obtention de la torsion et de la détorsion. En

effet, comme le *strain* et le *strain rate* radial et circonférentiel, la torsion et la détorsion ne sont pas directement fournies par l'échocardiographe.



**Figure 22.** Exemple de données brutes de rotation apicale (panneau de gauche) et basale (panneau de droite) pour les différents parois du ventricule gauche. Chaque ligne de couleur représente une paroi donnée. Le marqueur jaune sur l'ECG, automatiquement placé par l'échocardiographe 10 ms avant le pic de l'onde R, délimite le cycle cardiaque d'intérêt.

L'analyse des données brutes obtenues de rotation apicale et basale nécessitent alors exactement les mêmes étapes d'analyse, que celles précédemment décrites pour l'analyse des données brutes de *strain* et de *strain rate*, à savoir, (1) la délimitation précise des bornes du cycle cardiaque d'intérêt, (2) la normalisation de la durée de chaque cycle cardiaque d'intérêt pour s'affranchir de la variabilité de la fréquence cardiaque entre chaque animal (322) (3) l'élimination pour chacune des deux coupes parasternales petit axe des données brutes de rotation correspondant aux différentes parois du ventricule gauche pour lesquels les *speckles* n'étaient pas correctement suivis, image par image, tout au long du cycle cardiaque et enfin (4) la réalisation d'une interpolation cubique des données brutes de rotation sélectionnées pour chacune des deux coupes parasternales petit axe, afin de s'assurer que la torsion et la détorsion du ventricule gauche, obtenues à partir de la rotation apicale et basale, correspondaient bien à l'addition de points isochronaux (75, 197).

Des paramètres dérivés de la torsion et de la détorsion du ventricule gauche étaient également analysés. Premièrement, à partir de la dérivée première par rapport au temps du mouvement de torsion du ventricule gauche au cours de la systole était calculée la vitesse maximale du mouvement de torsion du ventricule gauche au cours de la systole, exprimée en  $^{\circ}.s^{-1}$ . Deuxièmement, la détorsion du ventricule gauche pendant la relaxation isovolumique, exprimée en pourcentage, était calculée selon la formule suivante : (amplitude maximale du mouvement de torsion du ventricule gauche – amplitude du mouvement de torsion du ventricule gauche à l'ouverture de la valve mitrale) x 100. Troisièmement, la vitesse de détorsion du ventricule gauche à l'ouverture de la valve mitrale était également mesurée sur la courbe de détorsion du ventricule gauche obtenue après analyse par *speckle tracking*.

Enfin, le moment de survenue dans le cycle cardiaque de la détorsion et de la vitesse maximale du mouvement de torsion du ventricule gauche au cours de la systole était exprimé en pourcentage de cycle cardiaque.

### *9. Courbes pression/strain et pression/torsion du ventricule gauche*

La pression ventriculaire gauche mesurée à l'aide du capteur de pression Königsberg (capteur P5A, Königsberg Instrument Inc, Pasadena, Californie, Etats-Unis d'Amérique) ainsi que les coupes d'échocardiographie permettant l'obtention du *strain* et de la torsion du ventricule gauche après analyse par *speckle tracking* étaient enregistrées simultanément et synchronisées, avec comme référence temporelle commune le début de la systole, placé 10 ms avant le pic de l'onde R à l'ECG.

Comme précédemment décrit pour l'analyse par *speckle tracking*, la durée de chaque cycle cardiaque d'intérêt au cours duquel était enregistrée la pression ventriculaire gauche était normalisée. Ainsi, le début et la fin du cycle cardiaque représentait respectivement 0% et 100% du temps de cycle total. De même, une interpolation cubique des données brutes de pression ventriculaire gauche était également réalisée. Ainsi, les courbes pression / *strain* radial, pression / *strain* circonferentiel et pression / torsion du ventricule gauche au cours du cycle cardiaque étaient tracées et les aires sous courbe, reflet indirect du travail myocardique, étaient calculées (458).

## V. ANALYSE CELLULAIRE

### A. Isolement des cardiomyocytes

#### 1. Animaux dédiés

Les animaux destinés à l'analyse cellulaire avaient une instrumentation chronique minimale, qui consistait en l'implantation d'un cathéter rigide en Tygon (diamètre interne de 1mm, Bioblock, Illkirch, France) dans l'aorte thoracique descendante, et après réalisation d'une péricardotomie, d'un autre cathéter rigide dans l'oreillette gauche et d'un cathéter souple en Silastic (diamètre interne de 1mm, Sedat, Irigny, France) dans l'artère pulmonaire.

Cette instrumentation minimale, indispensable pour le recueil des données hémodynamiques au cours du protocole expérimental, était nécessaire pour pouvoir extraire le cœur dans les meilleures conditions possibles lors de l'euthanasie des animaux.

#### 2. Prélèvement des cœurs

Après une prémédication des animaux par l'azapérone (8 mg/kg), l'induction anesthésique consistait en l'administration de pentobarbital sodique (20 mg/kg). Puis, les animaux étaient placés sous ventilation mécanique invasive après intubation orotrachéale et ventilés mécaniquement en mode volume contrôlé (respirateur Alpha 100, Minerve vétérinaire) avec des volumes courants de 8 mL/kg de poids réel et une fréquence respiratoire entre 18 et 24 respirations par minute, adaptée pour obtenir une fraction expirée en dioxyde de carbone comprise entre 35 et 40 mmHg.

Après réalisation d'une thoracotomie gauche au niveau du quatrième ou du cinquième espace intercostal, de l'héparine était administrée (500 UI) et le cœur prélevé. Après excision, le cœur était immédiatement plongé dans une solution de Tyrode ([mM] NaCl 137 ; KC1 5,4 ; MgCl2 0,5

; CaCl<sub>2</sub> 1,8 ; HEPES 11,8 ; glucose 10 ; pH ajusté à 7,45 à l'aide d'une solution de NaOH 1N), préalablement refroidie à 4°C et oxygénée.

### *3. Isolement des cardiomyocytes*

Une portion du ventricule gauche était initialement isolée et perfusée par l'artère coronaire interventriculaire antérieure à débit constant (1 à 2 ml/mn) à l'aide d'une solution à 37°C et oxygénée dans un dispositif de type Langendorff.

L'isolement des cardiomyocytes nécessitent alors plusieurs étapes. Tout d'abord, le ventricule gauche était perfusé pendant 30 minutes avec une solution de Tyrode sans calcium ([mM] NaCl 130 ; KC1 5,4 ; KH<sub>2</sub>P0<sub>4</sub> 1,2 ; MgSO<sub>4</sub> 1,2 ; HEPES 6 ; glucose 20 ; pH ajusté à 7,2 à l'aide d'une solution de NaOH 1N) à 37°C, afin de vider les stocks calciques cellulaires et empêcher toute contraction du myocarde au cours de la dissociation. Puis, la solution de Tyrode était supplémentée avec 1,4 mg/ml de collagénase A (Boehringer Mannheim) et 0,1 mg/ml de protéase (type XIV, Sigma) et le ventricule gauche était perfusé avec cette solution enrichie en enzymes de digestion pendant quelques minutes, jusqu'à obtenir sa dissociation. Le ventricule gauche était considéré comme correctement dissocié lorsqu'il prenait une coloration blanchâtre et que des cardiomyocytes étaient visualisés en microscopie optique dans les résidus enzymatiques. Alors, la solution de Tyrode enrichie en enzymes de digestion était remplacée pendant 15 minutes par une autre solution de Tyrode contenant une faible concentration de calcium pour éliminer toutes les enzymes de digestion du tissu myocardique. Enfin, le tissu myocardique ainsi perfusé était découpé en fines tranches perpendiculaires à la paroi du ventricule gauche et la dissociation cellulaire était réalisée par agitation mécanique douce.

Les préparations ainsi obtenues étaient alors filtrées au travers d'une membrane en nylon et les cellules récupérées étaient remises en suspension dans une solution de Tyrode contenant une faible concentration de calcium et sédimentées pendant 20 minutes. Puis, la concentration extracellulaire de calcium était progressivement incrémentée jusqu'à 1,8 mM et les cellules stockées à température ambiante et étudiées dans les 8 à 10 heures qui suivaient leur isolement.

Cette technique permettait d'isoler les cardiomyocytes avec un rendement de 40 à 60%. Seules les cellules en forme de bâtonnet avec des striations bien visibles, non ballonnées et sans contraction spontanée étaient ultérieurement analysées.

## **B. Etude de la contractilité**

### *1. Conditions d'étude*

Les cardiomyocytes étaient placés dans la chambre thermostatée à 37°C et perfusée par une solution tampon (en mM : NaCl 140, KCl 5,4, CaCl<sub>2</sub> 1, MgCl<sub>2</sub> 0,8, HEPES 10 and glucose 5,6 ; pH = 7,4) et observés à l'aide d'un microscope inversé à fluorescence (Nikon, Paris, France).

Les cardiomyocytes étaient stimulés à la fréquence de 1Hz à l'aide de deux électrodes en platine reliées à un stimulateur électrique Grass S88K (Grass Instruments, Trappes, France). Les mouvements contractiles des cardiomyocytes étaient alors visualisés au travers d'une lentille d'objectif grossissant x40 et les images acquises en continu étaient transférées à une caméra digitale (MyoCam-S, IonOptix, Milton, Massachusetts, Etats-Unis d'Amérique) couplée au microscope inversé. La contractilité des cardiomyocytes était alors analysée avec un logiciel dédié (IonWizard, IonOptix, Milton, Massachusetts, Etats-Unis d'Amérique).

### *2. Paramètres mesurés*

L'analyse de la contractilité repose sur la mesure en continu, en microscopie, de la distance séparant deux stries Z. Ainsi, il est possible d'obtenir différents paramètres caractérisant la contractilité ou la relaxation.

Tout d'abord, l'amplitude absolue de contraction du sarcomère, calculée comme la différence de longueur du sarcomère entre la systole et la diastole. Puis, le pourcentage de raccourcissement du sarcomère, calculée comme le rapport entre l'amplitude absolue de contraction et la longueur du sarcomère en diastole. Enfin, les vitesses maximales de contraction et de relaxation des sarcomères au cours de la systole et de la diastole étaient également mesurées.

## C. Etude de l'homéostasie calcique

### 1. Etude des transitoires calciques

La concentration de calcium dans le cytosol des cardiomyocytes est un élément clé du cycle contraction-relaxation. Sa variation au cours du cycle contraction-relaxation est appelée transitoire calcique.

Les concentrations cytosoliques de calcium étaient mesurées à l'aide d'une plateforme dédiée (IonOptix, Milton, Massachusetts, Etats-Unis d'Amérique). Pour ce faire, les cardiomyocytes étaient incubés avec 5  $\mu\text{M}$  avec la forme estérifiée d'un indicateur fluorescent de synthèse, le Fura-2-AM (Invitrogen, Illkirch, France) pendant 20 minutes. Les cardiomyocytes ainsi chargés en Fura-2 étaient alors soumis à une exposition alternative et quasi simultanée à deux longueurs d'onde d'excitation, 340 et 380 nm. L'émission de fluorescence du Fura-2 en réponse à l'excitation à 340 nm puis 380 nm était alors mesurée à une longueur d'onde de 510 nm. La mesure du rapport des fluorescences à 340 et 380 nm ( $F_{340}/F_{380}$ ) permettait de calculer la concentration cytosolique des cardiomyocytes en calcium (459).

L'étude des transitoires calciques était réalisée à l'aide d'un logiciel dédié (IonWizard, IonOptix, Milton, Massachusetts, Etats-Unis d'Amérique). Les transitoires calciques étaient caractérisées par la différence des rapports  $F_{340}/F_{380}$  lors de la contraction et de la relaxation, ainsi que par l'amplitude du pic de la transitoire calcique et sa vitesse de décroissance.

### 2. Etude des canaux transmembranaires du réticulum sarcoplasmique

A partir du ventricule gauche isolé, 200 à 500 mg de tissu cardiaque était prélevé puis homogénéisé à l'aide d'un homogénéisateur de tissu (Fisher Scientific) et d'une solution comprenant 300 mM de sucrose, 20 mM d'imidazole (pH = 7,4) et un cocktail d'inhibiteurs des protéases (Roche). L'homogénat obtenu était alors centrifugé à 8000 g à 4°C pendant 20 minutes. Le surnageant était alors congelé et le culot à nouveau homogénéisé selon le même protocole. Au décours, les deux surnageants obtenus étaient mélangés et centrifugés à 40 000 g à 4°C pendant 60 minutes. Le surnageant alors obtenu était éliminé et le culot contenant les vésicules de réticulum sarcoplasmique était remis en suspension dans 100 à 200  $\mu\text{L}$ , puis aliquoté dans la solution utilisée initialement pour l'homogénéisation. Les aliquots ainsi obtenus étaient finalement congelés dans l'azote liquide et conservés à -80°C.

Les vésicules de réticulum sarcoplasmique étaient secondairement incorporées dans une bicouche lipidique à l'aide d'une solution lipidique d'azolectine (type IV S de Sigma) à 45 mg / ml dissoute dans un décane, qui était versée au travers d'un pore de 200 µm dans des cupules de polysulfonate (Warner Instruments) dédiées, composées de deux chambres (460). La chambre *trans* (1 ml) représentait le versant endoluminal du réticulum sarcoplasmique et était connectée à l'amplificateur de tension de la bicouche lipidique. La chambre *cis* (1 ml), représentait le versant cytosolique du réticulum sarcoplasmique. La chambre *trans* était perfusée avec une solution comprenant 53 mM de Ca(OH)<sub>2</sub>, 50 mM de KCl, 250 mM d'Hepes, pH 7,35 et la chambre *cis* était perfusée avec une solution comprenant 1 mM d'EGTA, 250/125 mM d'Hepes/Tris, 50 mM de KCl, 0,64 mM de CaCl<sub>2</sub>, pH = 7,35. Les vésicules de réticulum sarcoplasmique étaient ensuite transférées dans la chambre *cis* et fusionnées à la bicouche lipidique en rendant la chambre *cis* hyperosmolaire par ajout temporaire de 400 à 500 mM de KCl, avant de reperfuser la chambre *cis* avec la solution initialement décrite, dès lors que les canaux potassium et chlore étaient apparus.

Les courants ioniques au travers de chacun des différents canaux transmembranaires du réticulum sarcoplasmique étaient enregistrés à 0 mV à l'aide d'un amplificateur BC-535 (Warner Instruments, Hamden, Connecticut, Etats-Unis d'Amérique), filtrés à 1 kHz à l'aide d'un filtre passe-bas Filter 8 Pole (Warner Instruments, Hamden, Connecticut, Etats-Unis d'Amérique) et enfin numérisés à 4 kHz. Les récepteurs de la ryanodine étaient identifiés à la fin du protocole expérimental en ajoutant 5 à 20 mM de ryanodine dans la chambre *cis*. Toutes les expériences étaient réalisées à une température de 23°C. La probabilité d'ouverture (P<sub>0</sub>), la fréquence d'ouverture (F<sub>0</sub>), le temps d'ouverture (T<sub>0</sub>) ainsi que le temps de fermeture (T<sub>c</sub>) des différents canaux étaient déterminés sur une période d'enregistrement d'au moins deux minutes. Les enregistrements ainsi obtenus étaient analysés à l'aide de la version 10.1 du logiciel dédié Clampfit (pCLAMP 10 Software, Molecular Devices, Sunnyvale, Californie, Etats-Unis d'Amérique).

### 3. Etude des récepteurs de la ryanodine de type 2

Leur étude spécifique était réalisée à partir de fragments prélevés sur le ventricule gauche isolé. Pour ce faire, les fragments prélevés étaient lysés à l'aide d'une solution comprenant 10 mM de Tris Maleate (pH 6,8), 35 mM de NaF, 1% de triton et un cocktail d'inhibiteurs des protéases (Roche 11873580001). Un anticorps anti-RyR-2 était alors ajouté à l'homogénat de ventricule gauche obtenu et l'ensemble était incubé dans 0,5 ml d'une solution tampon RIPA (Tris HCl 10mM (pH 7,4), NaCl 150mM, Triton 1%, NaF 5mM et un cocktail d'inhibiteurs des protéases) pendant deux heures à 4°C. Les complexes immuns ainsi formés étaient par la suite incubés avec des billes magnétiques de

protéine A/G (Pierce 88802) pendant deux heures à 4°C. Les billes magnétiques étaient finalement lavées trois fois avec la solution tampon RIPA.

Pour mettre en évidence une oxydation des récepteurs de la ryanodine de type 2, les complexes immuns obtenus étaient traités avec du 2,4 dinitrophenylhydrazine (DNPH). Les dérivés carbonylés alors obtenus étaient détectés à l'aide d'un kit de détection d'oxydation des protéines (Oxyblot Protein oxidation detection Kit, Millipore S7150).

Enfin, les échantillons protéiques issus des fragments du ventricule gauche étaient déposés sur un gel d'électrophorèse SDS/PAGE, séparés selon leur poids moléculaire en appliquant un courant de 100 volts pendant une heure puis transférés sur une membrane de nitrocellulose. Dès lors, différents anticorps marqués dirigés contre les récepteurs de la ryanodine étaient appliqués sur la membrane afin de détecter leur présence dans la membrane, selon la technique du western blot. Ainsi, étaient utilisés des anticorps dirigés (1) contre les récepteurs de la ryanodine (Ryr, 1 :1000 ), (2) contre le phospho-épitope des récepteurs de la ryanodine humain de type 1 phosphorylés sur leur sérine en position 2808 (1 :5000), permettant de détecter les récepteurs de la ryanodine de type 2 phosphorylés par la protéine kinase A sur leur sérine en position 2808, (3) contre la cystéine nitrosylée (anticorps anti Cys-NO, Sigma-Aldrich N5411, 1 :1000), (4) contre le 2,4 dinitrophenylhydrazine (anticorps anti-DNPH, 1 :300), et (5) contre la calstabile 2 (anticorps anti-FKBP 12,6, RD System AF 4174, 1 :1000), qui est la protéine stabilisant le récepteur de la ryanodine de type 2 dans sa conformation fermée. La qualité des westerns blot réalisés étaient évaluée par un contrôle de charge à l'aide d'anticorps antiGlycéraldéhyde 3-Phosphate Déhydrogénase (GPDH) (Abcam ab 8245, 1:60 000), permettant de s'assurer que le dépôt des protéines était identique dans chaque puits du gel SDS/PAGE utilisé. La lecture des westerns blot se faisait à l'aide du système de fluorescence infrarouge Odyssey (LI-COR Biotechnology, Lincoln, Nevada, Etats-Unis d'Amérique) après administration d'un fluorochrome infrarouge.

#### *4. Etude de la SERCA2a et du phospholamban*

L'étude de la SERCA2a et du phospholamban était réalisée à partir de fragments prélevés sur le ventricule gauche isolé. Ces derniers étaient préparés puis étudiés par western blot comme décrit dans le chapitre précédent pour l'étude des récepteurs de la ryanodine. Les anticorps utilisés étaient dirigés (1) contre la SERCA2a (Badrilla A010-20, 1:1000), (2) contre le phospholamban (Abcam ab85146, 1:1000), et (3) contre le phospholamban phosphorylé sur la sérine en position 16 (Badrilla A010-12, 1:1000).

## VI. ANALYSE HISTOLOGIQUE

Après sacrifice des animaux, le cœur était prélevé et le ventricule gauche isolé puis découpé. Les coupes du ventricule gauche étaient alors fixées dans du formol 4% et incluses dans la paraffine.

Les fibres de collagène étaient détectées en colorant par du rouge Sirius des sections de ventricule gauche d'une épaisseur de 5  $\mu\text{m}$ . La fibrose interstitielle était alors quantifiée et exprimée en pourcentage des champs observés (10 champs analysés à un agrandissement x10).

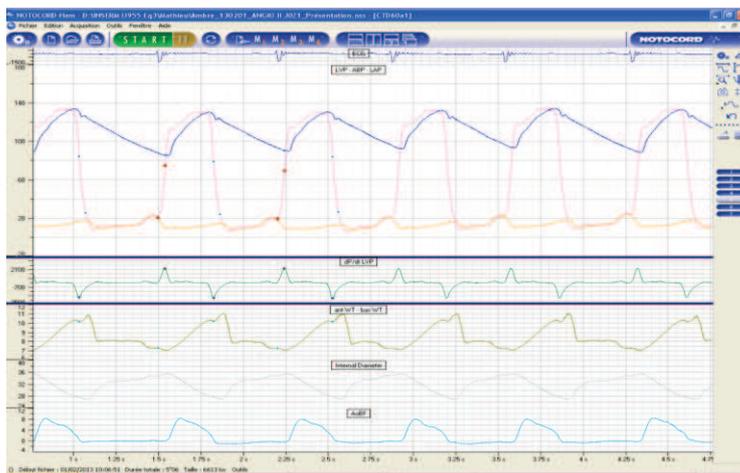
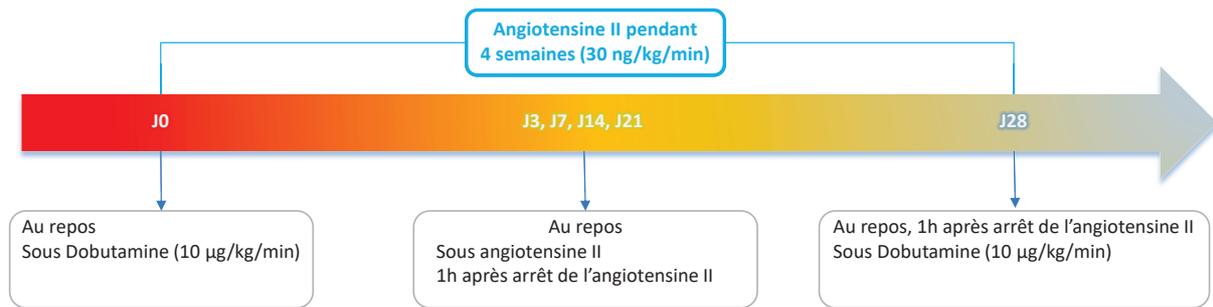
## VII. PROTOCOLE EXPERIMENTAL

Après deux à trois semaines de convalescence, vérification de l'apyrexie et de la qualité des signaux enregistrés, les animaux étaient inclus dans le protocole expérimental (J0) et étudiés à l'état éveillé ou sédatisés lors des examens échocardiographiques (kétamine 1,5 mg/kg ; butorphanol 0,2 mg/kg et diazépam 0,8 mg/kg toutes les 20 minutes) après avoir été placés dans un hamac dédié.

A J0, les paramètres hémodynamiques et/ou échocardiographiques étaient enregistrés au repos et cinq minutes après le début de l'administration de dobutamine (10  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ ). A la fin des enregistrements, une perfusion continue d'angiotensine II (30 ng/kg/min,) était débutée pour une durée de 28 jours. L'angiotensine II était administrée par le cathéter souple en Silastic implanté dans l'artère pulmonaire à l'aide d'une pompe miniaturisée fixée sur dos de l'animal (MICROJECT, Sorenson Médical, France). Le bon fonctionnement de la pompe était vérifié quotidiennement.

A J3, J7, J14 et J21 du début de l'administration de l'angiotensine II, les paramètres hémodynamiques étaient enregistrés à nouveau. Les enregistrements étaient tout d'abord réalisés sous angiotensine II. Puis la perfusion d'angiotensine II était stoppée pendant 60 minutes et l'enregistrement des paramètres hémodynamiques était alors réitéré à un moment où la valeur de pression artérielle atteignait le niveau observé à J0. Cette évaluation avec et sans angiotensine II permettait d'évaluer les performances ventriculaires gauches intrinsèques, en minimisant l'effet des modifications des conditions de charge du cœur.

A J28, les paramètres hémodynamiques et échocardiographiques étaient de nouveau enregistrés 60 minutes après l'arrêt de la perfusion d'angiotensine II, puis cinq minutes après le début de l'administration de dobutamine (10  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ ). Le protocole expérimental est résumé dans la figure 23.



Exploration hémodynamique  
J0, J3 J7, J14, J21, J28



Exploration échocardiographique  
J0 et J28

Figure 23. Protocole expérimental

Au terme du protocole expérimental, les animaux étaient sacrifiés par administration de pentobarbital sodique (60 mg/kg). Le cœur était alors prélevé et pesé. La position des cristaux piézoélectriques était également vérifiée.

Dans le cas où des animaux contrôles étaient étudiés, le même protocole expérimental était utilisé, l'angiotensine II étant remplacée par du sérum physiologique.

## VIII. JUSTIFICATION DU PROTOCOLE EXPERIMENTAL

En clinique, l'hypertension artérielle est la principale cause d'hypertrophie ventriculaire gauche, de dysfonction diastolique et d'insuffisance cardiaque à fraction d'éjection préservée. C'est pourquoi, nous avons décidé de mettre au point un modèle hypertensif expérimental. Plusieurs modèles hypertensifs expérimentaux sont décrits dans la littérature.

Les modèles murins représentent les modèles précliniques les plus utilisés en physiopathologie et pharmacologie cardiovasculaire pour caractériser les mécanismes physiopathologiques cellulaires et biochimiques qui sous-tendent le développement de l'hypertrophie ventriculaire gauche et *in fine* de l'insuffisance cardiaque à fraction d'éjection préservée. La popularité de ces modèles murins tient d'une part à la simplicité de la gestion du petit animal et d'autre part, à l'essor de dispositifs d'investigation hémodynamique et de sondes d'échocardiographies dédiés à l'exploration du petit animal. Néanmoins, ces modèles murins possèdent de nombreuses particularités, qui limitent la transposition à l'Homme des concepts ou des observations acquises. Premièrement, la fréquence cardiaque au repos est très différente chez la souris (500-700 batt/min) et chez l'Homme (70-80 batt/min). Cette fréquence cardiaque élevée empêche toute analyse précise de paramètres essentiels pour l'étude de la dysfonction diastolique, tels que la relaxation isovolumique ou le remplissage ventriculaire. *A contrario*, le développement récent de sondes d'échocardiographies à haute fréquence, dédiées à l'exploration du petit animal, permet actuellement de repousser cette limite mais les échographes travaillent à une fréquence d'acquisition qui reste faible eu égard de la fréquence cardiaque de la souris. Deuxièmement, les anomalies cellulaires associées à la dysfonction diastolique et *in fine* à l'insuffisance cardiaque à fraction d'éjection préservée touchent principalement l'appareil contractile et les voies de signalisation calcique du cardiomyocyte. Or, il existe certaines différences entre l'Homme et la souris, tant dans l'expression des différentes protéines régulant l'homéostasie calcique, que dans l'expression des différentes isoformes des récepteurs  $\beta$ -adrénergiques impliquées dans les voies de signalisation calcique (461). Ces différences peuvent directement influencer sur le couplage contraction-relaxation mais également la réponse calcique aux stimuli physiopathologiques ou pharmacologiques (462).

Dans les modèles ayant recours au gros animal, l'hypertension artérielle peut être induite à l'aide d'une constriction rénale ou ses effets sur le remodelage du ventricule gauche reproduits par constriction de l'aorte (463). Ainsi, des modèles de constriction rénale ont été développés chez le chien (464-467) ou le primate non-humain (468). Des modèles de constriction aortique ont également été développés chez le chien (243, 469-472), le mouton (473-476) et le porc (477-481), y

compris chez le porc nain (482, 483). Cependant, cela correspond plutôt à une surcharge barométrique et non volumétrique. Quoi qu'il en soit, la surcharge est irréversible, rendant difficile l'évaluation des propriétés intrinsèques du myocarde, *i.e.*, en dehors de toute modification patente et persistante des conditions de charge du cœur.

C'est pourquoi, nous avons développé un modèle hypertensif chez le gros animal, dans lequel l'hypertension artérielle chronique est induite par l'administration continue d'angiotensine II à l'aide d'une pompe miniaturisée. Le grand intérêt de notre modèle est que la pompe miniaturisée autorise l'arrêt de la perfusion d'angiotensine II au cours du protocole expérimental, permettant un retour de la pression artérielle au niveau observé avant toute administration d'angiotensine II. Ainsi, nous pouvons évaluer les performances du ventricule gauche indépendamment des variations des conditions de charge du cœur et les performances intrinsèques du ventricule gauche peuvent être ainsi réellement évaluées. Le deuxième intérêt de notre modèle est que les animaux sont chroniquement instrumentés et étudiés à l'état éveillé, à l'inverse des modèles murins, dans lesquels les animaux nécessitent d'être sédatisés voire anesthésiés, ce qui modifie la fonction ventriculaire gauche (484).

## **IX. SUBSTANCES UTILISEES**

Les substances utilisées dans ce travail étaient, par ordre alphabétique, l'amoxicilline (Clamoxyl<sup>®</sup>, Pfizer Santé Animale, Borgo San Michelle, Italie), l'angiotensine II (Angiotensin II, Human, Calbiochem<sup>®</sup>, La Jolla, Etats-Unis d'Amérique), l'azapérone (Stresnil<sup>®</sup>, Janssen Santé Animale, Issy-les-Moulineaux, France), le butorphanol (Dolorex<sup>®</sup>, MSD Santé Animale Lynx, Bruxelles, Belgique), le diazepam (Valium<sup>®</sup>, Roche, Neuilly-Sur-Seine, France), la dobutamine (Panpharma, Fougères, France), l'enrofloxacin (Baytril<sup>®</sup>, Bayer, Puteaux, France), le fentanyl (Durogésic patch<sup>®</sup>, Janssen-Cilag, Beerse, Belgique), l'héparine sodique (Héparine Choay<sup>®</sup>, Sanofi Aventis, Paris, France), l'isoflurane (Isoflurane Belamont<sup>®</sup>, Nicholas Belamont, London, Royaume-Unis), l'ivabradine (Ivabradine chlorhydrate<sup>®</sup>, Servier, Suresnes, France), la kétamine (Imalgène 1000<sup>®</sup>, Merial, Lyon, France), le chlorhydrate de morphine (Morphine<sup>®</sup>, Renaudin, Ixassou, France), le pentobarbital sodique (Pentobarbital Sodique<sup>®</sup>, Ceva Santé Animale, Libourne, France), le bromure de vécuronium (Norcuron<sup>®</sup>, MSD, Courbevoie, France).

## X. ANALYSES STATISTIQUES

Les variables étaient exprimés en moyenne  $\pm$  SEM. Les comparaisons étaient réalisées en utilisant une analyse de variance à un ou deux facteurs avec mesures répétées à la recherche d'un effet temps, d'un effet « substance étudiée » ou d'une interaction entre ces deux facteurs. Les comparaisons individuelles entre J0 et J28 étaient réalisées à l'aide d'un test *t* pairé de Student bilatéral avec correction *post-hoc* de Bonferroni. Des régressions linéaires étaient réalisées entre les différentes variables hémodynamiques et échocardiographiques et les corrélations entre ces différentes variables étaient testées à l'aide du coefficient de corrélation de Pearson. Les comparaisons individuelles entre les animaux traités par angiotensine II et les animaux contrôles pour l'analyse cellulaire étaient réalisées à l'aide d'un test *t* de Student bilatéral non pairé. La pente des courbes doses-réponses au calcium étaient quantifiées en appliquant le facteur de pente (Hill slope). L'analyse statistique était réalisée à l'aide de la version 6.0 du logiciel Prism (GraphPad Software, La Jolla, Californie, Etats-Unis d'Amérique). Le seuil de significativité était fixé à  $p < 0,05$ .

# CHAPITRE VI. MODULATION PHARMACOLOGIQUE DE LA FONCTION VENTRICULAIRE GAUCHE AU COURS DE L'HYPERTENSION ARTERIELLE CHRONIQUE

*Ce travail a fait l'objet de la publication suivante :*

***Ivabradine improves left ventricular function during chronic hypertension in conscious pigs***

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

*Hypertension 2015;65(1):122-9*

## I. Contexte et objectifs

Dans un cœur sain, toute tachycardie s'accompagne d'une réduction de la durée des phases de contraction et de relaxation isovolumique afin de favoriser l'éjection et le remplissage ventriculaire, alors même que la durée du cycle cardiaque est raccourcie (485, 486).

Lors de la première étude menée avec notre modèle expérimental, le laboratoire d'accueil a montré que l'administration d'angiotensine II pendant 28 jours induisait une hypertension artérielle chronique, une hypertrophie ventriculaire gauche et une dysfonction ventriculaire gauche (449). Cette dernière se caractérisait par une altération des capacités d'adaptation des phases de contraction et de relaxation isovolumiques à la tachycardie observée à J28, réduisant *de facto* le temps imparti à l'éjection et au remplissage ventriculaire. De surcroît, ce phénomène d'inadaptation des temps d'isovolumie était exacerbé lors d'une stimulation chronotrope et inotrope par la dobutamine.

En cas d'hypertrophie ventriculaire gauche, la dysfonction ventriculaire gauche observée résulte, en partie, d'une ischémie myocardique (487-489) et pourrait de ce fait être aggravée par la tachycardie. Dès lors, il nous est apparu intéressant d'évaluer les effets d'une réduction de la fréquence cardiaque sur la dysfonction ventriculaire gauche dans nos conditions expérimentales. A cet effet, nous avons utilisé l'ivabradine, un inhibiteur sélectif des canaux  $I_f$ . En réduisant la pente de dépolarisation diastolique au niveau des cellules pacemaker du nœud sinusal, l'ivabradine n'exerce qu'un effet chronotrope négatif et n'a, à la différence des  $\beta$ -bloquants, pas d'effet sur l'inotropie, la circulation coronaire et la relaxation ventriculaire gauche (370-374). Ainsi, la réduction de la fréquence cardiaque pourrait permettre de restaurer un équilibre physiologique entre les différentes phases du cycle cardiaque en normalisant les durées de contraction et de relaxation isovolumique. Dès lors, le temps imparti au remplissage ventriculaire augmenterait (490, 491), le remplissage ventriculaire s'en trouverait facilité et la réduction de la fréquence cardiaque pourrait alors s'accompagner d'une diminution de l'ischémie myocardique (492, 493) et d'une amélioration du couplage ventriculo-artériel (375, 494, 495). Enfin, en contrôlant la fréquence cardiaque par un entraînement électrosystolique à 150 batt/min, nous avons cherché à vérifier si les effets observés étaient uniquement liés à la réduction de la fréquence cardiaque induite par l'ivabradine.

## II. Protocole expérimental

Nous avons utilisé notre modèle de porcs chroniquement instrumentés et étudiés à l'état éveillé. Le protocole expérimental est résumé dans la figure 24.

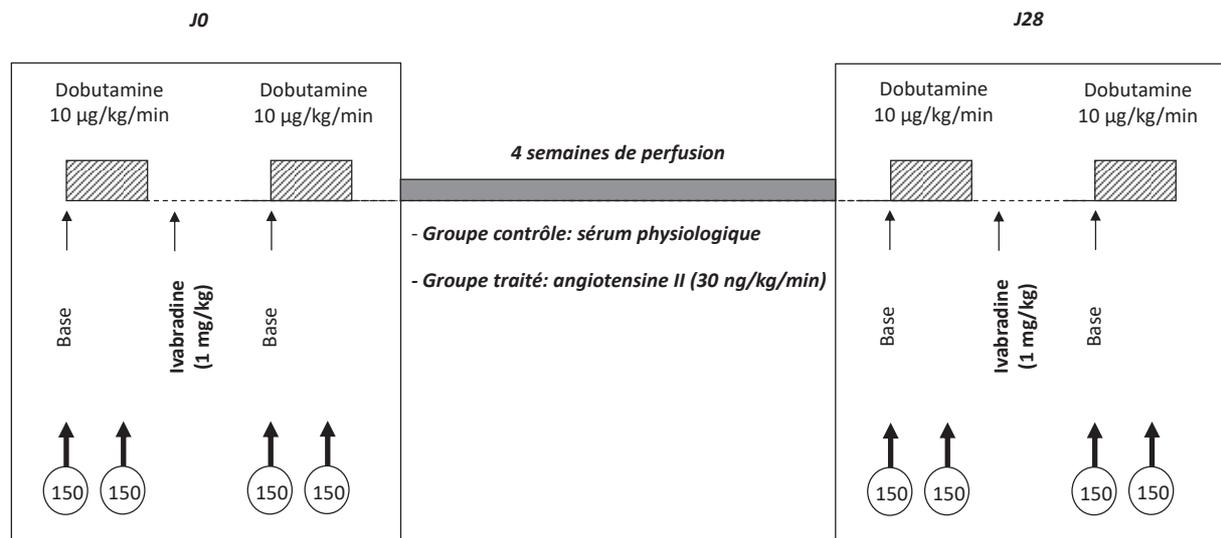


Figure 24. Protocole expérimental.

A l'état de base (J0), chez tous les animaux, les paramètres d'hémodynamique générale, ceux caractérisant la fonction ventriculaire gauche et les dimensions ventriculaires gauches étaient recueillis au repos et lors d'un entraînement électrosystolique à 150 batt/min, avant et 5 min après le début de l'administration de dobutamine (10 µg/kg/min). Les mêmes mesures étaient renouvelées 20 min après l'administration d'ivabradine (1 mg/kg administré en 5 min).

Puis, 11 animaux recevaient une administration continue d'angiotensine II pendant 28 jours, pour induire une hypertension artérielle chronique et une hypertrophie ventriculaire gauche. Chez 8 autres animaux constituant le groupe contrôle, du sérum physiologique était administré à la place de l'angiotensine II exactement selon les mêmes modalités.

A J28, tous les enregistrements étaient réalisés 60 minutes après l'arrêt de la perfusion d'angiotensine II ou de sérum physiologique, afin de pouvoir évaluer les performances ventriculaires gauches intrinsèques, en minimisant l'effet sur le ventricule gauche des modifications des conditions de charge. Les mêmes enregistrements qu'à J0 étaient alors réalisés.

### III. Principaux résultats

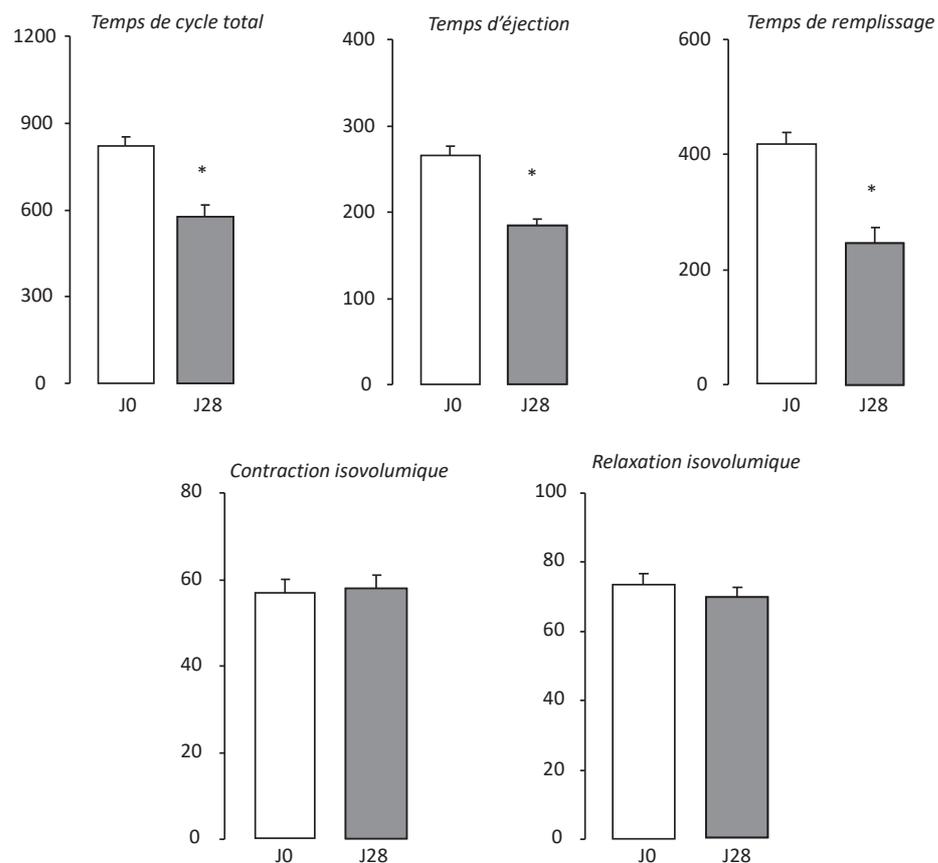
#### A. Effets de l'hypertension artérielle chronique sur la fonction ventriculaire gauche

Après 28 jours d'administration d'angiotensine II, la fréquence cardiaque augmentait significativement de 47%, sans modifier la pression artérielle moyenne et la pression ventriculaire gauche maximale. L'administration de sérum physiologique n'induisait aucune modification de ces paramètres (Tableau 6).

Paramètres	n	J0	J28
		Base	Base
<i>Fréquence cardiaque (bpm)</i>			
Contrôles	8	78 ± 2	79 ± 3
Angiotensine II	11	76 ± 2	112 ± 8*
<i>Pression artérielle moyenne (mmHg)</i>			
Contrôles	8	104 ± 3	106 ± 3
Angiotensine II	11	106 ± 2	109 ± 4
<i>Pression ventriculaire gauche maximale (mmHg)</i>			
Contrôles	8	128 ± 3	126 ± 3
Angiotensine II	11	128 ± 3	129 ± 6
<i>Épaisseur pariétale télédiastolique VG (mm)</i>			
Contrôles	8	7,2 ± 0,3	7,2 ± 0,7
Angiotensine II	11	8,4 ± 0,3	11,7 ± 0,7*
<i>Diamètre interne télédiastolique VG (mm)</i>			
Contrôles	8	39,5 ± 2,0	42,8 ± 3,7
Angiotensine II	11	38,4 ± 1,0	38,8 ± 1,1*
<i>dP/dt<sub>max</sub> (mmHg/s)</i>			
Contrôles	8	2189 ± 49	2682 ± 332
Angiotensine II	11	2147 ± 102	2866 ± 266*
<i>Débit cardiaque (L/min)</i>			
Contrôles	8	1,9 ± 0,1	2,8 ± 0,2
Angiotensine II	11	2,3 ± 0,4	2,7 ± 0,4

**Tableau 6.** Paramètres hémodynamiques à J0 et J28 chez les animaux traités par angiotensine II et chez les animaux contrôles. Les variables sont exprimées en moyenne ± s.e.m. \*, p<0,05 vs. J0. VG : ventricule gauche

La tachycardie observée à J28 chez les animaux recevant l'angiotensine II s'accompagnait d'une diminution des temps d'éjection et de remplissage. Paradoxalement, les temps de contraction et de relaxation isovolumiques étaient inchangés (Figure 25). Ainsi, le temps dévolu, au sein de chaque cycle cardiaque, à la contraction et à la relaxation isovolumique augmentait respectivement de 43% et 29%. Aucune modification des temps des différentes phases du cycle cardiaque n'était observé dans le groupe contrôle.



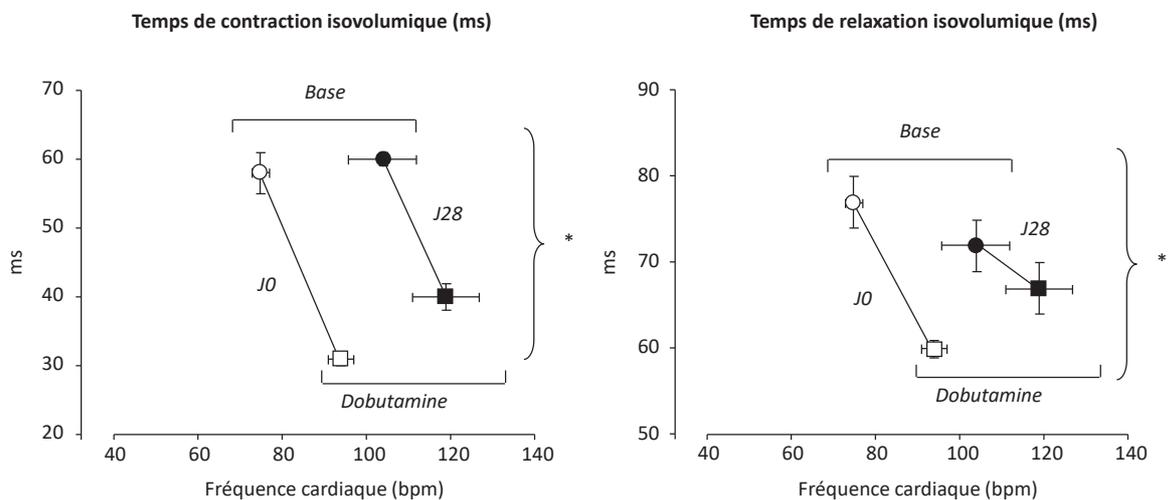
**Figure 25.** Valeurs des différents temps du cycle cardiaque (en ms) à J0 et après 28 jours d'administration d'angiotensine II. \*,  $p < 0,05$  vs. J0.

## B. Anomalies de réponse à la dobutamine

L'administration de dobutamine induisait chez tous les animaux une augmentation significative et similaire de la fréquence cardiaque et de l'inotropie comme en attestait l'augmentation de la  $dp/dt_{max}$ , à J0 et J28.

A J0, la tachycardie induite par l'administration de dobutamine s'accompagnait d'une diminution significative des temps de contraction et de relaxation isovolumique (Figure 26). A J28, les

capacités d'adaptation des phases de contraction et de relaxation isovolumiques à la tachycardie étaient altérées chez animaux traités par angiotensine II (Figure 26) mais conservées dans le groupe contrôle.



**Figure 26.** Effets de la dobutamine sur la relation entre les temps de contraction (à gauche) et de relaxation (à droite) isovolumiques et la fréquence cardiaque à J0 (symboles vides) et après 28 jours d'administration d'angiotensine II (symboles noirs). \*,  $p < 0,05$  vs. J0.

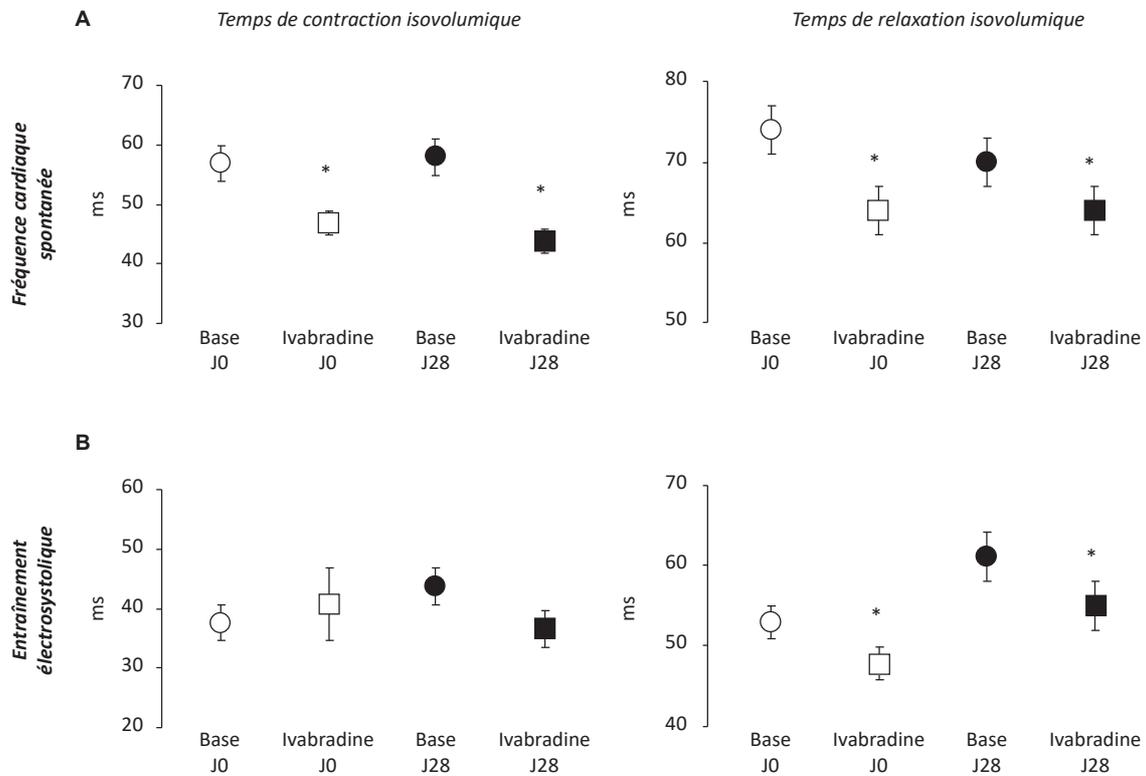
### C. Effets de l'ivabradine sur la fonction ventriculaire gauche

Chez les animaux recevant de l'angiotensine II, l'administration d'ivabradine induisait une diminution significative de la fréquence cardiaque de 22% à J0 et de 27% à J28 sans modifier les paramètres de fonction systolique. Ceci s'accompagnait d'une augmentation du diamètre télédiastolique ventriculaire gauche ( $39,7 \pm 1,0$  vs.  $38,4 \pm 1,0$  mm à J0 et  $40,9 \pm 1,4$  vs.  $38,8 \pm 1,1$  mm à J28,  $p < 0,05$ ). Une réponse similaire était observé dans le groupe contrôle.

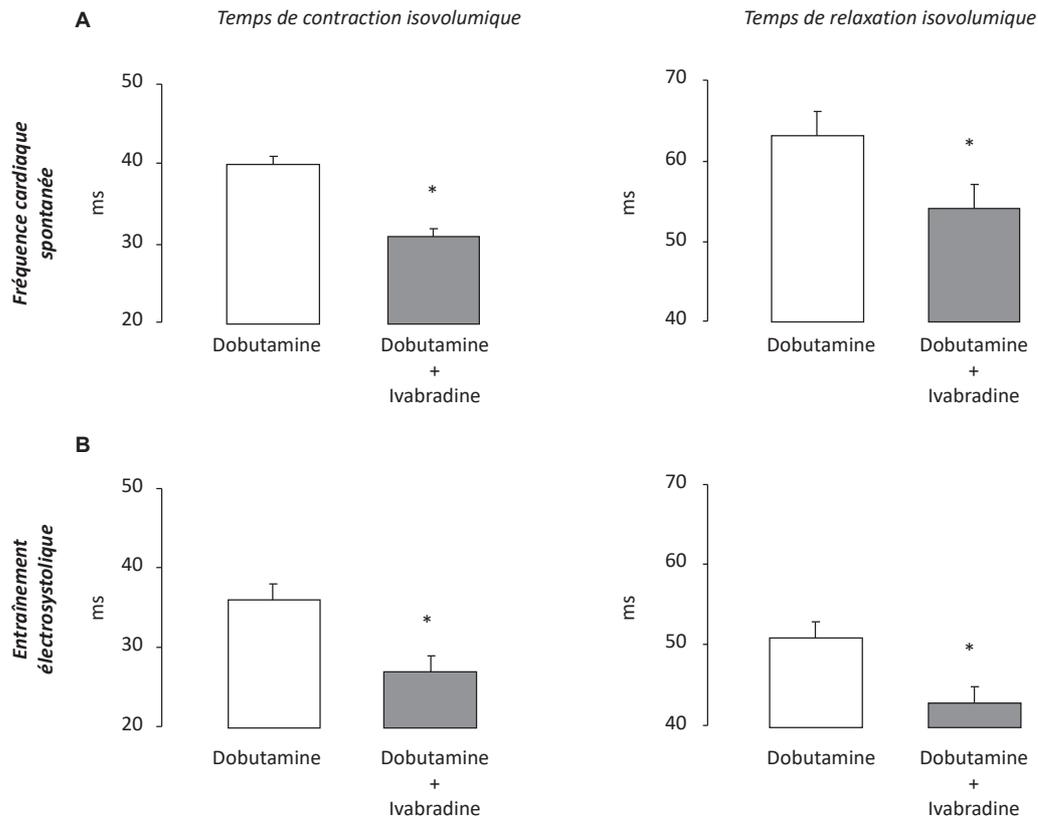
A J0 et J28, l'administration d'ivabradine s'accompagnait chez tous les animaux d'une augmentation significative du temps de cycle total sans modification du temps d'éjection. De façon concomitante, les temps de contraction et de relaxation isovolumiques étaient diminués et il en résultait une augmentation du temps de remplissage (Tableau 7, Figure 27, panneau A). Lors de l'administration de dobutamine, l'ivabradine permettait également une diminution des temps de contraction et de relaxation isovolumiques (Figure 28, panneau A).

Paramètres	n	J0		J28	
		Base	Ivabradine	Base	Ivabradine
<i>Temps de cycle total (ms)</i>					
Contrôles	8	811 ± 43	984 ± 43*	773 ± 23	980 ± 55*
Angiotensine II	11	818 ± 29	1059 ± 38*	573 ± 40†	763 ± 32*†
<i>Temps de contraction isovolumique (ms)</i>					
Contrôles	8	52 ± 2	42 ± 2*	52 ± 2	42 ± 3*
Angiotensine II	11	57 ± 3	47 ± 2*	58 ± 3	44 ± 2*
<i>Temps d'éjection (ms)</i>					
Contrôles	8	264 ± 9	261 ± 8	258 ± 7	253 ± 13
Angiotensine II	11	269 ± 11	269 ± 7	186 ± 8†	207 ± 6†
<i>Temps de relaxation isovolumique (ms)</i>					
Contrôles	8	70 ± 3	62 ± 4*	71 ± 3	62 ± 5*
Angiotensine II	11	74 ± 3	64 ± 3*	70 ± 3	64 ± 3*
<i>Temps de remplissage (ms)</i>					
Contrôles	8	425 ± 32	620 ± 40*	393 ± 16	624 ± 38*
Angiotensine II	11	418 ± 21	680 ± 32*	248 ± 27†	447 ± 24*†

**Tableau 7.** Mesure des différents temps du cycle cardiaque à J0 et J28 avant et après administration d'ivabradine chez les animaux traités par angiotensine II et chez les animaux contrôles. Les variables sont exprimées en moyenne ± s.e.m. \*, p<0,05 vs. valeurs basales correspondantes. †, p<0,05 vs. valeurs à J0 correspondantes.



**Figure 27.** Effets de l'ivabradine sur les temps de contraction (à gauche) et de relaxation (à droite) isovolumiques à J0 (symboles vides) et après 28 jours d'administration d'angiotensine II (symboles noirs). Panneau A: sans entraînement électrosystolique. Panneau B: lors d'un entraînement électrosystolique. \*, p<0,05 vs. base correspondante.



**Figure 28.** Effets de la dobutamine et de l'association dobutamine + ivabradine sur les temps de contraction (à gauche) et de relaxation (à droite) isovolumiques après 28 jours d'administration d'angiotensine II. Panneau A: sans entraînement électrosystolique. Panneau B: lors d'un entraînement électrosystolique. \*,  $p < 0,05$  vs. dobutamine.

## D. Effets pleiotropes de l'ivabradine

Nous avons enfin examiné si les effets de l'ivabradine sur les temps de contraction et de relaxation isovolumiques n'étaient liés qu'à la diminution de la fréquence cardiaque. Pour ce faire, nous avons également étudié les effets de l'ivabradine sur les temps d'isovolumie lors d'un entraînement électrosystolique à 150 batt/min chez les animaux recevant l'angiotensine II.

Dans ces conditions, l'administration d'ivabradine n'induisait plus de diminution du temps de contraction isovolumique tant à J0 qu'à J28 mais s'accompagnait toujours d'une diminution du temps de relaxation isovolumique (Figure 27, panneau B), suggérant, que les effets de l'ivabradine sur la contraction isovolumique étaient fréquence-dépendants et que les effets de l'ivabradine sur la relaxation isovolumique étaient fréquence-indépendants. De même, lors de l'administration de dobutamine, l'ivabradine permettait une diminution des temps de contraction et de relaxation

isovolumiques en présence d'un entraînement électrosystolique à 150 batt/min (Figure 28, panneau B), suggérant, à nouveau, des effets fréquence-indépendants de l'ivabradine.

## IV. Commentaires

Après quatre semaines d'hypertension artérielle chronique induite par la perfusion d'angiotensine II, nous avons objectivé une inadaptation de la contraction et de la relaxation isovolumiques qui restaient anormalement prolongés alors que la fréquence cardiaque augmentait. Le temps de remplissage s'en trouvait anormalement réduit, témoignant d'une dysfonction diastolique.

La réduction de la fréquence cardiaque par l'administration d'ivabradine, un inhibiteur sélectif des canaux  $I_f$ , permettait de corriger ces anomalies de la fonction ventriculaire gauche, en diminuant significativement les temps de contraction et de relaxation isovolumiques. Ceci permettait secondairement d'augmenter le temps dévolu au remplissage du ventricule gauche. Les effets bénéfiques de l'ivabradine sur la contraction isovolumique étaient fréquence-dépendants. A *contrario*, les effets bénéfiques de l'ivabradine sur la relaxation isovolumique semblaient être liés, du moins en partie, à des effets pleiotropes de l'ivabradine, indépendants de la fréquence cardiaque, comme en atteste leur persistance lors d'un entraînement électrosystolique à 150 batt/min.

Enfin au cours d'une stimulation chronotrope et inotrope par la dobutamine, l'ivabradine permettait également de réduire la fréquence cardiaque, de normaliser les temps de contraction et de relaxation isovolumiques, et ainsi d'augmenter le temps dévolu au remplissage ventriculaire gauche. Ces effets bénéfiques sur les temps des différentes phases du cycle cardiaque semblaient également être liés à des effets pleiotropes de l'ivabradine, indépendants de la fréquence cardiaque.

Ainsi, la réduction de la fréquence cardiaque semble être un facteur important pour améliorer la fonction ventriculaire gauche en cas d'hypertension artérielle chronique et d'hypertrophie ventriculaire gauche. L'obtention d'une meilleure adaptation des durées de contraction et de relaxation isovolumiques permet de préserver l'éjection et de favoriser le remplissage du ventricule gauche. L'effet bénéfique de l'ivabradine semble être médié par des effets tant fréquence-dépendants que fréquence-indépendants.

# CHAPITRE VII. MODULATION PHARMACOLOGIQUE PAR L'IVABRADINE DU REMPLISSAGE VENTRICULAIRE GAUCHE AU COURS DE L'HYPERTENSION ARTERIELLE CHRONIQUE ET ROLE DU COUPLAGE CONTRACTION-RELAXATION

*Ce travail a fait l'objet de la publication suivante :*

***Improvement of left ventricular filling by ivabradine during chronic hypertension:  
involvement of contraction-relaxation coupling***

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

*Basic Res Cardiol 2016;111(3):30*

## I. Contexte et objectifs

Le remplissage ventriculaire gauche se divise en trois phases dont une phase précoce qui débute à l'ouverture de la valve mitrale qui marque la fin de la relaxation isovolumique ainsi qu'une phase tardive, liée à la systole auriculaire (496, 497). Le remplissage précoce est médié par le gradient de pression entre l'oreillette et le ventricule gauches. La phase active du remplissage précoce débute alors même que le ventricule gauche poursuit sa relaxation et se termine lorsque la pression ventriculaire gauche atteint sa valeur minimale (498, 499). Ainsi, le principal déterminant de cette phase active est la relaxation ventriculaire gauche. En cas de tachycardie, la préservation du remplissage précoce alors même que le temps dévolu au remplissage ventriculaire diminue, résulte d'une accélération de la relaxation ventriculaire (299, 500).

L'hypertension artérielle chronique et l'hypertrophie ventriculaire gauche induisent une altération de la relaxation ventriculaire gauche, à l'origine d'une diminution du remplissage ventriculaire précoce, compensée par une augmentation du remplissage tardif liée à la systole auriculaire (501-503). Ainsi, toute augmentation de la fréquence cardiaque dans ce contexte se traduit par une aggravation de la dysfonction diastolique ventriculaire gauche, avec une altération majorée de la relaxation et *in fine* du remplissage ventriculaire (504). A ce titre et dans la continuité du chapitre précédant montrant l'effet bénéfique de l'ivabradine sur les périodes de contraction et relaxation isovolumiques, il pourrait être intéressant de réduire la fréquence cardiaque en cas d'hypertension artérielle chronique et d'hypertrophie ventriculaire gauche pour réduire les troubles du remplissage ventriculaire gauche qui en résultent.

Ainsi les objectifs de ce travail étaient les suivants. Premièrement, caractériser les effets de l'ivabradine sur le remplissage ventriculaire au cours de l'hypertension artérielle chronique. Secondairement, en lien avec le couplage contraction-relaxation, déterminer le potentiel lien des anomalies de la contraction isovolumique avec ceux du remplissage ventriculaire. Enfin, en contrôlant la fréquence cardiaque par un entraînement électrosystolique à 150 batt/min, nous avons cherché à vérifier si les effets observés étaient uniquement liés à la réduction de la fréquence cardiaque induite par l'ivabradine.

## **II. Protocole expérimental**

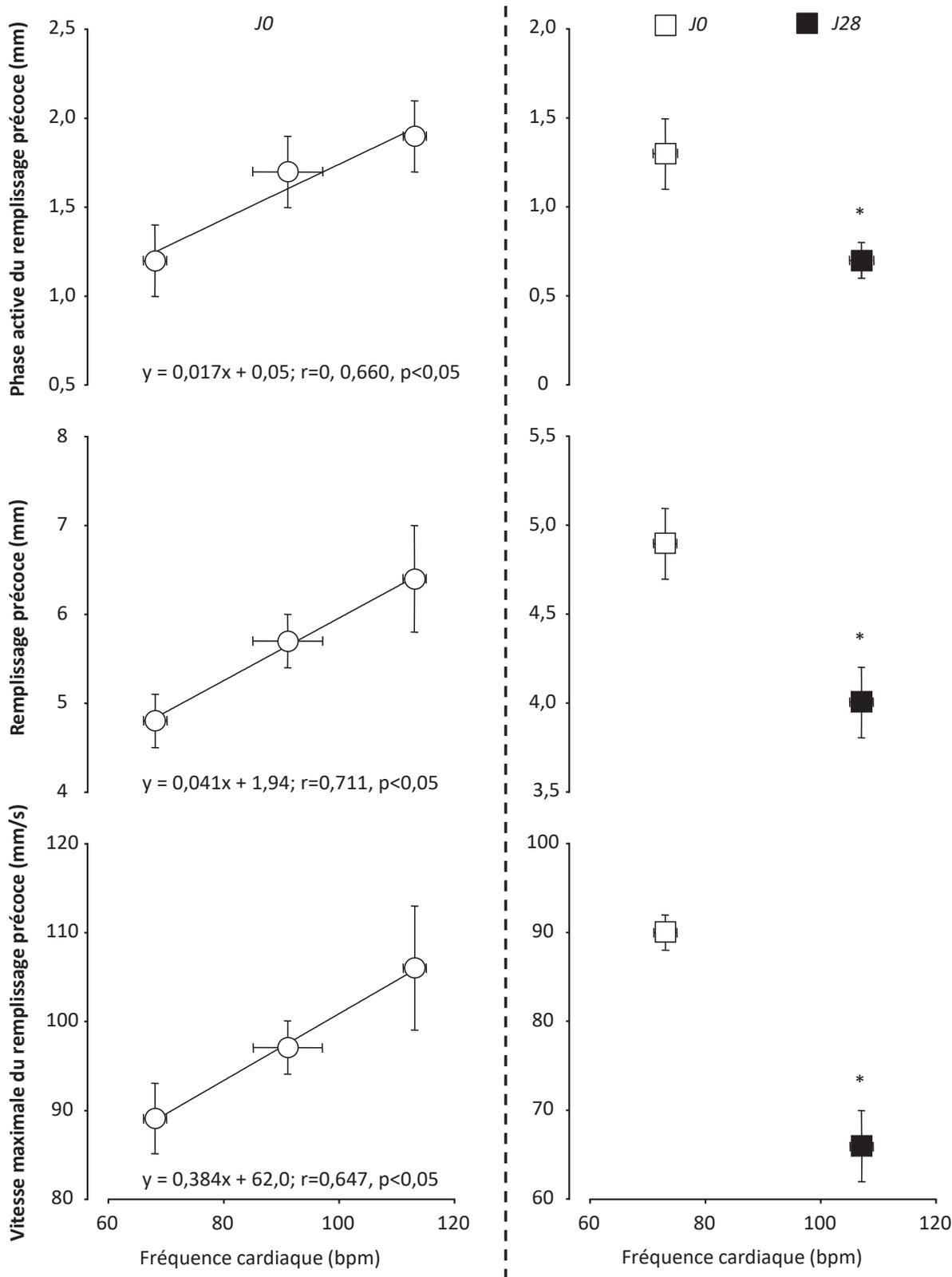
Nous avons utilisé notre modèle de porcs chroniquement instrumentés et étudiés à l'état éveillé. Le protocole expérimental était le même que celui décrit dans le chapitre précédent, à savoir une première phase d'évaluation hémodynamique en présence et l'absence d'ivabradine (modulée ou non par un entraînement électrosystolique) suivie d'une deuxième phase de perfusion continue d'angiotensine II pendant 28 jours au terme desquels toutes les investigations menées à J0 étaient réitérées en l'absence d'angiotensine II.

## **III. Principaux résultats**

### **A. Effets de l'hypertension artérielle chronique sur le remplissage ventriculaire gauche**

A J0, avant toute administration d'angiotensine II, l'augmentation de la fréquence cardiaque était corrélée à une augmentation du remplissage précoce et de sa vitesse maximale ainsi qu'à un accroissement de la phase active du remplissage précoce (figure 29, panneau de gauche), traduisant l'adaptation physiologique attendue en cas de tachycardie.

A J28, le remplissage ventriculaire gauche était altéré comme en témoignait la diminution du remplissage précoce et de sa vitesse maximale ainsi que celle de la phase active du remplissage précoce (Figure 29, panneau de droite). Ceci s'accompagnait d'une augmentation du remplissage tardif lié à la systole auriculaire, illustrée par la diminution du rapport entre les vitesses maximales du remplissage précoce et du remplissage tardif ( $2,5 \pm 0,3$  à J28 vs.  $4,0 \pm 0,3$  à J0,  $p < 0.05$ ).

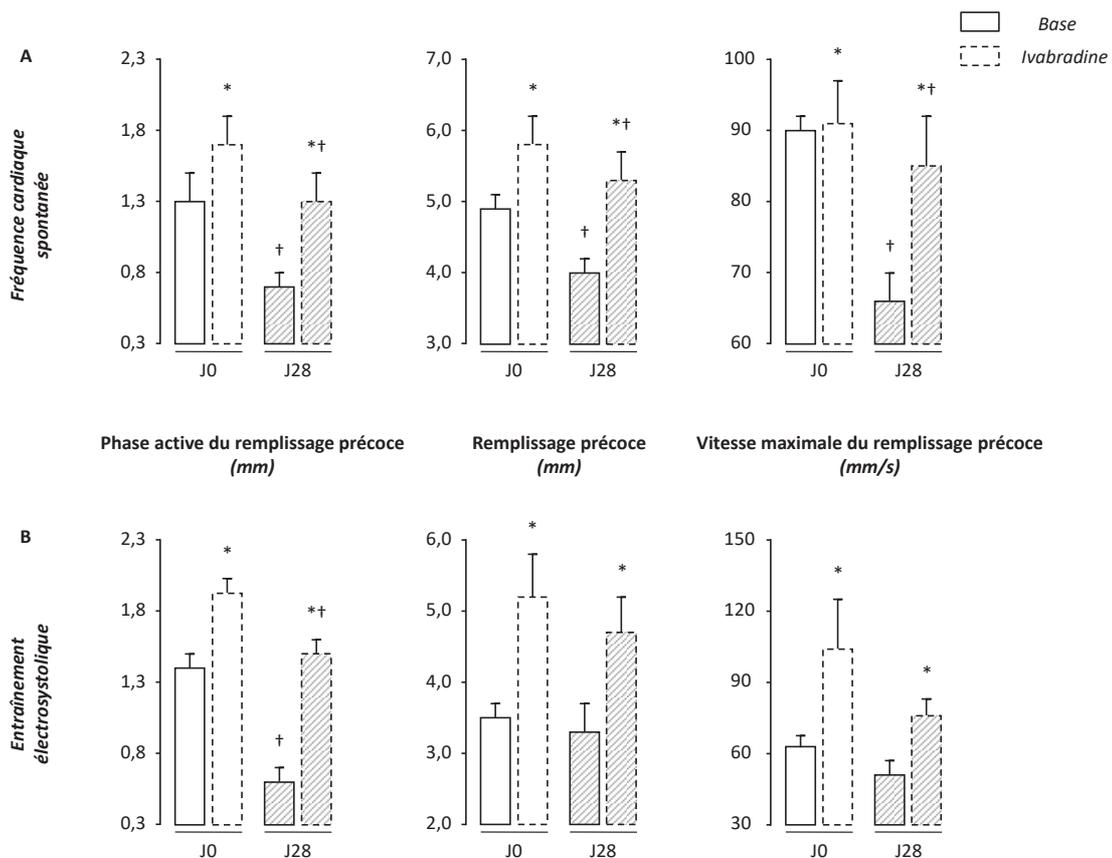


**Figure 29.** Effets des variations physiologiques de la fréquence cardiaque sur le remplissage du ventricule gauche à J0 (Panneau de gauche) et effets de 28 jours d'administration d'angiotensine II (Panneau de droite). \*,  $p<0,05$  vs. J0.

## B. Effets de l'ivabradine sur le remplissage ventriculaire gauche

L'administration d'ivabradine induisait une diminution significative de la fréquence cardiaque de 26% à J0 et à J28. Ceci s'accompagnait à J0 d'une augmentation significative de 18% du remplissage précoce et de 38% de la phase active du remplissage précoce (Figure 30, panneau A).

A J28, l'administration d'ivabradine augmentait significativement le temps dévolu au remplissage ventriculaire ( $462 \pm 38$  ms vs.  $242 \pm 14$  ms,  $p < 0,05$ ), mais aussi le remplissage précoce et sa vitesse maximale, ainsi que la phase active du remplissage précoce (Figure 30, panneau A). De façon intéressante, l'administration d'ivabradine permettait de normaliser les différents paramètres du remplissage ventriculaire en les ré-augmentant au niveau qui étaient les leurs à J0. Cette amélioration du remplissage précoce résultait en une diminution du remplissage tardif lié à la systole auriculaire, illustrée par l'augmentation du rapport entre les vitesses maximales du remplissage précoce et du remplissage tardif ( $4,1 \pm 0,6$  sous ivabradine vs.  $2,5 \pm 0,3$  sans ivabradine,  $p < 0,05$ ). Ainsi, l'administration d'ivabradine permettait de corriger les anomalies du remplissage ventriculaire gauche induites par l'hypertension artérielle chronique et l'hypertrophie ventriculaire gauche.



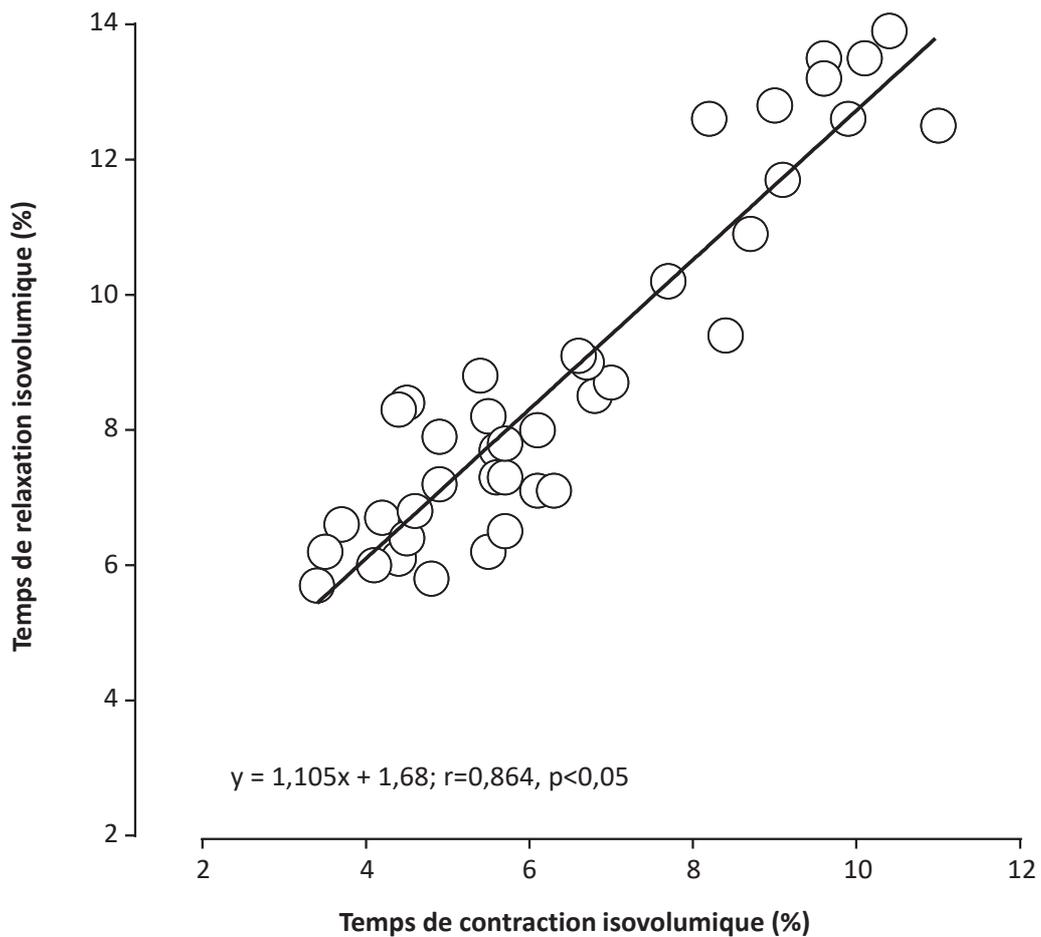
**Figure 30.** Effets de l'ivabradine sur le remplissage du ventricule gauche à J0 et après 28 jours d'administration d'angiotensine II. Panneau A: sans entraînement électrosystolique. Panneau B: lors d'un entraînement électrosystolique. \*,  $p < 0,05$  vs. base correspondante. †,  $p < 0,05$  vs. valeurs à J0 correspondantes.

### **C. Effets pleiotropes de l'ivabradine**

Nous avons examiné si les effets de l'ivabradine sur le remplissage ventriculaire gauche n'étaient liés qu'à la diminution de la fréquence cardiaque. Pour ce faire, nous avons également étudié les effets de l'ivabradine sur le remplissage lors d'un entraînement électrosystolique à 150 batt/min. Dans ces conditions, les effets de l'ivabradine sur le remplissage étaient conservés tant à J0 qu'à J28 (Figure 30, panneau B) suggérant, que les effets de l'ivabradine sur le remplissage étaient fréquence-indépendants.

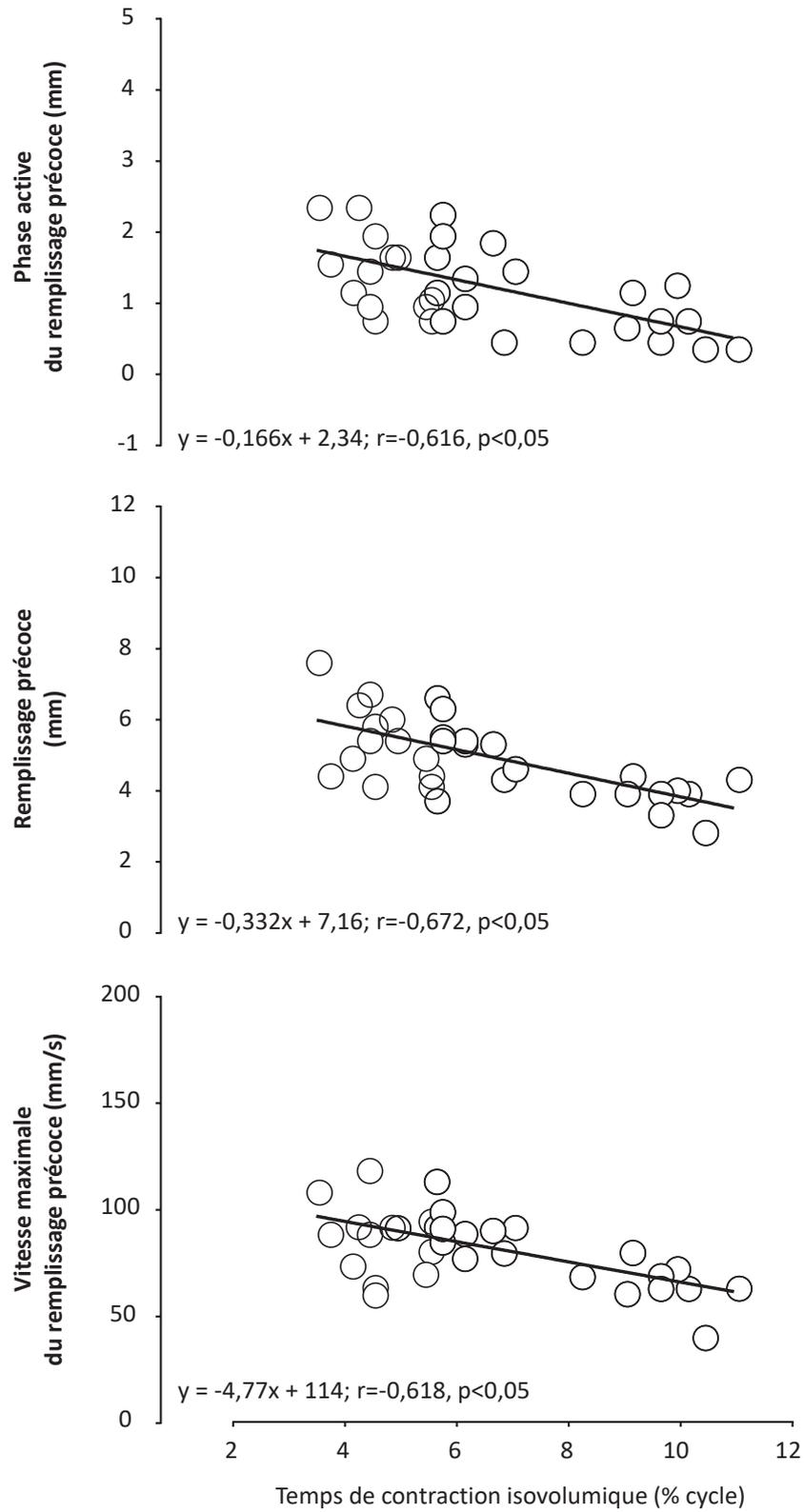
### **D. Couplage contraction-relaxation et remplissage ventriculaire gauche**

A J28, il existait une inadaptation de la relaxation et de la contraction isovolumiques, qui restaient paradoxalement inchangées ( $69 \pm 2$  ms à J28 vs.  $70 \pm 2$  ms à J0 pour la relaxation isovolumique et  $52 \pm 1$  ms à J28 vs.  $53 \pm 2$  ms à J0 pour la contraction isovolumique,  $p=NS$ ) alors que la fréquence cardiaque augmentait significativement ( $108 \pm 6$  batt/min à J28 vs.  $73 \pm 2$  batt/min à J0,  $p < 0,05$ ). L'administration d'ivabradine permettait tant à J0 qu'à J28 de diminuer significativement les temps de contraction et de relaxation isovolumiques. Il existait une corrélation tout au long du protocole expérimental entre la contraction et la relaxation isovolumique, illustrant la préservation du couplage contraction-relaxation (Figure 31).



**Figure 31.** Corrélation entre les temps de contraction et de relaxation isovolumiques tout au long du protocole expérimental. Chaque rond représente un point expérimental à J0 et après 28 jours d'administration d'angiotensine II, avant et après administration d'ivabradine.

Au vu du couplage contraction-relaxation qui existait, nous nous sommes intéressés au retentissement des anomalies de la contraction isovolumique sur le remplissage ventriculaire gauche. A ce titre, le remplissage précoce et sa vitesse maximale, ainsi que la phase active du remplissage précoce étaient tous négativement corrélés à la durée de la contraction isovolumique (Figure 32). Plus la contraction isovolumique durait longtemps, plus le remplissage ventriculaire gauche était altéré. *A contrario* la réduction de la contraction isovolumique induite par l'administration d'ivabradine était associée à l'amélioration du remplissage ventriculaire gauche.



**Figure 32.** Corrélation entre le temps de contraction isovolumique et le remplissage du ventricule gauche tout au long du protocole expérimental. Chaque rond représente un point expérimental à J0 et après 28 jours d'administration d'angiotensine II, avant et après administration d'ivabradine.

## IV. Commentaires

Après quatre semaines d'hypertension artérielle chronique induite par la perfusion d'angiotensine II, nous avons objectivé, alors que la fréquence cardiaque augmentait, une altération du remplissage ventriculaire gauche caractérisée par une diminution du remplissage précoce et de sa vitesse maximale, ainsi que par la diminution de la phase active du remplissage précoce. Ces anomalies du remplissage étaient concomitantes des anomalies de la contraction et de la relaxation isovolumiques déjà décrites dans les travaux précédents.

La réduction de la fréquence cardiaque par l'administration d'ivabradine, un inhibiteur sélectif des canaux  $I_f$ , permettait de corriger tant les anomalies du remplissage ventriculaire que les anomalies de la fonction ventriculaire gauche, en augmentant significativement tous les paramètres du remplissage ventriculaire et en diminuant significativement les temps de contraction et de relaxation isovolumiques. Les effets bénéfiques de l'ivabradine sur le remplissage ventriculaire semblaient être, du moins en partie, fréquence-indépendants, comme en atteste leur persistance lors d'un entraînement électrosystolique à 150 batt/min.

Par ailleurs, si la relaxation joue un rôle crucial dans le remplissage ventriculaire, la fonction ventriculaire systolique, en particulier la contraction isovolumique semble également jouer un rôle essentiel. A notre connaissance, il s'agit de la première étude documentant le rôle du couplage contraction-relaxation et de l'altération de la contraction isovolumique dans les anomalies du remplissage ventriculaire gauche en cas d'hypertension artérielle chronique et d'hypertrophie ventriculaire gauche.

Enfin la réduction de la fréquence cardiaque semble être un facteur important pour améliorer le remplissage ventriculaire en cas d'hypertension artérielle chronique et d'hypertrophie ventriculaire gauche. Plus important, la préservation du couplage contraction-relaxation semble indiquer que des approches pharmacologiques ciblant la contraction cardiaque pourraient, dans ce contexte, améliorer les anomalies du remplissage ventriculaire gauche. A nouveau, l'effet bénéfique de l'ivabradine semble être médié par des effets tant fréquence-dépendants que fréquence-indépendants.

# CHAPITRE VIII. ETUDE DU COUPLAGE CONTRACTION- RELAXATION AU COURS DE L'HYPERTROPHIE VENTRICULAIRE GAUCHE

*Ce travail a fait l'objet de la rédaction du manuscrit suivant :*

***Preserved contraction-relaxation coupling through the ryanodine receptor in the hypertrophied heart***

*Jozwiak M, Meli AC, Melka J, Rienzo M, d'Anglemont de Tassigny A, Saint N, Bizé A, Sambin L, Scheuermann V, Hittinger L, Berdeaux A, Su JB, Lacampagne A, Bouhemad B, Ghaleh B*

*Soumis*

## I. Contexte et objectifs

Dans un cœur sain, l'énergie emmagasinée au cours de la systole est restituée lors de la diastole et contribue à la relaxation et au remplissage précoce du ventricule gauche (61, 135, 505). Si ce couplage contraction-relaxation est bien documenté chez le sujet sain (60, 61, 75-78) et en cas d'ischémie myocardique (191), il n'a jamais été spécifiquement étudié en cas d'hypertension artérielle chronique et d'hypertrophie ventriculaire gauche.

Lors des précédentes études, l'attention avait été portée sur les temps de contraction et de relaxation isovolumiques. Néanmoins, ceux-ci ne sont que des marqueurs temporels de la fonction ventriculaire gauche. Dès lors, il nous est apparu intéressant d'étudier le couplage contraction-relaxation à l'aide de paramètres de fonction ventriculaire intégrant à la fois les dimensions temporelle et mécanique de la contraction et de la relaxation ventriculaire gauche. A cet effet, nous avons étudié le couplage contraction-relaxation en évaluant la torsion et la détorsion du ventricule gauche. Comme décrit dans la partie bibliographique, la torsion et la détorsion du ventricule gauche résultent de l'orientation des fibres myocardiques (9, 34, 35, 62, 63) et représentent respectivement la déformation du ventricule gauche au cours de la systole et de la diastole (12). La torsion débute lors de la contraction isovolumique (65) et a lieu principalement au cours de la phase d'éjection (66). La détorsion a lieu principalement pendant la phase de relaxation isovolumique (26, 60, 61) et contribue grandement au remplissage précoce du ventricule gauche (24, 60, 61). La torsion permet donc au ventricule gauche d'emmagasiner l'énergie, qui est libérée lors de la détorsion et contribue au remplissage précoce ventriculaire gauche.

Ainsi, le premier objectif de ce travail était de caractériser le couplage contraction-relaxation en cas d'hypertension artérielle chronique et d'hypertrophie ventriculaire gauche. Secondairement, nous avons souhaité déterminer les mécanismes cellulaires potentiellement impliqués dans le couplage contraction-relaxation, en s'intéressant tout particulièrement à l'homéostasie calcique, connue pour être altérée en cas d'hypertrophie ventriculaire gauche (243).

## II. Protocole expérimental

L'analyse de la torsion et de la détorsion nécessitent l'utilisation d'un échocardiographe. Nous avons donc utilisé notre modèle de porcs chroniquement instrumentés mais les cristaux piézo-électriques n'ont pas été utilisés, créant des interférences avec la sonde d'échographie cardiaque. Le protocole a été similaire aux précédentes études mais ici les animaux étaient sédatisés. A J0, 9 animaux ont fait l'objet d'un examen échocardiographique et d'un enregistrement simultané de l'hémodynamique à l'aide de l'instrumentation, à l'état de base et après l'administration de dobutamine (10 µg/kg/min). Toutes ces évaluations ont été réitérées 28 jours après, au décours d'une perfusion continue d'angiotensine II de quatre semaines, cette perfusion étant arrêtée 60 minutes avant les évaluations.

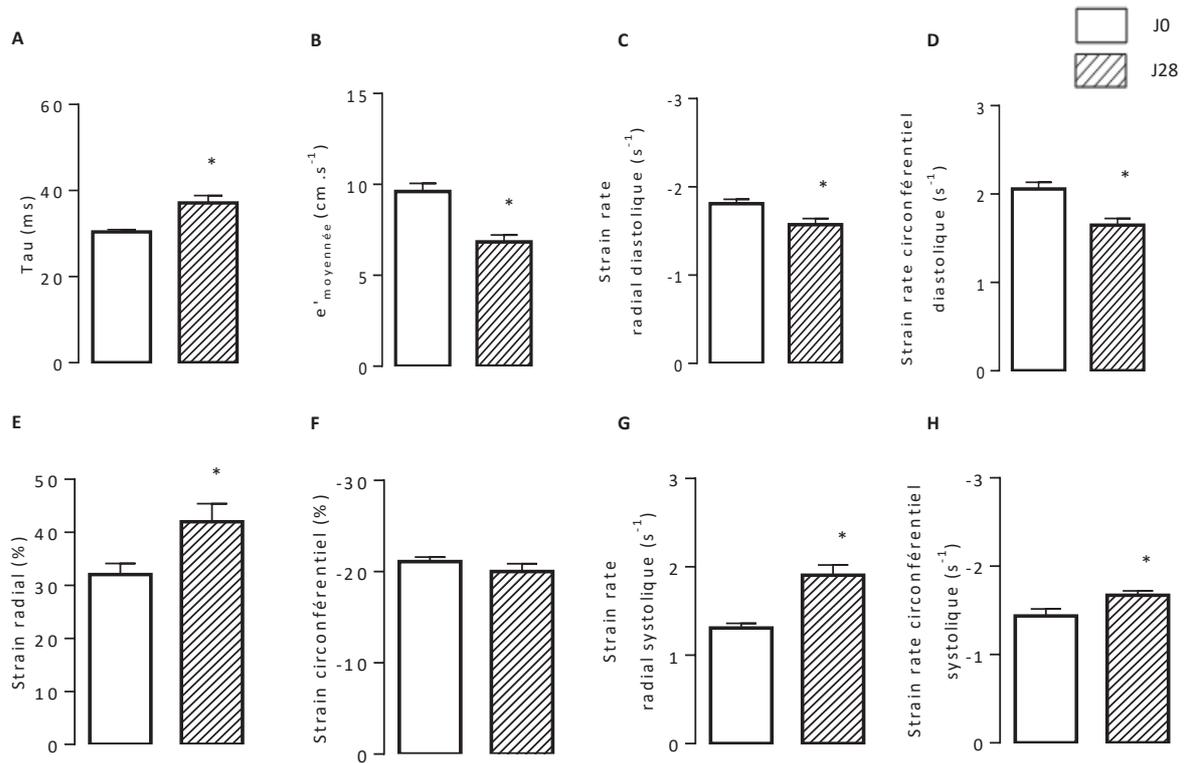
Toutes les analyses biochimiques et cellulaires étaient réalisées chez d'autres animaux dédiés avec une instrumentation chronique minimale. Ces animaux recevaient une administration continue d'angiotensine II ou de sérum physiologique (groupe contrôle) pendant 28 jours.

## III. Principaux résultats

### A. Effets de l'hypertrophie ventriculaire gauche sur la fonction ventriculaire

Après 28 jours d'administration d'angiotensine II, la fréquence cardiaque augmentait significativement de 19% et la pression télédiastolique ventriculaire gauche de 63%, ce qui était également illustré par l'augmentation du rapport E/e' (11±1 à J28 vs. 6±1 à J0, p<0,05).

A J28, il existait une dysfonction diastolique avec une altération de la relaxation ventriculaire gauche et une diminution de la vitesse maximale de l'onde e', ainsi que du *strain rate* diastolique radial et circonférentiel (Figure 33, panneaux A-D). Une dysfonction systolique était également objectivée avec une diminution de la vitesse maximale de l'onde s' (5±1 à J28 vs. 7±1 à J0, p<0,05) et du *strain* radial, alors que le *strain rate* systolique radial et circonférentiel était augmenté (Figure 33, panneau E-H). Cette augmentation du *strain rate* systolique radial et circonférentiel compensait probablement la diminution de la vitesse maximale de l'onde s' et contribuait certainement au fait que la fraction d'éjection ventriculaire gauche était préservée (62±2% à J28 vs. 61±1% à J0, p=NS).



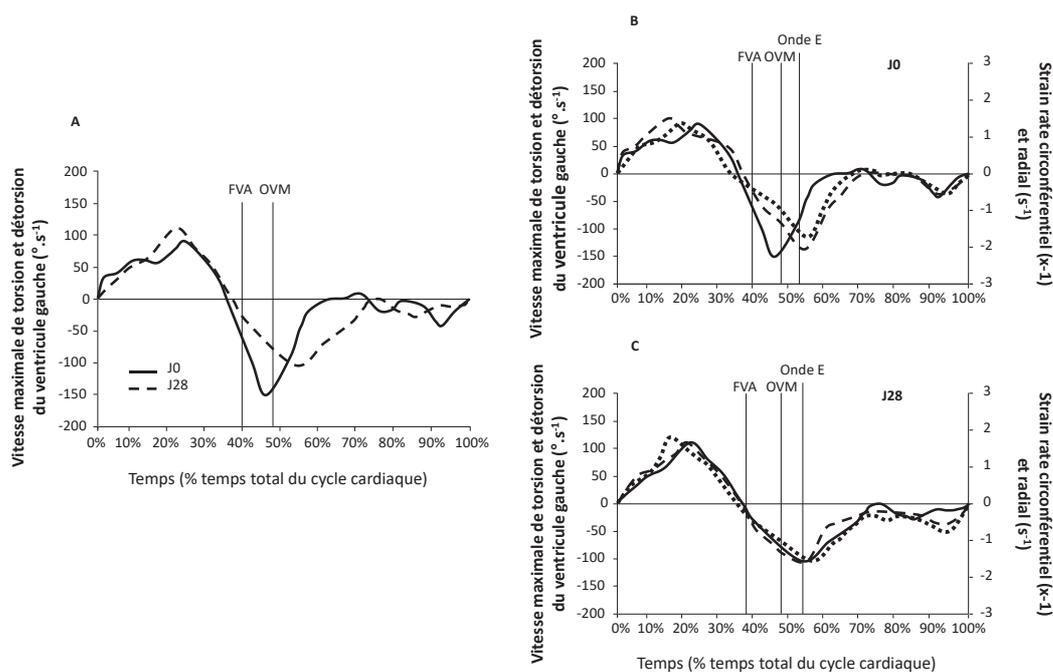
**Figure 33.** Paramètres de fonction diastolique (Panneaux A à D) et systolique (Panneaux E à H) du ventricule gauche à J0 et après 28 jours d'administration d'angiotensine II. \*,  $p < 0,05$  vs. J0.  $e'$ : onde générée par le déplacement diastolique de l'anneau mitral lors de la phase de remplissage précoce du ventricule gauche

## B. Effets de l'hypertrophie ventriculaire gauche sur la torsion et la détorsion

A J28, la torsion et la détorsion du ventricule gauche étaient diminuées de 30% (Tableau 8). La détorsion était également retardée au sein du cycle cardiaque. A J0, la détorsion du ventricule gauche se produisait avant l'ouverture de la valve mitrale. A J28, la détorsion du ventricule gauche se produisait  $48 \pm 12$  ms après l'ouverture de la valve mitrale, lors du remplissage précoce ventriculaire gauche (Figure 34).

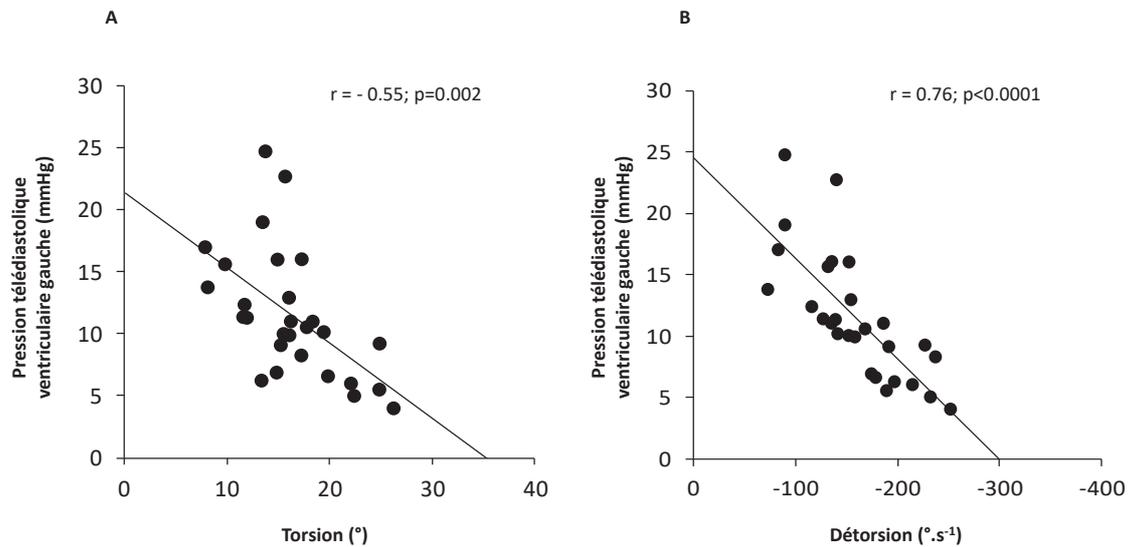
Paramètres	J0	J28
Torsion (°)	16 ± 1	11 ± 1*
Rotation apicale (°)	9 ± 1	7 ± 1*
Rotation basale (°)	-8 ± 0	-5 ± 1*
Détorsion (°.s <sup>-1</sup> )	-152 ± 8	-105 ± 8*

**Tableau 8.** Torsion et ses composantes et détorsion du ventricule gauche à J0 et après 28 jours d'administration d'angiotensine II. n=9, les variables sont exprimées en moyenne ± s.e.m. \*, p<0,05 vs. J0.



**Figure 34.** Caractérisation de la détorsion du ventricule gauche à J0 et après 28 jours d'administration d'angiotensine II. Panneau A: Vitesse maximale de torsion et détorsion du ventricule gauche à J0 (ligne pleine) et après 28 jours d'administration d'angiotensine II (ligne en tirets). Panneau B: Vitesse maximale de torsion et détorsion (ligne pleine), strain rate radial (ligne en pointillés) et strain rate circonférentiel (ligne en tirets) du ventricule gauche à J0. Panneau C: Vitesse maximale de torsion et détorsion (ligne pleine), strain rate radial (ligne en pointillés) et strain rate circonférentiel (ligne en tirets) du ventricule gauche après 28 jours d'administration d'angiotensine II. Le début et la fin du cycle cardiaque représentent respectivement 0% et 100% du temps total du cycle cardiaque. E : onde générée par le remplissage précoce du ventricule gauche. FVA: fermeture de la valve aortique. OVM: ouverture de la valve mitrale.

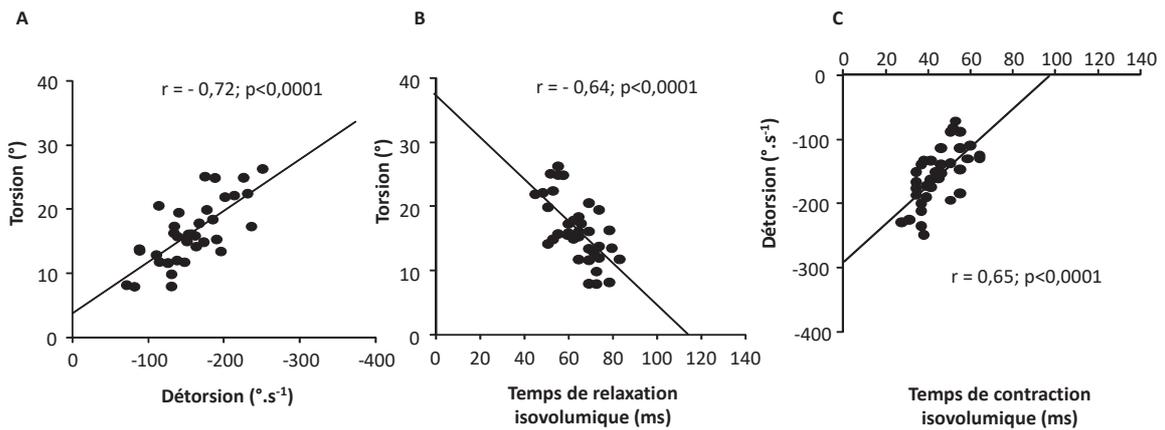
Ces altérations de la torsion et de la détorsion étaient toutes deux étroitement corrélées à la pression télédiastolique ventriculaire gauche, soulignant d'une part l'importance de la torsion et de la détorsion dans la dysfonction diastolique induite, mais également le lien étroit qui existe entre la dysfonction systolique et diastolique ventriculaire gauche (Figure 35).



**Figure 35.** Corrélation entre la pression télédiastolique ventriculaire gauche et la torsion (panneau A) et la détorsion (panneau B) du ventricule gauche. Chaque rond représente un point expérimental à J0 et après 28 jours d'administration d'angiotensine II, avant et après administration de dobutamine.

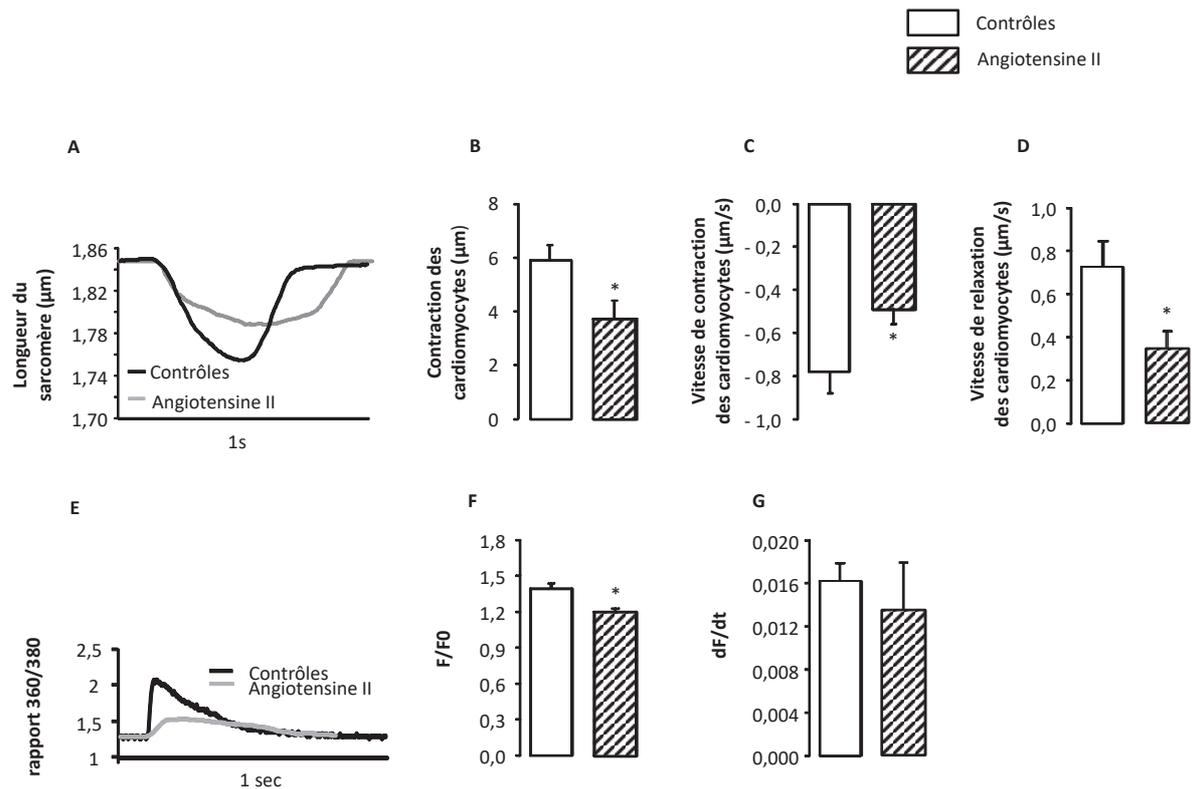
### C. Effets de l'hypertrophie ventriculaire gauche sur le couplage contraction-relaxation

Tout au long du protocole expérimental, il existait une corrélation étroite entre la torsion et la détorsion du ventricule gauche. De plus, la torsion et la détorsion du ventricule gauche étaient également respectivement corrélées à la durée de la relaxation et de la contraction isovolumique (Figure 36). Plus la contraction et la relaxation isovolumique duraient longtemps, plus la torsion et la détorsion du ventricule gauche étaient altérées.



**Figure 36.** Etude du couplage contraction-relaxation. Panneau A: corrélation entre la torsion et la détorsion du ventricule gauche. Panneau B: corrélation entre la torsion et le temps de relaxation isovolumique du ventricule gauche. Panneau C: corrélation entre la détorsion et le temps de contraction isovolumique du ventricule gauche. Chaque rond représente un point expérimental à J0 et après 28 jours d'administration d'angiotensine II, avant et après administration de dobutamine.

Au niveau cellulaire, la contraction ainsi que la vitesse de contraction et de relaxation des cardiomyocytes étaient altérées chez les animaux recevant l'angiotensine II vs. le groupe contrôle. (Figure 37, panneaux A-D). Les vitesses de contraction et de relaxation des sarcomères étaient toutes deux altérées de façon similaire chez les animaux traités par l'angiotensine II, signifiant que le couplage contraction-relaxation était également préservé au niveau cellulaire.

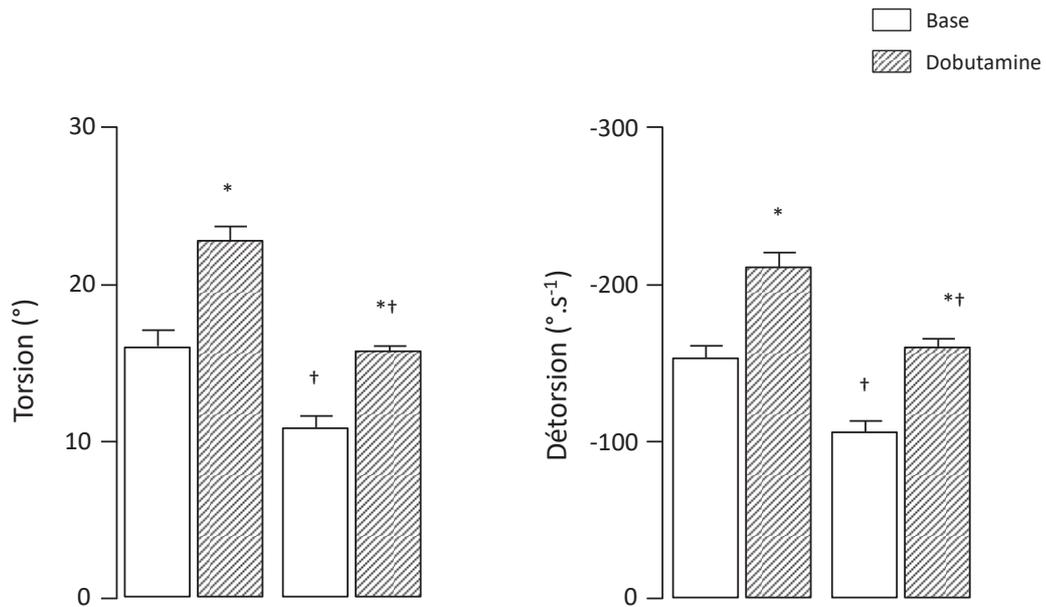


**Figure 37.** Caractérisation de la contraction et de la relaxation des cardiomyocytes (Panneaux A-D) et de l'homéostasie calcique (Panneaux E-G) chez les animaux contrôles et chez les animaux traités par angiotensine II. \*, p<0,05 vs. contrôles.

Ainsi, toutes ces données *in vivo* et *in vitro* illustrent la préservation du couplage contraction-relaxation au cours de l'hypertension artérielle chronique et de l'hypertrophie ventriculaire gauche.

## D. Effets de la dobutamine sur la torsion et la détorsion et le couplage contraction-relaxation

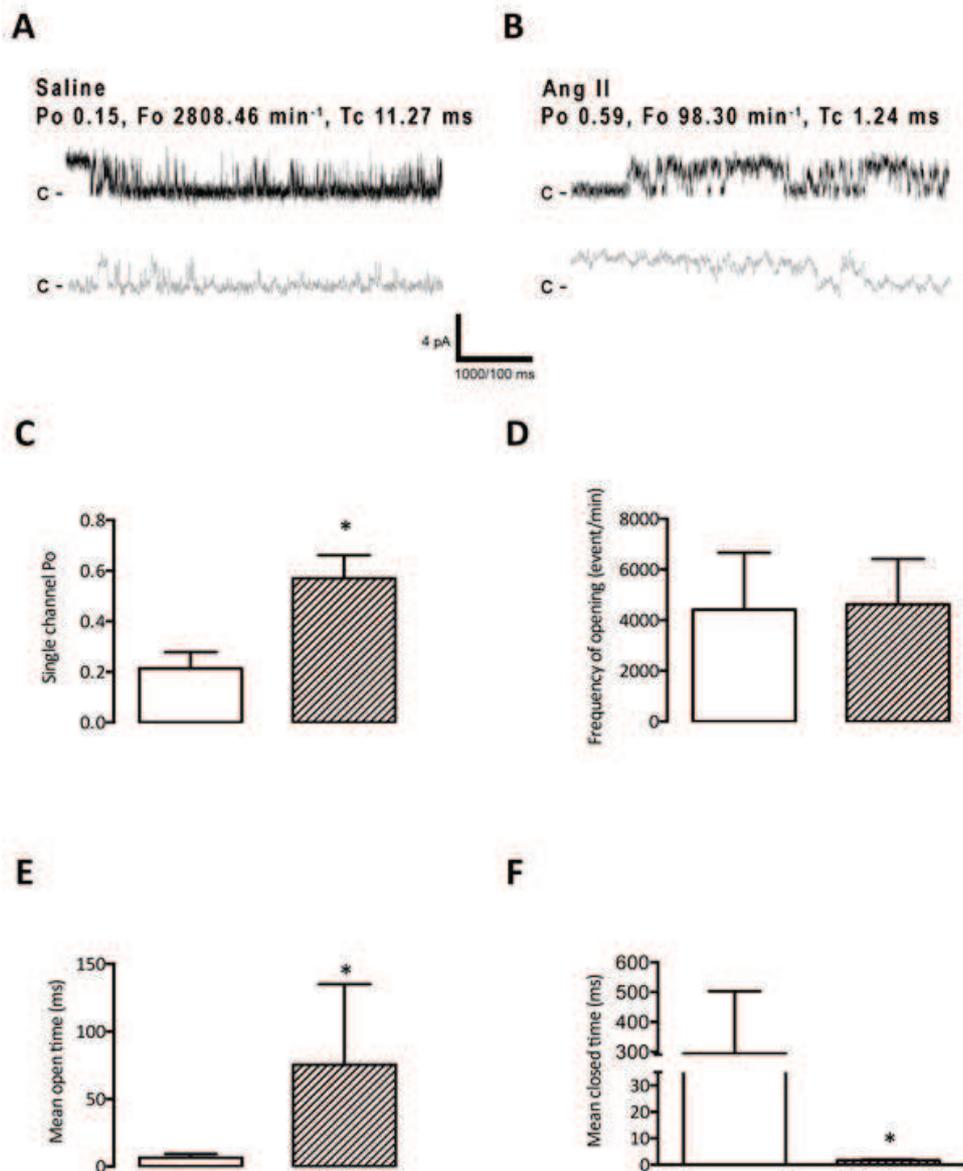
L'administration de dobutamine induisait une augmentation significative et similaire de la torsion et de la détorsion du ventricule gauche à J0 et J28 (Figure 38). Par ailleurs, la valeur absolue du rapport entre la torsion et la détorsion du ventricule gauche était inchangée entre J0 et J28 tant au repos ( $0,109 \pm 0,011$  à J0 vs.  $0,107 \pm 0,011$  à J28, p=NS) que pendant l'administration de dobutamine ( $0,109 \pm 0,007$  à J0 vs.  $0,100 \pm 0,005$  à J28, p=NS). Ainsi, le couplage contraction-relaxation était également préservé non seulement au cours du développement du processus hypertrophique mais également au cours d'une stimulation chronotrope et inotrope par la dobutamine.



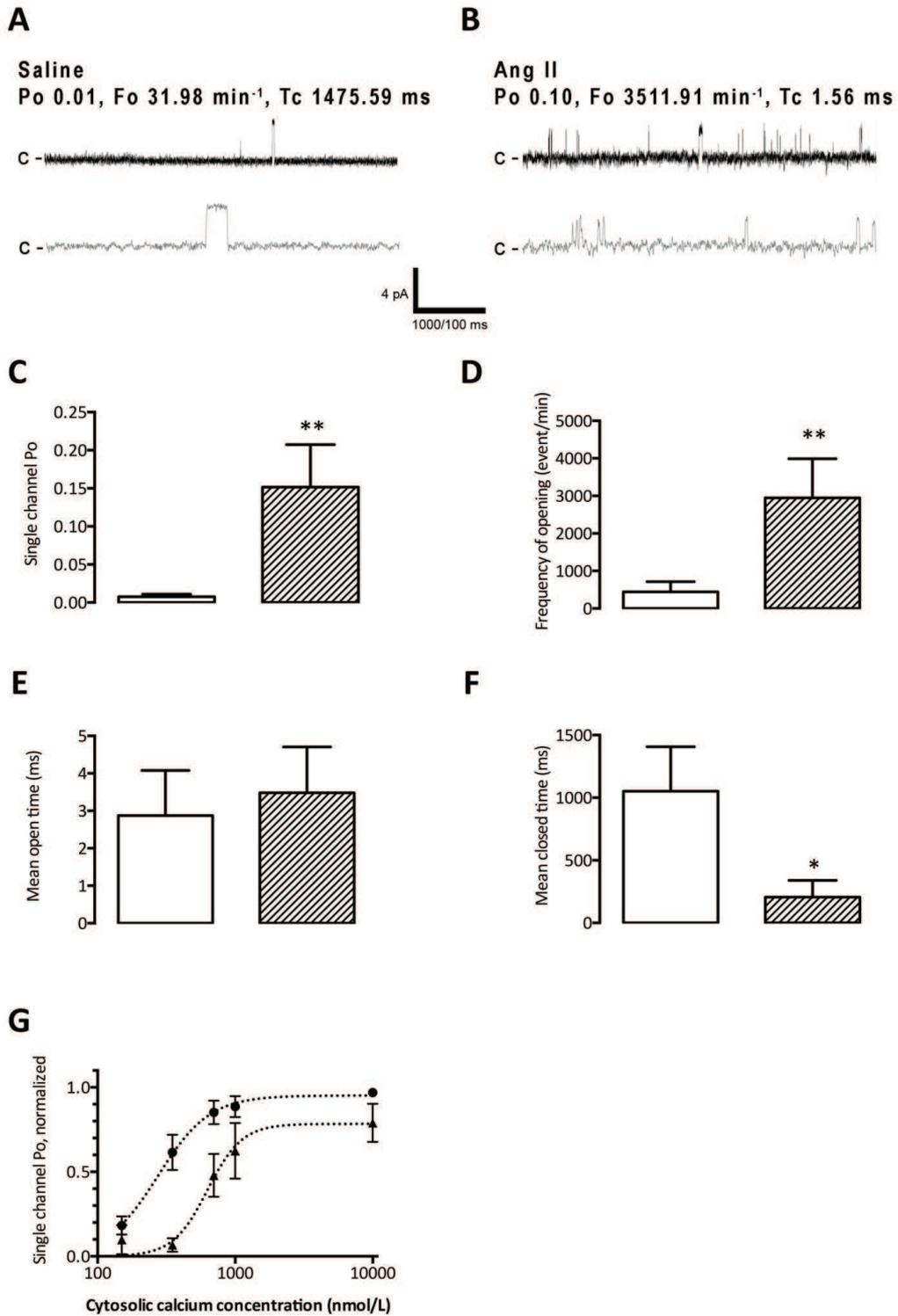
**Figure 38.** Effets de la dobutamine sur la torsion et la détorsion du ventricule gauche à J0 et après 28 jours d'administration d'angiotensine II. \*,  $p < 0,05$  vs. base correspondante. †,  $p < 0,05$  vs. valeurs à J0 correspondantes.

## E. Effets de l'hypertrophie ventriculaire gauche sur les récepteurs de la ryanodine de type 2

A J28, l'amplitude des transitoires calciques était significativement diminuée chez les animaux traités par angiotensine II par rapport aux animaux du groupe contrôle (Figure 37, panneaux E-G). Un des principaux résultats est illustré dans les panneaux F des figures 39 et 40. Les récepteurs de la ryanodine de type 2 présentaient une probabilité d'ouverture plus importante et un temps de fermeture plus court pour des concentrations calciques aussi bien systoliques que diastoliques.

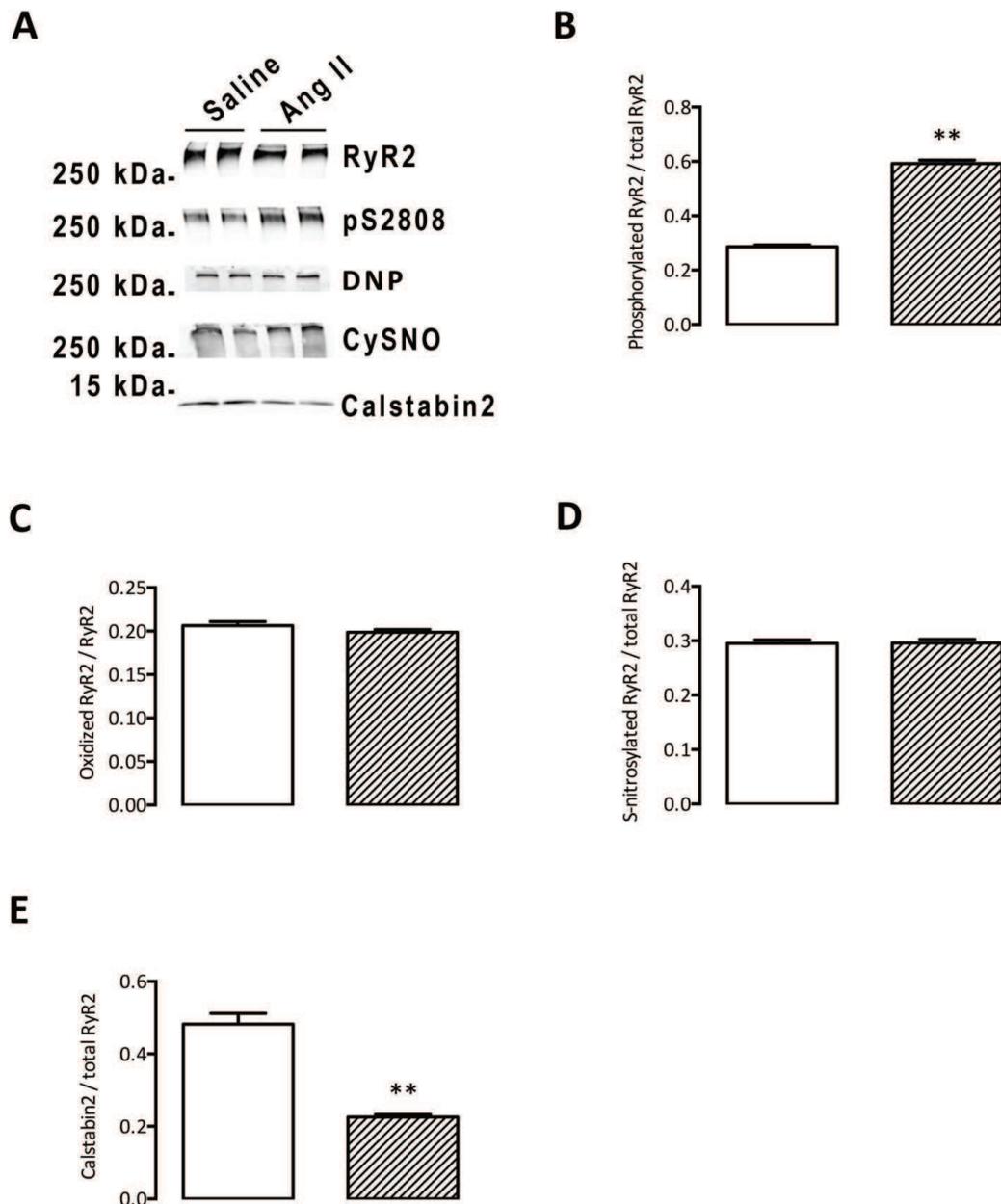


**Figure 39.** Anomalies des récepteurs à la ryanodine de type 2 chez les animaux contrôles (barres blanches) et chez les animaux traités par angiotensine II (barres hachurées) pour des concentrations calciques cytosoliques systoliques. \*,  $p < 0,05$  vs. animaux contrôles.



**Figure 40.** Anomalies des récepteurs à la ryanodine de type 2 chez les animaux contrôles (barres blanches) et chez les animaux traités par angiotensine II (barres hachurées) pour des concentrations calciques cytosoliques diastoliques. \*,  $p < 0,05$  vs. animaux contrôles. \*\*,  $p < 0,01$  vs animaux contrôles.

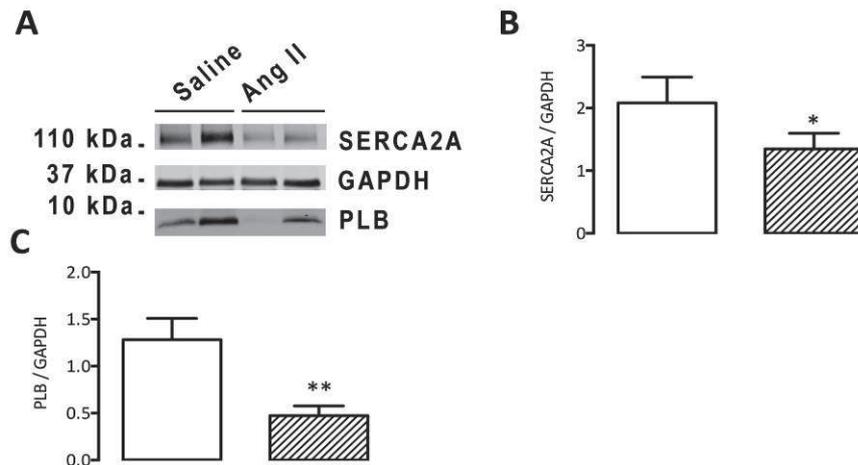
Ces anomalies des récepteurs de la ryanodine de type 2 étaient liées à des modifications post-traductionnelles. Premièrement, les récepteurs de la ryanodine étaient hyperphosphorylés, du fait de la phosphorylation par la protéine kinase A de leur sérine en position 2808 (Figure 41, panneau B). Deuxièmement, ils étaient significativement moins liés à la calstabin 2 (Figure 41, panneau E).



**Figure 41.** Modifications post-traductionnelles des récepteurs à la ryanodine de type 2 chez les animaux contrôles (barres blanches) et chez les animaux traités par angiotensine II (barres hachurées). \*\*,  $p < 0,01$  vs animaux contrôles.

## F. Effets de l'hypertrophie ventriculaire gauche sur la SERCA2a et le phospholamban

Comparativement aux animaux du groupe contrôle, les animaux traités par angiotensine II exprimaient significativement moins la SERCA2a et le phospholamban (Figure 42).



**Figure 42.** Expression de la SERCA2a et du phospholamban chez les animaux contrôles (barres blanches) et chez les animaux traités par angiotensine II (barres hachurées). \*,  $p < 0,05$  vs. animaux contrôles. \*\*,  $p < 0,01$  vs animaux contrôles.

## IV. Commentaires

Dans ce contexte d'hypertrophie ventriculaire gauche et d'hypertension artérielle chronique induite par la perfusion d'angiotensine II, nous avons objectivé une dysfonction ventriculaire gauche diastolique, principalement caractérisée par une élévation de la pression de remplissage ventriculaire gauche et une diminution de la détorsion du ventricule gauche, qui était également retardée au sein du cycle cardiaque et survenait après l'ouverture de la valve mitrale pendant la phase de remplissage précoce. Cette dysfonction diastolique était associée à une dysfonction systolique, principalement caractérisée par une diminution de la torsion du ventricule gauche alors que la fraction d'éjection ventriculaire gauche était conservée. Ces anomalies de la torsion et de la détorsion du ventricule gauche étaient concomitantes des anomalies de la contraction et de la relaxation isovolumiques déjà décrites dans les travaux précédents.

Ces dysfonctions diastolique et systolique s'accompagnaient d'une altération de l'homéostasie calcique. D'une part, la moindre expression de la SERCA2a et du phospholamban était à l'origine d'une altération de la recapture du calcium par le réticulum sarcoplasmique lors de la relaxation ventriculaire gauche. D'autre part, les récepteurs de la ryanodine de type 2, suite à des modifications post-traductionnelles, étaient responsables de fuites calciques, tant lors de la contraction que de la relaxation ventriculaire gauche.

Néanmoins, le couplage contraction-relaxation était toujours conservé, tant *in vivo* qu'*in vitro* au niveau cellulaire, y compris lors d'une stimulation chronotrope et inotrope par la dobutamine. Les récepteurs de la ryanodine de type 2 pourraient être l'intégrateur commun entre les anomalies ventriculaires gauches systolique et diastolique et jouer un rôle clé dans la préservation du couplage contraction-relaxation. En effet, les fuites calciques systoliques qu'ils génèrent pourraient altérer la transitoire calcique et *in fine* la contraction ventriculaire gauche. De la même façon, les fuites calciques diastoliques qu'ils génèrent pourraient être responsables d'une augmentation des concentrations calciques cytosoliques diastoliques et *in fine* altérer la relaxation ventriculaire gauche. A notre connaissance, il s'agit de la première étude objectivant la préservation du couplage contraction-relaxation et mettant en avant le rôle clé des récepteurs de la ryanodine de type 2 dans la préservation du couplage contraction-relaxation en cas d'hypertension artérielle chronique et d'hypertrophie ventriculaire gauche.

Ainsi, le couplage contraction-relaxation est préservé en cas d'hypertension artérielle chronique et d'hypertrophie ventriculaire gauche. Ceci implique donc que dans ses conditions, il n'y a pas d'anomalie diastolique sans altération systolique. Toute dysfonction ventriculaire gauche diastolique dans ce contexte devrait donc systématiquement faire rechercher une dysfonction systolique, même en cas de fraction d'éjection ventriculaire gauche conservée. Plus important, les récepteurs de la ryanodine semblent être l'intégrateur commun entre les anomalies des fonctions diastolique et systolique ventriculaire gauche et jouer un rôle clé dans la préservation du couplage contraction-relaxation. Dès lors, on peut supposer que des stratégies pharmacologiques ciblant les récepteurs de la ryanodine de type 2 pourraient, dans ce contexte, améliorer de façon concomitante tant la dysfonction ventriculaire gauche diastolique que systolique.

# CHAPITRE IX. MODULATION PHARMACOLOGIQUE PAR L'IVABRADINE DE LA TORSION ET DE LA DETORSION DU VENTRICULE GAUCHE AU COURS DE L'HYPERTROPHIE VENTRICULAIRE GAUCHE

*Ce travail a fait l'objet de la publication suivante :*

***Ivabradine improves left ventricular twist and untwist during chronic hypertension***

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

*Int J Cardiol 2017 [Epub ahead of print]*

## **I. Contexte et objectifs**

Au cours des précédents travaux menés avec notre modèle expérimental d'hypertension artérielle chronique et d'hypertrophie ventriculaire gauche induites par l'administration continue d'angiotensine II, nous avons montré qu'il existait une altération concomitante des capacités d'adaptation des phases de contraction et de relaxation isovolumiques à la tachycardie induite par l'administration d'angiotensine II (449, 506) et que l'ivabradine produisait un effet bénéfique sur ces paramètres. Par ailleurs, nous avons décrit les modifications de torsion et de détorsion dans ce contexte.

Ainsi, l'objectif de ce travail était d'étudier les effets de l'ivabradine sur la torsion et la détorsion du ventricule gauche dans ce contexte d'hypertension artérielle chronique et d'hypertrophie ventriculaire gauche.

## **II. Protocole expérimental**

Nous avons utilisé notre modèle de porcs chroniquement instrumentés et étudiés à l'état sédaté pour permettre de réaliser des examens échocardiographiques dans de bonnes conditions. Il n'était pas possible au cours de ce protocole expérimental de contrôler la fréquence cardiaque par un entraînement électrosystolique externe afin de vérifier si les effets observés étaient uniquement liés à la réduction de la fréquence cardiaque induite par l'ivabradine, les électrodes de stimulation utilisées à cet effet créant des interférences avec la sonde d'échographie cardiaque. Pour la même raison, il n'était pas possible d'enregistrer les dimensions ventriculaires gauches avec les cristaux piézo-électriques normalement prévus à cet effet.

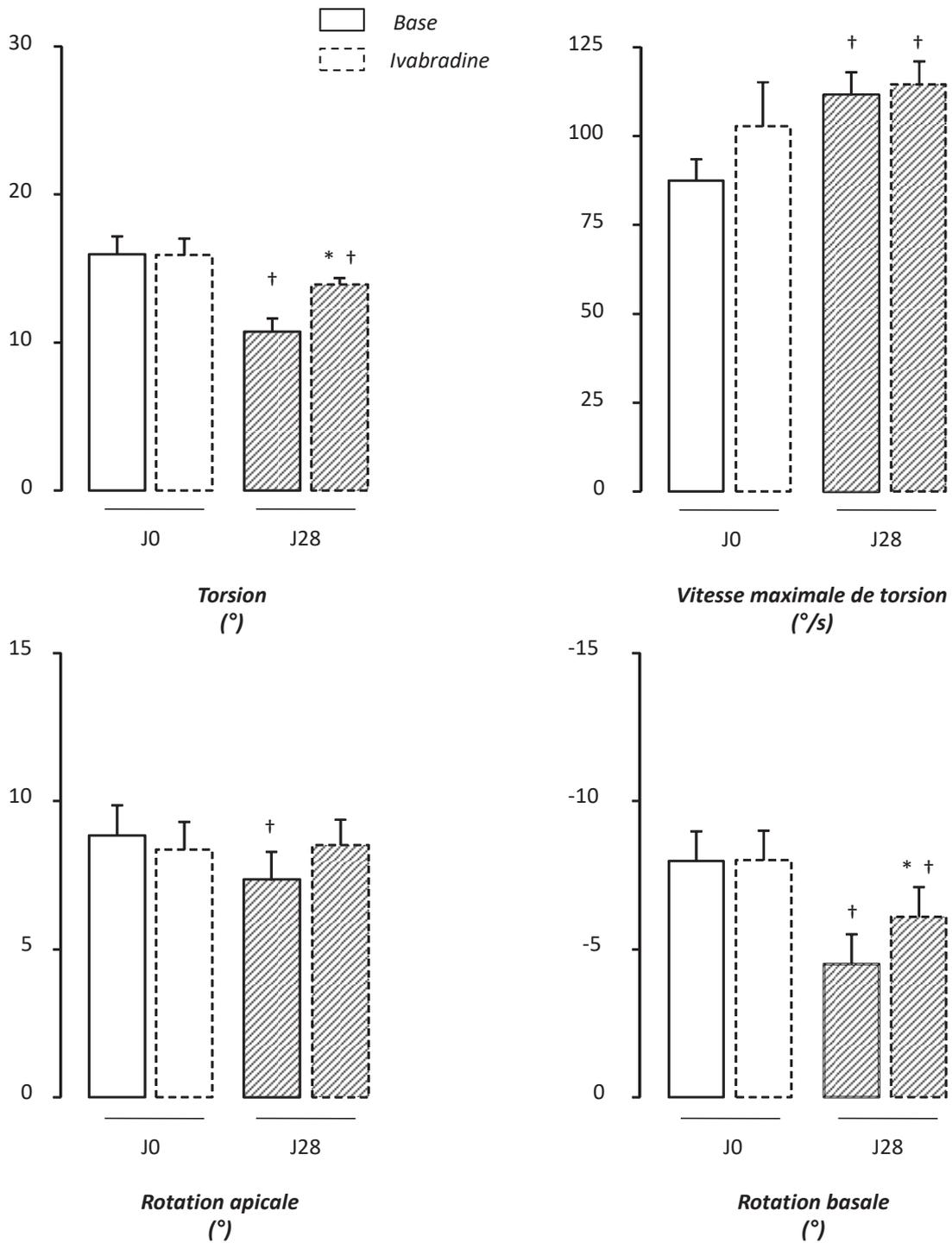
A l'état de base (J0), toutes les mesures hémodynamiques et échographiques étaient réalisées chez tous les animaux (n=8), au repos et 20 minutes après l'administration d'ivabradine (1 mg/kg administré en cinq minutes). Au décours, tous les animaux recevaient une administration continue d'angiotensine II pendant 28 jours, au terme desquels les mêmes expériences qu'à J0 étaient réalisées.

### III. Principaux résultats

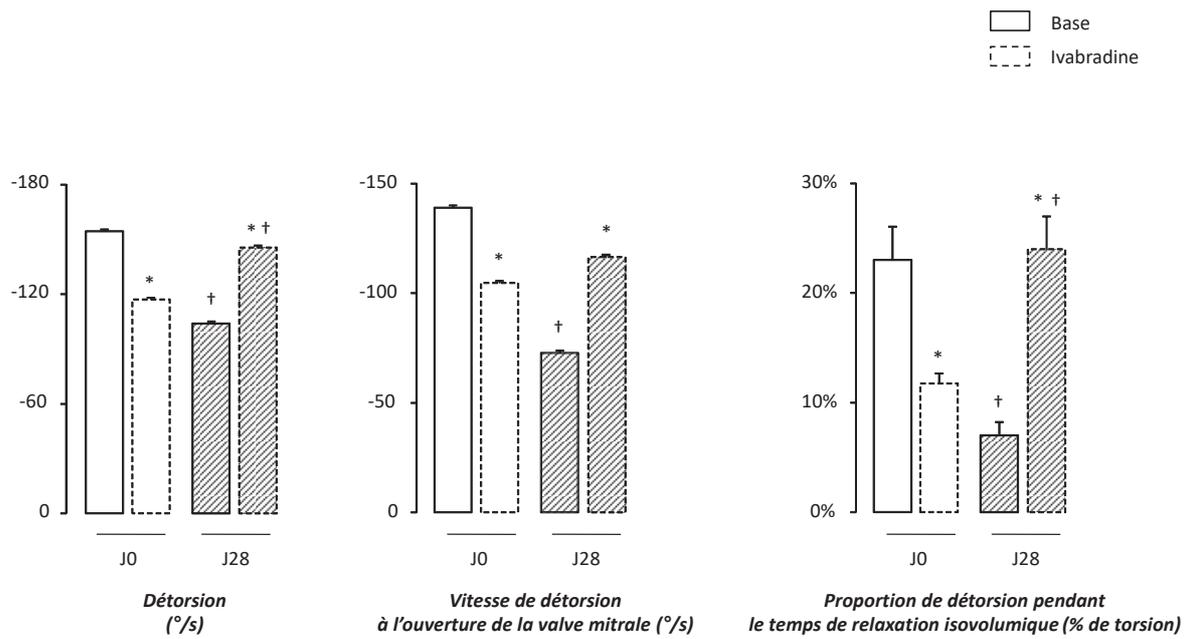
#### A. Effets de l'hypertrophie ventriculaire gauche sur la torsion et la détorsion

Après 28 jours d'administration d'angiotensine II, la torsion du ventricule gauche était diminuée, tant dans ses composantes apicale que basale, illustrant l'apparition d'une dysfonction systolique ventriculaire gauche. *A contrario*, la vitesse maximale du mouvement de torsion du ventricule gauche au cours de la systole était significativement augmentée, mais cette augmentation ne suffisait pas à préserver la torsion du ventricule gauche (Figure 43).

A J28, la détorsion du ventricule gauche, ainsi que la vitesse de détorsion du ventricule gauche à l'ouverture de la valve mitrale et la proportion de détorsion du ventricule gauche pendant le temps de relaxation isovolumique étaient également significativement diminuées (Figure 44). Ainsi, toutes ces données illustraient qu'à J28, la dysfonction systolique ventriculaire gauche s'accompagnait d'une dysfonction diastolique.



**Figure 43.** Effets de l'ivabradine sur la torsion, la rotation apicale et basale ainsi que sur la vitesse maximale de torsion du ventricule gauche à J0 et après 28 jours d'administration d'angiotensine II. \*,  $p < 0,05$  vs. base correspondante. †,  $p < 0,05$  vs. valeurs à J0 correspondantes.



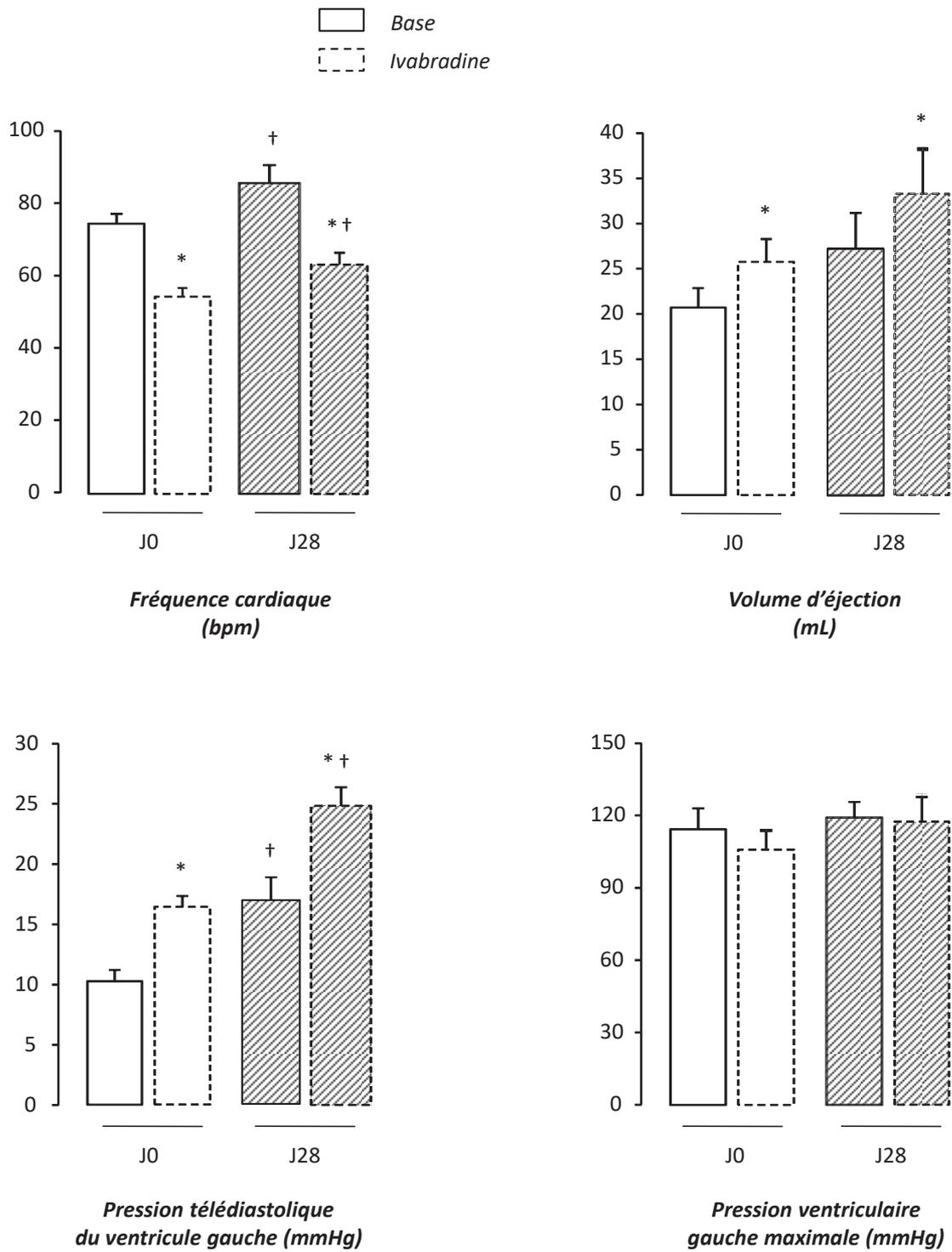
**Figure 44.** Effets de l'ivabradine sur la détorsion du ventricule gauche et ses paramètres dérivés à J0 et après 28 jours d'administration d'angiotensine II. \*, p<0,05 vs. base correspondante. †, p<0,05 vs. valeurs à J0 correspondantes.

## B. Effets de l'ivabradine sur la fonction ventriculaire

L'administration d'ivabradine induisait une diminution significative de la fréquence cardiaque de 27% à J0 et de 25% à J28. Ainsi, à J0, la fréquence cardiaque des animaux était réduite en moyenne à moins de 60 batt/min. Il en résultait, à J0 et J28, une diminution significative du débit cardiaque (Tableau 9, Figure 45). L'administration d'ivabradine induisait également à J0 et J28 une diminution significative de la pression artérielle diastolique et une augmentation significative de la pression télédiastolique ventriculaire gauche (Tableau 9, Figure 45).

Paramètres	n	J0		J28	
		Base	Ivabradine	Base	Ivabradine
Fréquence cardiaque (bpm)	8	75±3	55 ± 2*	86 ± 5†	63 ± 3*†
Pression artérielle systolique (mmHg)	8	114±6	101 ± 7	121 ± 5	119 ± 8
Pression artérielle diastolique (mmHg)	8	80±6	66 ± 5*	90 ± 6	79 ± 6*
Pression artérielle moyenne (mmHg)	8	97±6	84 ± 6*	105 ± 6	98 ± 7*
Débit cardiaque (L/min)	6	1.57±0.15	1.43 ± 0.13*	2.17 ± 0.25	1.93 ± 0.30*
Volume d'éjection (mL)	6	21±2	26 ± 2*	27 ± 4	33 ± 5*
Pression ventriculaire gauche maximale (mmHg)	6	114±8	106 ± 7	119 ± 7	117 ± 11
dP/dt max (mmHg/s)	6	2066±138	2391 ± 231	2613 ± 260	2448 ± 277
Pression télédiastolique ventriculaire gauche (mmHg)	6	10±1	16 ± 1*	17 ± 2†	25 ± 2*†

**Tableau 9.** Effets hémodynamiques de l'ivabradine à J0 et après 28 jours de perfusion d'angiotensine II. Les variables sont exprimées en moyenne ± s.e.m. \*, p<0,05 vs. base correspondante. †, p<0,05 vs. valeurs à J0 correspondantes.

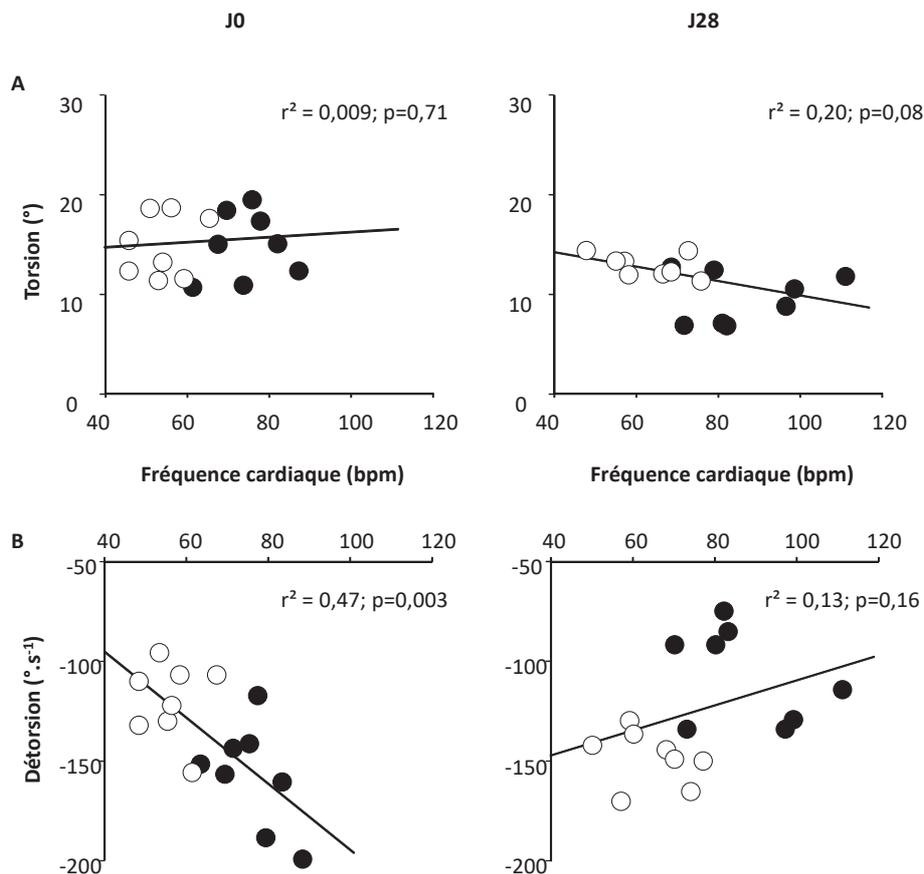


**Figure 45.** Effets hémodynamiques de l'ivabradine à J0 et après 28 jours d'administration d'angiotensine II. \*,  $p < 0,05$  vs. base correspondante. †,  $p < 0,05$  vs. valeurs à J0 correspondantes.

### C. Effets de l'ivabradine sur la torsion

A J0, l'administration d'ivabradine ne modifiait ni la torsion du ventricule gauche et ses composantes apicale et basale, ni la vitesse maximale du mouvement de torsion du ventricule gauche au cours de la systole. A J28, tous ces paramètres étaient significativement améliorés par l'administration d'ivabradine, à l'exception de la vitesse maximale du mouvement de torsion du ventricule gauche au cours de la systole et de la rotation apicale qui n'étaient pas modifiées (Figure 43).

Tant à J0 qu'à J28, il n'y avait aucune corrélation entre la torsion du ventricule gauche et la fréquence cardiaque, suggérant que les effets de l'ivabradine sur la torsion du ventricule gauche étaient plutôt liés à des mécanismes fréquence-indépendants (Figure 46, panneau A).



**Figure 46.** Corrélations entre la fréquence cardiaque et la torsion (Panneau A) et la détorsion (Panneau B) du ventricule gauche à J0 et après 28 jours d'administration d'angiotensine II avant (ronds noirs) et après (ronds blancs) administration d'ivabradine.

## D. Effets de l'ivabradine sur la détorsion

A J0, l'administration d'ivabradine s'accompagnait d'une diminution paradoxale de la détorsion du ventricule gauche, ainsi que de la vitesse de détorsion du ventricule gauche à l'ouverture de la valve mitrale et de la proportion de détorsion du ventricule gauche pendant le temps de relaxation isovolumique. *A contrario*, tous ces paramètres étaient significativement améliorés par l'administration d'ivabradine à J28 (Figure 44).

A J0, la détorsion du ventricule gauche était négativement corrélée à la fréquence cardiaque (Figure 46, panneau B). Plus la fréquence cardiaque était basse, plus la détorsion du ventricule gauche était altérée. En revanche à J28, cette corrélation était perdue (Figure 46, panneau B). Ainsi, les effets de l'ivabradine sur la détorsion du ventricule semblaient être à la fois fréquence-dépendants et fréquence-indépendants.

## IV. Commentaires

Dans ce contexte d'hypertrophie ventriculaire gauche et d'hypertension artérielle chronique induite par la perfusion d'angiotensine II pendant quatre semaines, nous avons confirmé, alors que la fréquence cardiaque augmentait, l'existence concomitante d'une dysfonction ventriculaire gauche diastolique (caractérisée par une élévation de la pression de remplissage ventriculaire gauche et une diminution de la détorsion du ventricule gauche) et d'une dysfonction ventriculaire gauche systolique, caractérisée par une diminution de la torsion du ventricule gauche.

En cas d'hypertrophie ventriculaire gauche, l'administration d'ivabradine permettait d'améliorer à la fois les anomalies ventriculaires gauches systolique et diastolique, en augmentant respectivement la torsion et la détorsion du ventricule gauche. Ces effets bénéfiques de l'ivabradine semblaient être fréquence-indépendants, comme en attestait l'absence de corrélation entre la torsion et la détorsion du ventricule gauche et la fréquence cardiaque à J28.

En l'absence d'hypertrophie ventriculaire gauche à J0, l'administration d'ivabradine, n'avait pas d'effet significatif sur la fonction systolique, comme en attestait l'absence d'effet sur la torsion du ventricule gauche mais s'accompagnait d'une dysfonction diastolique avec une augmentation de la pression télédiastolique ventriculaire gauche et une altération de la détorsion du ventricule gauche. Cet effet délétère de l'ivabradine semblait être fréquence-dépendant. Plus la fréquence cardiaque était basse, en pratique inférieure en moyenne à 60 batt/min, plus l'altération de la détorsion du ventricule gauche était marquée. On peut supposer que la réduction trop importante

de la fréquence cardiaque pourrait résulter en une diminution trop importante de la pression artérielle diastolique et donc de la pression de perfusion coronaire. Ceci pourrait être à l'origine, *a minima*, d'une dette en oxygène du myocarde.

Ainsi, il s'agit à notre connaissance, de la première étude documentant les effets de l'ivabradine sur la torsion et la détorsion du ventricule gauche. L'administration d'ivabradine semble avoir un effet bénéfique sur les fonctions systolique et diastolique en cas d'hypertrophie ventriculaire gauche, médié probablement par des effets fréquence-indépendants. Les mécanismes cellulaires sous-tendant ces effets bénéfiques de l'ivabradine restent à élucider. *A contrario*, la réduction marquée de la fréquence cardiaque (< 60 batt/min) induite par l'administration d'ivabradine dans un cœur normal semble avoir un effet délétère sur la fonction diastolique du ventricule gauche.

## **DISCUSSION GENERALE ET PERSPECTIVES**

A l'aide d'un modèle de gros animal chroniquement instrumenté d'hypertension artérielle chronique et d'hypertrophie ventriculaire gauche, nous avons caractérisé grâce aux mesures de la torsion et de la détorsion du ventricule gauche les fonctions systolique et diastolique ventriculaires gauches et mis en évidence la préservation du couplage contraction-relaxation tant au niveau ventriculaire que cellulaire dans ce contexte pathologique. De surcroît, nous avons proposé le récepteur de la ryanodine de type 2 comme l'élément clé de la préservation du couplage contraction-relaxation. Enfin, nous avons montré que l'administration d'ivabradine dans ce contexte d'hypertrophie ventriculaire gauche permettait d'améliorer les fonctions systolique et diastolique du ventricule gauche, notamment grâce aux mesures de la torsion et de la détorsion du ventricule gauche, probablement par des effets fréquence-indépendants.

Plutôt que des modèles murins, nous avons privilégié un modèle expérimental de gros animal et de porc en particulier pour sa similitude avec l'Homme, tant sur le plan de la fréquence cardiaque que sur le plan de la régulation de l'homéostasie calcique et de l'expression des isoformes des protéines de l'appareil contractile. De surcroît, le deuxième grand intérêt de ce modèle réside dans la possibilité de réaliser une exploration de la fonction ventriculaire gauche en l'absence de toute sédation ou anesthésie générale, connues pour interagir avec le système cardiovasculaire (484). Il faut néanmoins reconnaître qu'une partie de ce travail a été réalisée chez l'animal sédaté. Enfin, nous avons privilégié un protocole hypertensif basé sur l'administration continue d'angiotensine II à l'aide d'une pompe externe miniaturisée, plutôt que de recourir à un modèle de constriction rénale (467), engendrant des conséquences physiopathologiques irréversibles. Dès lors, nous avons la possibilité d'arrêter la perfusion d'angiotensine II et d'évaluer les performances intrinsèques du ventricule gauche indépendamment de toutes variations des conditions de charge du cœur.

En pratique clinique, seuls quelques indices très imparfaits sont disponibles pour évaluer en échocardiographie la fonction ventriculaire gauche. L'évaluation de la fonction systolique repose principalement sur la mesure de la fraction d'éjection ventriculaire gauche qui ne permet pas de prendre en compte la contraction des différentes parois du ventricule gauche dans toutes les dimensions. De plus, elle doit toujours être interprétée en fonction de la postcharge ventriculaire gauche et de la fréquence cardiaque. De plus, elle ne s'altère que tardivement, une fois la dysfonction systolique déjà bien installée (507). Ainsi, il existe bien des altérations de la fonction systolique du ventricule gauche chez les patients avec une insuffisance cardiaque à fraction d'éjection préservée, qui comme le nom l'indique, ne peuvent être détectées par la simple mesure de la fraction d'éjection ventriculaire gauche. L'évaluation de la fonction diastolique repose sur l'analyse du flux sanguin mitral avec la mesure du rapport E/A et sur le doppler tissulaire de l'anneau mitral avec en particulier la mesure du rapport E/e', qui permet d'estimer de façon non-invasive au

lit du patient la pression de remplissage du ventricule gauche. Néanmoins, ces deux paramètres présentent également de nombreuses limites. Le rapport E/A ne peut être utilisé chez les patients en fibrillation atriale. Le rapport E/e' est peu fiable en cas d'altération de la fraction d'éjection ventriculaire gauche et son interprétation est sujette à une zone grise importante obérant chez de très nombreux patients son interprétation (340).

Pour surseoir à ces différentes limites, s'est développée depuis 2004 la technique du *speckle tracking*, qui a permis le développement de nouveaux paramètres échocardiographiques caractérisant les fonctions systolique et diastolique du ventricule gauche, parmi lesquels la mesure de la torsion et de la détorsion du ventricule gauche, qui sont directement liés à l'organisation hélicoïdale des fibres myocardiques (9, 46, 62). Comme pour les paramètres plus classiques de fonction ventriculaire gauches quotidiennement utilisés en pratique clinique, les mesures de la torsion et de la détorsion du ventricule gauche ont une valeur diagnostique et pronostique (184, 187, 192). Elles permettent d'évaluer la réponse aux traitements chez les patients atteints de pathologies cardiovasculaires (175, 211). Les mesures de la torsion et de la détorsion présentent plusieurs avantages substantiels par rapport aux indices classiques précédemment décrits. Premièrement, la torsion du ventricule gauche permet d'évaluer la contraction du myocarde dans l'ensemble des directions : longitudinale, radiale et circonférentielle. Deuxièmement, la torsion et la détorsion du ventricule gauche intègrent tant la dimension mécanique que temporelle des fonctions systolique et diastolique du ventricule gauche. Troisièmement, la torsion et la détorsion du ventricule gauche sont des indices de fonction systolique et diastolique plus sensibles que les paramètres classiques, permettant de détecter plus précocement des dysfonctions ventriculaires gauches débutantes avant l'apparition de toute manifestation clinique, en particulier en cas de dysfonction sous-endocardique isolée (75, 138, 142, 194, 318, 322). Quatrièmement, la mesure de la torsion et de la détorsion du ventricule gauche permet de mieux comprendre la physiopathologie des pathologies cardiovasculaires et d'illustrer les mécanismes compensateurs du myocarde mis en jeu pour préserver le plus longtemps possible la fonction globale ventriculaire gauche. Ainsi, l'augmentation de la torsion en cas de dysfonction sous-endocardique isolée, comme dans le vieillissement (155-157), l'hypertension artérielle (321) ou la cardiomyopathie hypertrophique (60, 78), illustre l'adaptation physiologique du cœur pour préserver la fonction systolique ventriculaire gauche, comme en atteste la préservation de la fraction d'éjection ventriculaire gauche, malgré les troubles de la fonction systolique ventriculaire gauche longitudinale qui apparaissent à un stade très précoce (193, 330, 331). Cinquièmement, la mesure de la torsion et la détorsion du ventricule gauche permet probablement de mieux apprécier la sévérité de la maladie (197, 207, 330), ce qui pourrait expliquer les résultats non univoques des différentes études menées chez les patients hypertendus, chez les

patients avec une insuffisance cardiaque à fraction d'éjection préservée ou chez les patients avec une cardiopathie valvulaire. En particulier, chez les patients hypertendus, la mesure de la torsion et de la détorsion du ventricule gauche pourrait permettre de précisément caractériser le retentissement cardiaque de l'hypertension artérielle en permettant de distinguer les patients hypertendus sans retentissement ou remodelage débutant du myocarde, les patients hypertendus avec un remodelage ventriculaire gauche à type d'hypertrophie permettant de corriger l'accroissement de la contrainte pariétale du ventricule gauche et les patients hypertendus avec une hypertrophie ventriculaire gauche se compliquant d'une dysfonction ventriculaire gauche marquée (318). Ainsi, la mesure de la torsion et de la détorsion du ventricule gauche pourrait être plus qu'utile au clinicien pour clairement identifier le stade de la maladie, définir au mieux le moment où débiter le traitement et au décours, évaluer l'efficacité du traitement entrepris.

Au-delà de cet apport substantiel dans la compréhension physiopathologique, le diagnostic, le pronostic et l'évaluation des thérapeutiques dans les pathologies cardiovasculaires, le concept de torsion et de détorsion du ventricule gauche a permis une meilleure compréhension de la physiologie cardiaque (34, 35). Tout d'abord, la mise en évidence de la torsion et de la détorsion du ventricule gauche a permis d'élucider par quel mécanisme et avec quelle source d'énergie la pression ventriculaire gauche pouvait diminuer aussi rapidement et brutalement lors de la phase de relaxation isovolumique, en réconciliant contraction musculaire, augmentation du volume des ventricules et diminution de la pression ventriculaire (24). Par ailleurs, le concept de torsion-détorsion du ventricule gauche a permis de mettre en exergue le couplage contraction-relaxation physiologique qui existe et qui est préservée dans de nombreuses pathologies cardiaques et en particulier en cas d'hypertension artérielle chronique et d'hypertrophie ventriculaire gauche, comme nous l'avons démontré dans nos conditions expérimentales. Ainsi, la préservation du couplage contraction-relaxation implique qu'il ne peut exister de dysfonction diastolique sans dysfonction systolique. En d'autres termes, en cas d'hypertension artérielle et d'hypertrophie ventriculaire gauche, toute découverte de dysfonction diastolique doit faire rechercher une dysfonction systolique. La mise en évidence de la préservation du couplage contraction-relaxation rend probablement caduque le débat actuel dans la littérature, pour savoir si l'insuffisance cardiaque à fraction d'éjection préservée et réduite représentent deux entités pathologies distinctes ou ne sont que le *continuum* d'une seule et même maladie. De surcroît, dans notre modèle expérimental, le couplage contraction-relaxation était également préservé au niveau cellulaire et ce, malgré des anomalies du récepteur de la ryanodine de type 2, avec entre autre une dissociation de sa protéine régulatrice la calstabile 2, responsables de fuites calciques tant systolique que diastolique. Ainsi, le récepteur de la ryanodine de type 2 pourrait être l'intégrateur entre les anomalies ventriculaire gauche systolique et

diastolique observées et jouer un rôle clé dans la préservation du couplage contraction-relaxation en cas d'hypertension artérielle chronique et d'hypertrophie ventriculaire gauche. Ce rôle central du récepteur de la ryanodine de type 2 ouvre de nouvelles perspectives dans le traitement de la dysfonction diastolique et l'insuffisance cardiaque à fraction d'éjection préservée, à l'aide d'approches pharmacologiques ciblant sélectivement le récepteur de la ryanodine de type 2, pour le moment uniquement testées dans le cadre de l'insuffisance cardiaque à fraction d'éjection réduite. Ainsi le JTV519 (508, 509), un dérivé de la famille des benzothiazépines, et plus généralement les "Rycals" (510, 511), permettent de stabiliser la liaison entre le récepteur de la ryanodine de type 2 et sa protéine régulatrice la calstabile 2. Chez des patients à un stade sévère d'insuffisance cardiaque à fraction d'éjection réduite, son administration permet une amélioration de la fonction diastolique du ventricule gauche (512). Ainsi, dans le cadre de l'hypertension artérielle et de l'hypertrophie ventriculaire gauche, l'administration de JTV519 pourrait permettre de limiter les fuites calciques diastoliques en stabilisant la liaison entre le récepteur de la ryanodine de type 2 et la calstabile 2, améliorant la fonction diastolique mais également la fonction systolique en vertu de la préservation du couplage contraction-relaxation.

Par ailleurs, nous avons précédemment mis en exergue dans ce modèle les effets bénéfiques de la réduction de fréquence cardiaque sur la fonction ventriculaire gauche en cas d'hypertension artérielle et d'hypertrophie ventriculaire gauche. Tout d'abord, nous avons montré que la réduction de la fréquence cardiaque permettait de diminuer de façon concomitante les temps de contraction et de relaxation isovolumiques, augmentant *de facto* le temps dévolu au remplissage du ventricule gauche (513). Puis, en investiguant spécifiquement les différentes phases du remplissage ventriculaire gauche, nous avons montré qu'une réduction de la fréquence cardiaque permettait de corriger les anomalies du remplissage ventriculaire gauche observées dans ce contexte en augmentant le temps dévolu au remplissage ventriculaire gauche, en améliorant le remplissage précoce et en diminuant la part du remplissage ventriculaire gauche liée à la systole auriculaire (506). Dès lors, nous avons souhaité confirmer ces effets bénéfiques à l'aide de paramètres de fonction ventriculaire gauche intégrant l'ensemble du cycle cardiaque, à savoir la torsion et la détorsion du ventricule gauche. Pour ce faire, nous avons opté pour l'administration d'ivabradine, qui ne possède qu'un effet chronotrope négatif (370-374), plutôt que l'administration de  $\beta$ -bloquants, qui possèdent également un effet inotrope et lusitrope négatif. L'ivabradine présentait également l'avantage d'être bien connue du laboratoire et d'avoir déjà utilisée de nombreuses fois, notamment dans d'autres modèles expérimentaux (371, 490, 491, 514). De surcroît, nous avons privilégié une administration aiguë d'ivabradine pour essayer de n'étudier que les effets propres d'une réduction de la fréquence cardiaque, en limitant autant que possible tous les effets potentiels d'une administration chronique

d'ivabradine sur de facteurs impliqués dans la physiopathologie de la dysfonction diastolique du ventricule gauche, en particulier sur la compliance vasculaire (375), l'homéostasie calcique (376, 515), ou le remodelage ventriculaire gauche, que ce soit des effets bénéfiques (378-380) ou délétères (516). De façon intéressante, nous avons mis en évidence que les effets bénéfiques de l'ivabradine sur la torsion et la détorsion du ventricule gauche dans ce contexte d'hypertension artérielle et d'hypertrophie ventriculaire gauche étaient fréquence-indépendants, confirmant ainsi les résultats montrant les effets bénéfiques de l'ivabradine tant sur les temps de contraction et de relaxation isovolumiques que sur le remplissage du ventricule gauche. Ces effets bénéfiques sont probablement médiés par l'effet de l'ivabradine sur les canaux  $I_f$  surexprimés en cas d'hypertrophie ventriculaire gauche (380). Néanmoins, nous n'avons aucune donnée expérimentale pour confirmer ou infirmer cette hypothèse et des travaux futurs sont nécessaires pour déterminer les effets pleiotropes de l'ivabradine incriminés dans l'amélioration de la fonction systolique et diastolique en cas d'hypertrophie ventriculaire gauche. Enfin, il est important de souligner que ces effets bénéfiques de l'ivabradine sur la fonction ventriculaire gauche ou le remplissage du ventricule gauche, qu'ils soient fréquence-dépendants ou indépendants, ne sont pas nécessairement retrouvés en clinique (382, 383), remettant en cause l'indication de l'ivabradine chez de nombreux patients.

Malgré l'intérêt tant physiologique, que physiopathologique diagnostic, pronostic et thérapeutique de la torsion et de la détorsion du ventricule gauche, leur utilisation en pratique clinique est pour le moment difficile, leur mesure n'étant pas directement fournie par les différents échocardiographes. La démocratisation de ces paramètres est toujours obérée, entre autre, par la grande variabilité qui existe entre les différents échocardiographes dans les filtres et algorithmes mathématiques utilisés pour la mesure de la torsion et de la détorsion et le manque de standardisation dans l'acquisition des images échocardiographiques. Ainsi, l'intégration de la mesure de la torsion et de la détorsion du ventricule gauche dans la pratique clinique passe par une nécessaire évolution technologique, comme cela a été le cas il y a quelques années pour la mesure du *strain* global longitudinal. Parallèlement au développement de la mesure par *speckle tracking* de la torsion et de la détorsion du ventricule gauche, le concept de torsion et de détorsion du ventricule gauche est également à l'origine depuis quelques années du développement d'un nouveau type d'assistance cardiaque, qui repose sur la fixation au niveau de l'apex du ventricule gauche d'un dispositif relié à une source d'énergie, permettant de restaurer le mouvement de torsion physiologique du ventricule gauche ("*Apical torsion device for cardiac assist*") (181). Comparée aux assistances plus classiques, ce nouveau dispositif a l'avantage de ne pas être en contact direct avec le sang du patient et donc théoriquement de ne pas engendrer d'effets secondaires à type d'hémolyse, de formation de thrombus et d'être moins pourvoyeur d'infections.

Pour conclure, il est important de rappeler que le but initial du laboratoire était de développer un modèle d'insuffisance cardiaque à fraction d'éjection préservée. Dans les faits, le modèle actuel est un modèle de dysfonction diastolique préclinique (5), les animaux ne présentant aucun signe clinique patent d'insuffisance cardiaque. Pour essayer de rendre les animaux symptomatiques, deux pistes ont été privilégiées. Tout d'abord, l'effort physique, connu pour démasquer des anomalies infracliniques des fonctions systolique et diastolique du ventricule gauche. Au vu de la difficulté évidente de soumettre les porcs à un protocole d'exercice sur tapis roulant, comme cela avait été fait dans un modèle expérimental canin il y a quelques années au laboratoire, nous avons privilégié l'administration de dobutamine pour mimer l'effort, mais nullement pour rendre les animaux symptomatiques du fait de ses effets lusitrope positif et vasodilatateur (517). Dès lors, nous avons essayé de mettre au point un protocole de décompensation cardiaque en administrant à partir du 28<sup>ème</sup> jour d'angiotensine II, de la DOCA et du sel pendant une semaine, comme décrit dans la littérature (518). A l'heure actuelle, le protocole n'est pas totalement maîtrisé et n'a concerné que quelques animaux. Les résultats préliminaires semblent néanmoins encourageants, avec une majoration de la pression de remplissage du ventricule gauche comparé à J28 chez tous les animaux, même si au final peu d'animaux étaient symptomatiques. De surcroît, il pourrait être particulièrement intéressant de caractériser le couplage ou *a contrario* l'éventuel découplage contraction-relaxation dans ce contexte de décompensation cardiaque. Parallèlement à cette mise au point du modèle d'insuffisance cardiaque à fraction d'éjection préservée, les futurs travaux devront également explorer l'effet pharmacologique de nouvelles stratégies ciblant spécifiquement le récepteur de la ryanodine de type 2 qui semble être l'intégrateur commun des anomalies systolique et diastolique en vertu de la préservation du couplage contraction-relaxation dans ce contexte d'hypertension artérielle chronique et d'hypertrophie ventriculaire gauche.

## **CONCLUSION**

L'hypertension artérielle est responsable d'un remodelage cardiaque à type d'hypertrophie ventriculaire gauche, qui résulte en des altérations de la fonction ventriculaire gauche diastolique et systolique. Celles-ci sont notamment illustrées par une altération de la torsion et de la détorsion du ventricule gauche. De surcroît, le couplage contraction-relaxation est préservé, impliquant dans ce contexte d'hypertrophie ventriculaire gauche, qu'il ne peut exister de dysfonction diastolique sans dysfonction systolique. Le récepteur de la ryanodine de type 2 semble jouer un rôle pivot dans la préservation du couplage contraction-relaxation. Même si nous ne l'avons pas directement démontré, ses modifications post-traductionnelles à type d'hyperphosphorylation et de dissociation de sa protéine régulatrice calstabile 2 sont probablement à l'origine d'anomalies de l'homéostasie calcique responsable tant d'une dysfonction diastolique que d'une dysfonction systolique. Enfin, l'administration d'ivabradine, un inhibiteur sélectif des canaux  $I_f$ , permet d'améliorer tant la dysfonction diastolique que systolique. Ceci s'objective par une amélioration des temps de contraction et de relaxation isovolumiques, de la torsion, de la détorsion et du remplissage du ventricule gauche dans ce contexte d'hypertrophie ventriculaire gauche. Une partie des effets bénéfiques de l'ivabradine sur la fonction ventriculaire gauche semblent être fréquence-indépendants et *de facto* liés aux effets pléiotropes de l'ivabradine. En perspective et dans ce contexte, l'exploration de l'effet pharmacologie de stratégies ciblant le récepteur de la ryanodine de type 2 ainsi que la caractérisation de la fonction ventriculaire gauche et l'étude du couplage contraction-relaxation par la mesure de la torsion et de la détorsion du ventricule gauche en cas de décompensation cardiaque devront être l'objet de travaux futurs.

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

1. Journée mondiale de la santé. Panorama mondial de l' Hypertension : un « tueur silencieux » responsable d'une crise de santé publique mondiale. *Organisation mondiale de la santé* 2013
2. Swynghedauw B. Molecular mechanisms of myocardial remodeling. *Physiol Rev* 1999; 79: 215-262
3. Aurigemma GP, Gaasch WH. Clinical practice. Diastolic heart failure. *N Engl J Med* 2004; 351: 1097-1105
4. Zile MR, Baicu CF, Gaasch WH. Diastolic heart failure--abnormalities in active relaxation and passive stiffness of the left ventricle. *N Engl J Med* 2004; 350: 1953-1959
5. Wan SH, Vogel MW, Chen HH. Pre-clinical diastolic dysfunction. *J Am Coll Cardiol* 2014; 63: 407-416
6. Da Vinci L. Quoted by Evans L. Starling's Principles of human Physiology. London, UK : J.A. Churchill 1936; 706
7. Keele KD. Leonardo da Vinci's elements of the science of man. New York, USA: Academic Press 1983
8. Lower R. Tractus de corde. Gunter RT, editor. Early Science in Oxford. Oxford, London, UK: Sawsons, Pall Mall 1968; 1169
9. Streeter DD, Jr., Spotnitz HM, Patel DP, Ross J, Jr., Sonnenblick EH. Fiber orientation in the canine left ventricle during diastole and systole. *Circ Res* 1969; 24: 339-347
10. McDonald IG. The shape and movements of the human left ventricle during systole. A study by cineangiography and by cineradiography of epicardial markers. *The American journal of cardiology* 1970; 26: 221-230
11. Ingels NB, Jr., Daughters GT, 2nd, Stinson EB, Alderman EL. Measurement of midwall myocardial dynamics in intact man by radiography of surgically implanted markers. *Circulation* 1975; 52: 859-867
12. Mor-Avi V, Lang RM, Badano LP, Belohlavek M, Cardim NM, Derumeaux G, Galderisi M, Marwick T, Nagueh SF, Sengupta PP, Sicari R, Smiseth OA, Smulevitz B, Takeuchi M, Thomas JD, Vannan M, Voigt JU, Zamorano JL. Current and evolving echocardiographic techniques for the quantitative evaluation of cardiac mechanics: ASE/EAE consensus statement on methodology and indications endorsed by the Japanese Society of Echocardiography. *Eur J Echocardiogr* 2011; 12: 167-205
13. Sugimoto T, Dulgheru R, Bernard A, Ilardi F, Contu L, Addetia K, Caballero L, Akhaladze N, Athanassopoulos GD, Barone D, Baroni M, Cardim N, Hagendorff A, Hristova K, Lopez T, de la Morena G, Popescu BA, Moonen M, Penicka M, Ozyigit T, Rodrigo Carbonero JD, van de Veire N, von Bardeleben RS, Vinereanu D, Zamorano JL, Go YY, Rosca M, Calin A, Magne J, Cosyns B, Marchetta S, Donal E, Habib G, Galderisi M, Badano LP, Lang RM, Lancellotti P. Echocardiographic reference ranges for normal left ventricular 2D strain: results from the EACVI NORRE study. *European heart journal cardiovascular Imaging* 2017; 18: 833-840
14. Patterson SW, Starling EH. On the mechanical factors which determine the output of the ventricles. *J Physiol* 1914; 48: 357-379
15. Guyton AC. Determination of cardiac output by equating venous return curves with cardiac response curves. *Physiol Rev* 1955; 35: 123-129
16. Frank O. Zur Dynamik des Herzmuskels. *Z Biol* 1895; 32: 370-437
17. Wiggers CJ. Determinants of cardiac performance. *Circulation* 1951; 4: 485-495
18. Wiggers CJ. Dynamics of ventricular contraction under abnormal conditions. *Circulation* 1952; 5: 321-348
19. Suga H, Sagawa K. Instantaneous pressure-volume relationships and their ratio in the excised, supported canine left ventricle. *Circ Res* 1974; 35: 117-126

20. Paulus WJ, Claes VA, Brutsaert DL. End-systolic pressure-volume relation estimated from physiologically loaded cat papillary muscle contractions. *Circ Res* 1980; 47: 20-26
21. Kass DA, Maughan WL. From 'Emax' to pressure-volume relations: a broader view. *Circulation* 1988; 77: 1203-1212
22. Wiggers CJ. Studies on the consecutive phases of the cardiac cycle: I. The duration of the consecutive phases of the cardiac cycle and the criteria for their precise determination. *Am J Physiol* 1921; 56: 415-438
23. Belz GG. Elastic properties and Windkessel function of the human aorta. *Cardiovasc Drugs Ther* 1995; 9: 73-83
24. Buckberg GD, Castella M, Gharib M, Saleh S. Active myocyte shortening during the 'isovolumetric relaxation' phase of diastole is responsible for ventricular suction; 'systolic ventricular filling'. *Eur J Cardiothorac Surg* 2006; 29 Suppl 1: S98-106
25. Ingels NB, Jr., Hansen DE, Daughters GT, 2nd, Stinson EB, Alderman EL, Miller DC. Relation between longitudinal, circumferential, and oblique shortening and torsional deformation in the left ventricle of the transplanted human heart. *Circ Res* 1989; 64: 915-927
26. Rademakers FE, Buchalter MB, Rogers WJ, Zerhouni EA, Weisfeldt ML, Weiss JL, Shapiro EP. Dissociation between left ventricular untwisting and filling. Accentuation by catecholamines. *Circulation* 1992; 85: 1572-1581
27. Brutsaert DL, Sys SU, Gillebert TC. Diastolic failure: pathophysiology and therapeutic implications. *J Am Coll Cardiol* 1993; 22: 318-325
28. Brutsaert DL, Sys SU. Relaxation and diastole of the heart. *Physiol Rev* 1989; 69: 1228-1315
29. Helmes M, Trombitas K, Granzier H. Titin develops restoring force in rat cardiac myocytes. *Circ Res* 1996; 79: 619-626
30. Granzier HL, Labeit S. The giant protein titin: a major player in myocardial mechanics, signaling, and disease. *Circ Res* 2004; 94: 284-295
31. Zile MR, Brutsaert DL. New concepts in diastolic dysfunction and diastolic heart failure: Part II: causal mechanisms and treatment. *Circulation* 2002; 105: 1503-1508
32. Yamasaki R, Wu Y, McNabb M, Greaser M, Labeit S, Granzier H. Protein kinase A phosphorylates titin's cardiac-specific N2B domain and reduces passive tension in rat cardiac myocytes. *Circ Res* 2002; 90: 1181-1188
33. Cowell JW, Nikolic S, LeWinter M, Ingels NB, Yellin EL, Hunter WC, Ter Keurs HE, Suga H, Hansen DE, Shapiro EE, Feneley MP, Beyar R, Arts T, Baan J, Thomas JD, Kovacs SJ, Jr. Restoring forces. 1995.
34. Torrent-Guasp F, Ballester M, Buckberg GD, Carreras F, Flotats A, Carrio I, Ferreira A, Samuels LE, Narula J. Spatial orientation of the ventricular muscle band: physiologic contribution and surgical implications. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2001; 122: 389-392
35. Torrent-Guasp F, Buckberg GD, Clemente C, Cox JL, Coghlan HC, Gharib M. The structure and function of the helical heart and its buttress wrapping. I. The normal macroscopic structure of the heart. *Semin Thorac Cardiovasc Surg* 2001; 13: 301-319
36. Cowey JB. The structure and function of the basement membrane muscle system in amphiporus (Nemertea). *Quart J Micro Sc* 1952; 93: 1-15
37. Mekkaoui C, Huang S, Chen HH, Dai G, Reese TG, Kostis WJ, Thiagalingam A, Maurovich-Horvat P, Ruskin JN, Hoffmann U, Jackowski MP, Sosnovik DE. Fiber architecture in remodeled myocardium revealed with a quantitative diffusion CMR tractography framework and histological validation. *J Cardiovasc Magn Reson* 2012; 14: 70

38. Poveda F, Marti E, Gil D, Carreras F, Ballester M. Helical structure of ventricular anatomy by diffusion tensor cardiac MR tractography. *JACC Cardiovasc Imaging* 2012; 5: 754-755
39. Brecher GA. Venous return. 1956.
40. Spotnitz HM. Macro design, structure, and mechanics of the left ventricle. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2000; 119: 1053-1077
41. Buckberg GD, Coghlan HC, Torrent-Guasp F. The structure and function of the helical heart and its buttress wrapping. V. Anatomic and physiologic considerations in the healthy and failing heart. *Semin Thorac Cardiovasc Surg* 2001; 13: 358-385
42. Ballester-Rodes M, Flotats A, Torrent-Guasp F, Ballester-Alomar M, Carreras F, Ferreira A, Narula J. Base-to-apex ventricular activation: Fourier studies in 29 normal individuals. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2005; 32: 1481-1483
43. Buckberg GD, Clemente C, Cox JL, Coghlan HC, Castella M, Torrent-Guasp F, Gharib M. The structure and function of the helical heart and its buttress wrapping. IV. Concepts of dynamic function from the normal macroscopic helical structure. *Semin Thorac Cardiovasc Surg* 2001; 13: 342-357
44. Coghlan HC, Coghlan AR, Buckberg GD, Gharib M, Cox JL. The structure and function of the helical heart and its buttress wrapping. III. The electric spiral of the heart: The hypothesis of the anisotropic conducting matrix. *Semin Thorac Cardiovasc Surg* 2001; 13: 333-341
45. Buckberg GD. Basic science review: the helix and the heart. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2002; 124: 863-883
46. Torrent-Guasp F, Kocica MJ, Corno A, Komeda M, Cox J, Flotats A, Ballester-Rodes M, Carreras-Costa F. Systolic ventricular filling. *Eur J Cardiothorac Surg* 2004; 25: 376-386
47. Brutsaert DL, Rademakers FE, Sys SU. Triple control of relaxation: implications in cardiac disease. *Circulation* 1984; 69: 190-196
48. Brutsaert DL. Nonuniformity: a physiologic modulator of contraction and relaxation of the normal heart. *J Am Coll Cardiol* 1987; 9: 341-348
49. Glasson JR, Komeda M, Daughters GT, 2nd, Bolger AF, Maclsaac A, Oesterle SN, Ingels NB, Jr., Miller DC. Three-dimensional dynamics of the canine mitral annulus during ischemic mitral regurgitation. *Ann Thorac Surg* 1996; 62: 1059-1067; discussion 1067-1058
50. Karwatowski SP, Brecker SJ, Yang GZ, Firmin DN, St John Sutton M, Underwood SR. A comparison of left ventricular myocardial velocity in diastole measured by magnetic resonance and left ventricular filling measured by Doppler echocardiography. *Eur Heart J* 1996; 17: 795-802
51. Rademakers FE, Bogaert J. Left ventricular myocardial tagging. *Int J Card Imaging* 1997; 13: 233-245
52. Lorenz CH, Pastorek JS, Bundy JM. Delineation of normal human left ventricular twist throughout systole by tagged cine magnetic resonance imaging. *J Cardiovasc Magn Reson* 2000; 2: 97-108
53. Taber LA, Yang M, Podszus WW. Mechanics of ventricular torsion. *J Biomech* 1996; 29: 745-752
54. Beyar R, Sideman S. Effect of the twisting motion on the nonuniformities of transmural fiber mechanics and energy demand--a theoretical study. *IEEE Trans Biomed Eng* 1985; 32: 764-769
55. Esch BT, Warburton DE. Left ventricular torsion and recoil: implications for exercise performance and cardiovascular disease. *J Appl Physiol (1985)* 2009; 106: 362-369
56. Dong SJ, Hees PS, Huang WM, Buffer SA, Jr., Weiss JL, Shapiro EP. Independent effects of preload, afterload, and contractility on left ventricular torsion. *Am J Physiol* 1999; 277: H1053-1060

57. Aelen FW, Arts T, Sanders DG, Thelissen GR, Muijtjens AM, Prinzen FW, Reneman RS. Relation between torsion and cross-sectional area change in the human left ventricle. *J Biomech* 1997; 30: 207-212
58. Vendelin M, Bovendeerd PH, Engelbrecht J, Arts T. Optimizing ventricular fibers: uniform strain or stress, but not ATP consumption, leads to high efficiency. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002; 283: H1072-1081
59. Sallin EA. Fiber orientation and ejection fraction in the human left ventricle. *Biophys J* 1969; 9: 954-964
60. Notomi Y, Martin-Miklovic MG, Oryszak SJ, Shiota T, Deserranno D, Popovic ZB, Garcia MJ, Greenberg NL, Thomas JD. Enhanced ventricular untwisting during exercise: a mechanistic manifestation of elastic recoil described by Doppler tissue imaging. *Circulation* 2006; 113: 2524-2533
61. Notomi Y, Popovic ZB, Yamada H, Wallick DW, Martin MG, Oryszak SJ, Shiota T, Greenberg NL, Thomas JD. Ventricular untwisting: a temporal link between left ventricular relaxation and suction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2008; 294: H505-513
62. Greenbaum RA, Ho SY, Gibson DG, Becker AE, Anderson RH. Left ventricular fibre architecture in man. *Br Heart J* 1981; 45: 248-263
63. Nielsen PM, Le Grice IJ, Smaill BH, Hunter PJ. Mathematical model of geometry and fibrous structure of the heart. *Am J Physiol* 1991; 260: H1365-1378
64. Gibbons Kroeker CA, Ter Keurs HE, Knudtson ML, Tyberg JV, Beyar R. An optical device to measure the dynamics of apex rotation of the left ventricle. *Am J Physiol* 1993; 265: H1444-1449
65. Sengupta PP, Khandheria BK, Korinek J, Wang J, Jahangir A, Seward JB, Belohlavek M. Apex-to-base dispersion in regional timing of left ventricular shortening and lengthening. *J Am Coll Cardiol* 2006; 47: 163-172
66. Bloechlinger S, Grander W, Bryner J, Dunser MW. Left ventricular rotation: a neglected aspect of the cardiac cycle. *Intensive Care Med* 2011; 37: 156-163
67. Helle-Valle T, Crosby J, Edvardsen T, Lyseggen E, Amundsen BH, Smith HJ, Rosen BD, Lima JA, Torp H, Ihlen H, Smiseth OA. New noninvasive method for assessment of left ventricular rotation: speckle tracking echocardiography. *Circulation* 2005; 112: 3149-3156
68. Kim HK, Sohn DW, Lee SE, Choi SY, Park JS, Kim YJ, Oh BH, Park YB, Choi YS. Assessment of left ventricular rotation and torsion with two-dimensional speckle tracking echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr* 2007; 20: 45-53
69. Jung B, Markl M, Foll D, Hennig J. Investigating myocardial motion by MRI using tissue phase mapping. *Eur J Cardiothorac Surg* 2006; 29 Suppl 1: S150-157
70. Ashikaga H, Coppola BA, Hopenfeld B, Leifer ES, McVeigh ER, Omens JH. Transmural dispersion of myofiber mechanics: implications for electrical heterogeneity in vivo. *J Am Coll Cardiol* 2007; 49: 909-916
71. Kroeker CA, Tyberg JV, Beyar R. Effects of ischemia on left ventricular apex rotation. An experimental study in anesthetized dogs. *Circulation* 1995; 92: 3539-3548
72. Opdahl A, Helle-Valle T, Remme EW, Vartdal T, Pettersen E, Lunde K, Edvardsen T, Smiseth OA. Apical rotation by speckle tracking echocardiography: a simplified bedside index of left ventricular twist. *J Am Soc Echocardiogr* 2008; 21: 1121-1128
73. Helmes M, Lim CC, Liao R, Bharti A, Cui L, Sawyer DB. Titin determines the Frank-Starling relation in early diastole. *J Gen Physiol* 2003; 121: 97-110

74. Ashikaga H, Criscione JC, Omens JH, Covell JW, Ingels NB, Jr. Transmural left ventricular mechanics underlying torsional recoil during relaxation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004; 286: H640-647
75. Burns AT, La Gerche A, Prior DL, Macisaac AI. Left ventricular untwisting is an important determinant of early diastolic function. *JACC Cardiovasc Imaging* 2009; 2: 709-716
76. Doucende G, Schuster I, Rupp T, Startun A, Dauzat M, Obert P, Nottin S. Kinetics of left ventricular strains and torsion during incremental exercise in healthy subjects: the key role of torsional mechanics for systolic-diastolic coupling. *Circ Cardiovasc Imaging* 2010; 3: 586-594
77. Stohr EJ, Gonzalez-Alonso J, Shave R. Left ventricular mechanical limitations to stroke volume in healthy humans during incremental exercise. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2011; 301: H478-487
78. Soullier C, Obert P, Doucende G, Nottin S, Cade S, Perez-Martin A, Messner-Pellenc P, Schuster I. Exercise response in hypertrophic cardiomyopathy: blunted left ventricular deformational and twisting reserve with altered systolic-diastolic coupling. *Circ Cardiovasc Imaging* 2012; 5: 324-332
79. Fabiato A. Calcium-induced release of calcium from the cardiac sarcoplasmic reticulum. *Am J Physiol* 1983; 245: C1-14
80. Bers DM. Macromolecular complexes regulating cardiac ryanodine receptor function. *J Mol Cell Cardiol* 2004; 37: 417-429
81. Bers DM. Cardiac excitation-contraction coupling. *Nature* 2002; 415: 198-205
82. Cleemann L, Morad M. Role of Ca<sup>2+</sup> channel in cardiac excitation-contraction coupling in the rat: evidence from Ca<sup>2+</sup> transients and contraction. *J Physiol* 1991; 432: 283-312
83. Cheng H, Lederer WJ, Cannell MB. Calcium sparks: elementary events underlying excitation-contraction coupling in heart muscle. *Science* 1993; 262: 740-744
84. Wu Y, Cazorla O, Labeit D, Labeit S, Granzier H. Changes in titin and collagen underlie diastolic stiffness diversity of cardiac muscle. *J Mol Cell Cardiol* 2000; 32: 2151-2162
85. Lahmers S, Wu Y, Call DR, Labeit S, Granzier H. Developmental control of titin isoform expression and passive stiffness in fetal and neonatal myocardium. *Circ Res* 2004; 94: 505-513
86. Linke WA, Popov VI, Pollack GH. Passive and active tension in single cardiac myofibrils. *Biophys J* 1994; 67: 782-792
87. Granzier HL, Irving TC. Passive tension in cardiac muscle: contribution of collagen, titin, microtubules, and intermediate filaments. *Biophys J* 1995; 68: 1027-1044
88. LeWinter MM, Granzier H. Cardiac titin: a multifunctional giant. *Circulation* 2010; 121: 2137-2145
89. LeWinter MM, Granzier HL. Titin is a major human disease gene. *Circulation* 2013; 127: 938-944
90. Linke WA, Hamdani N. Gigantic business: titin properties and function through thick and thin. *Circ Res* 2014; 114: 1052-1068
91. Hamdani N, Kooij V, van Dijk S, Merkus D, Paulus WJ, Remedios CD, Duncker DJ, Stienen GJ, van der Velden J. Sarcomeric dysfunction in heart failure. *Cardiovasc Res* 2008; 77: 649-658
92. Bers DM. Calcium cycling and signaling in cardiac myocytes. *Annu Rev Physiol* 2008; 70: 23-49
93. Goldstein MA, Entman ML. Microtubules in mammalian heart muscle. *J Cell Biol* 1979; 80: 183-195
94. Ferrans VJ, Roberts WC. Intermyofibrillar and nuclear-myofibrillar connections in human and canine myocardium. An ultrastructural study. *J Mol Cell Cardiol* 1973; 5: 247-257

95. Hirako Y, Yamakawa H, Tsujimura Y, Nishizawa Y, Okumura M, Usukura J, Matsumoto H, Jackson KW, Owaribe K, Ohara O. Characterization of mammalian synemin, an intermediate filament protein present in all four classes of muscle cells and some neuroglial cells: co-localization and interaction with type III intermediate filament proteins and keratins. *Cell Tissue Res* 2003; 313: 195-207
96. Ausma J, van Eys GJ, Broers JL, Thone F, Flameng W, Ramaekers FC, Borgers M. Nuclear lamin expression in chronic hibernating myocardium in man. *J Mol Cell Cardiol* 1996; 28: 1297-1305
97. Hansen DE, Daughters GT, 2nd, Alderman EL, Stinson EB, Baldwin JC, Miller DC. Effect of acute human cardiac allograft rejection on left ventricular systolic torsion and diastolic recoil measured by intramyocardial markers. *Circulation* 1987; 76: 998-1008
98. Hansen DE, Daughters GT, 2nd, Alderman EL, Ingels NB, Jr., Miller DC. Torsional deformation of the left ventricular midwall in human hearts with intramyocardial markers: regional heterogeneity and sensitivity to the inotropic effects of abrupt rate changes. *Circ Res* 1988; 62: 941-952
99. Moon MR, Ingels NB, Jr., Daughters GT, 2nd, Stinson EB, Hansen DE, Miller DC. Alterations in left ventricular twist mechanics with inotropic stimulation and volume loading in human subjects. *Circulation* 1994; 89: 142-150
100. Gorman JH, 3rd, Gupta KB, Streicher JT, Gorman RC, Jackson BM, Ratcliffe MB, Bogen DK, Edmunds LH, Jr. Dynamic three-dimensional imaging of the mitral valve and left ventricle by rapid sonomicrometry array localization. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1996; 112: 712-726
101. Bell SP, Nyland L, Tischler MD, McNabb M, Granzier H, LeWinter MM. Alterations in the determinants of diastolic suction during pacing tachycardia. *Circ Res* 2000; 87: 235-240
102. Buchalter MB, Weiss JL, Rogers WJ, Zerhouni EA, Weisfeldt ML, Beyar R, Shapiro EP. Noninvasive quantification of left ventricular rotational deformation in normal humans using magnetic resonance imaging myocardial tagging. *Circulation* 1990; 81: 1236-1244
103. Buchalter MB, Rademakers FE, Weiss JL, Rogers WJ, Weisfeldt ML, Shapiro EP. Rotational deformation of the canine left ventricle measured by magnetic resonance tagging: effects of catecholamines, ischaemia, and pacing. *Cardiovasc Res* 1994; 28: 629-635
104. Zwanenburg JJ, Kuijter JP, Marcus JT, Heethaar RM. Steady-state free precession with myocardial tagging: CSPAMM in a single breathhold. *Magn Reson Med* 2003; 49: 722-730
105. Young AA, Cowan BR. Evaluation of left ventricular torsion by cardiovascular magnetic resonance. *J Cardiovasc Magn Reson* 2012; 14: 49
106. Notomi Y, Setser RM, Shiota T, Martin-Miklovic MG, Weaver JA, Popovic ZB, Yamada H, Greenberg NL, White RD, Thomas JD. Assessment of left ventricular torsional deformation by Doppler tissue imaging: validation study with tagged magnetic resonance imaging. *Circulation* 2005; 111: 1141-1147
107. Notomi Y, Lysyansky P, Setser RM, Shiota T, Popovic ZB, Martin-Miklovic MG, Weaver JA, Orszak SJ, Greenberg NL, White RD, Thomas JD. Measurement of ventricular torsion by two-dimensional ultrasound speckle tracking imaging. *J Am Coll Cardiol* 2005; 45: 2034-2041
108. Urheim S, Edvardsen T, Torp H, Angelsen B, Smiseth OA. Myocardial strain by Doppler echocardiography. Validation of a new method to quantify regional myocardial function. *Circulation* 2000; 102: 1158-1164
109. Edvardsen T, Gerber BL, Garot J, Bluemke DA, Lima JA, Smiseth OA. Quantitative assessment of intrinsic regional myocardial deformation by Doppler strain rate echocardiography in humans: validation against three-dimensional tagged magnetic resonance imaging. *Circulation* 2002; 106: 50-56

110. Langeland S, D'Hooge J, Wouters PF, Leather HA, Claus P, Bijmens B, Sutherland GR. Experimental validation of a new ultrasound method for the simultaneous assessment of radial and longitudinal myocardial deformation independent of insonation angle. *Circulation* 2005; 112: 2157-2162
111. Leung DY, Ng AC. Emerging clinical role of strain imaging in echocardiography. *Heart Lung Circ* 2010; 19: 161-174
112. Leitman M, Lysyansky P, Sidenko S, Shir V, Peleg E, Binenbaum M, Kaluski E, Krakover R, Vered Z. Two-dimensional strain-a novel software for real-time quantitative echocardiographic assessment of myocardial function. *J Am Soc Echocardiogr* 2004; 17: 1021-1029
113. Reisner SA, Lysyansky P, Agmon Y, Mutlak D, Lessick J, Friedman Z. Global longitudinal strain: a novel index of left ventricular systolic function. *J Am Soc Echocardiogr* 2004; 17: 630-633
114. Blessberger H, Binder T. NON-invasive imaging: Two dimensional speckle tracking echocardiography: basic principles. *Heart* 2010; 96: 716-722
115. Behar V, Adam D, Lysyansky P, Friedman Z. The combined effect of nonlinear filtration and window size on the accuracy of tissue displacement estimation using detected echo signals. *Ultrasonics* 2004; 41: 743-753
116. Burns AT, McDonald IG, Thomas JD, Macisaac A, Prior D. Doin' the twist: new tools for an old concept of myocardial function. *Heart* 2008; 94: 978-983
117. Amundsen BH, Helle-Valle T, Edvardsen T, Torp H, Crosby J, Lyseggen E, Stoylen A, Ihlen H, Lima JA, Smiseth OA, Slordahl SA. Noninvasive myocardial strain measurement by speckle tracking echocardiography: validation against sonomicrometry and tagged magnetic resonance imaging. *J Am Coll Cardiol* 2006; 47: 789-793
118. Belghitia H, Brette S, Lafitte S, Reant P, Picard F, Serri K, Lafitte M, Courregelongue M, Dos Santos P, Douard H, Roudaut R, DeMaria A. Automated function imaging: a new operator-independent strain method for assessing left ventricular function. *Arch Cardiovasc Dis* 2008; 101: 163-169
119. Hurlburt HM, Aurigemma GP, Hill JC, Narayanan A, Gaasch WH, Vinch CS, Meyer TE, Tighe DA. Direct ultrasound measurement of longitudinal, circumferential, and radial strain using 2-dimensional strain imaging in normal adults. *Echocardiography* 2007; 24: 723-731
120. Hasegawa T, Nakatani S, Kanzaki H, Abe H, Kitakaze M. Heterogeneous onset of myocardial relaxation in subendocardial and subepicardial layers assessed with tissue strain imaging: comparison of normal and hypertrophied myocardium. *JACC Cardiovasc Imaging* 2009; 2: 701-708
121. van Dalen BM, Vletter WB, Soliman OI, ten Cate FJ, Geleijnse ML. Importance of transducer position in the assessment of apical rotation by speckle tracking echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr* 2008; 21: 895-898
122. Ashraf M, Myronenko A, Nguyen T, Inage A, Smith W, Lowe RI, Thiele K, Gibbons Kroeker CA, Tyberg JV, Smallhorn JF, Sahn DJ, Song X. Defining left ventricular apex-to-base twist mechanics computed from high-resolution 3D echocardiography: validation against sonomicrometry. *JACC Cardiovasc Imaging* 2010; 3: 227-234
123. Geyer H, Caracciolo G, Abe H, Wilansky S, Carerj S, Gentile F, Nesser HJ, Khandheria B, Narula J, Sengupta PP. Assessment of myocardial mechanics using speckle tracking echocardiography: fundamentals and clinical applications. *J Am Soc Echocardiogr* 2010; 23: 351-369; quiz 453-355

124. Lilli A, Baratto MT, Del Meglio J, Chioccioli M, Magnacca M, Talini E, Canale ML, Poddighe R, Comella A, Casolo G. Left ventricular rotation and twist assessed by four-dimensional speckle tracking echocardiography in healthy subjects and pathological remodeling: a single center experience. *Echocardiography* 2013; 30: 171-179
125. Risum N, Ali S, Olsen NT, Jons C, Khouri MG, Lauridsen TK, Samad Z, Velazquez EJ, Sogaard P, Kisslo J. Variability of global left ventricular deformation analysis using vendor dependent and independent two-dimensional speckle-tracking software in adults. *J Am Soc Echocardiogr* 2012; 25: 1195-1203
126. Badano LP, Cucchini U, Muraru D, Al Nono O, Sarais C, Iliceto S. Use of three-dimensional speckle tracking to assess left ventricular myocardial mechanics: inter-vendor consistency and reproducibility of strain measurements. *European heart journal cardiovascular Imaging* 2013; 14: 285-293
127. Gibbons Kroeker CA, Tyberg JV, Beyar R. Effects of load manipulations, heart rate, and contractility on left ventricular apical rotation. An experimental study in anesthetized dogs. *Circulation* 1995; 92: 130-141
128. MacGowan GA, Burkhoff D, Rogers WJ, Salvador D, Azhari H, Hees PS, Zweier JL, Halperin HR, Siu CO, Lima JA, Weiss JL, Shapiro EP. Effects of afterload on regional left ventricular torsion. *Cardiovasc Res* 1996; 31: 917-925
129. Weiner RB, Weyman AE, Khan AM, Reingold JS, Chen-Tournoux AA, Scherrer-Crosbie M, Picard MH, Wang TJ, Baggish AL. Preload dependency of left ventricular torsion: the impact of normal saline infusion. *Circ Cardiovasc Imaging* 2010; 3: 672-678
130. Park SJ, Nishimura RA, Borlaug BA, Sorajja P, Oh JK. The effect of loading alterations on left ventricular torsion: a simultaneous catheterization and two-dimensional speckle tracking echocardiographic study. *Eur J Echocardiogr* 2010; 11: 770-777
131. Burns AT, La Gerche A, Prior DL, Macisaac AI. Left ventricular torsion parameters are affected by acute changes in load. *Echocardiography* 2010; 27: 407-414
132. Weiner RB, Weyman AE, Kim JH, Wang TJ, Picard MH, Baggish AL. The impact of isometric handgrip testing on left ventricular twist mechanics. *J Physiol* 2012; 590: 5141-5150
133. Patterson SW, Piper H, Starling EH. The regulation of the heart beat. *J Physiol* 1914; 48: 465-513
134. Sonnenblick EH. Force-velocity relations in mammalian heart muscle. *Am J Physiol* 1962; 202: 931-939
135. Opdahl A, Remme EW, Helle-Valle T, Edvardsen T, Smiseth OA. Myocardial relaxation, restoring forces, and early-diastolic load are independent determinants of left ventricular untwisting rate. *Circulation* 2012; 126: 1441-1451
136. Dong SJ, Hees PS, Siu CO, Weiss JL, Shapiro EP. MRI assessment of LV relaxation by untwisting rate: a new isovolumic phase measure of tau. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001; 281: H2002-2009
137. Hansen DE, Daughters GT, 2nd, Alderman EL, Ingels NB, Stinson EB, Miller DC. Effect of volume loading, pressure loading, and inotropic stimulation on left ventricular torsion in humans. *Circulation* 1991; 83: 1315-1326
138. Wang J, Khoury DS, Yue Y, Torre-Amione G, Nagueh SF. Left ventricular untwisting rate by speckle tracking echocardiography. *Circulation* 2007; 116: 2580-2586
139. Kim WJ, Lee BH, Kim YJ, Kang JH, Jung YJ, Song JM, Kang DH, Song JK. Apical rotation assessed by speckle-tracking echocardiography as an index of global left ventricular contractility. *Circ Cardiovasc Imaging* 2009; 2: 123-131

140. Stohr EJ, McDonnell B, Thompson J, Stone K, Bull T, Houston R, Cockcroft J, Shave R. Left ventricular mechanics in humans with high aerobic fitness: adaptation independent of structural remodelling, arterial haemodynamics and heart rate. *J Physiol* 2012; 590: 2107-2119
141. Burns AT, La Gerche A, Maclsaac AI, Prior DL. Augmentation of left ventricular torsion with exercise is attenuated with age. *J Am Soc Echocardiogr* 2008; 21: 315-320
142. Tan YT, Wenzelburger F, Lee E, Heatlie G, Leyva F, Patel K, Frenneaux M, Sanderson JE. The pathophysiology of heart failure with normal ejection fraction: exercise echocardiography reveals complex abnormalities of both systolic and diastolic ventricular function involving torsion, untwist, and longitudinal motion. *J Am Coll Cardiol* 2009; 54: 36-46
143. Weiner RB, Hutter AM, Jr., Wang F, Kim J, Weyman AE, Wood MJ, Picard MH, Baggish AL. The impact of endurance exercise training on left ventricular torsion. *JACC Cardiovasc Imaging* 2010; 3: 1001-1009
144. Maufrais C, Schuster I, Doucende G, Vitiello D, Rupp T, Dauzat M, Obert P, Nottin S. Endurance training minimizes age-related changes of left ventricular twist-untwist mechanics. *J Am Soc Echocardiogr* 2014; 27: 1208-1215
145. Zocalo Y, Bia D, Armentano RL, Arias L, Lopez C, Etchart C, Guevara E. Assessment of training-dependent changes in the left ventricle torsion dynamics of professional soccer players using speckle-tracking echocardiography. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc* 2007; 2007: 2709-2712
146. Nottin S, Doucende G, Schuster-Beck I, Dauzat M, Obert P. Alteration in left ventricular normal and shear strains evaluated by 2D-strain echocardiography in the athlete's heart. *J Physiol* 2008; 586: 4721-4733
147. Notomi Y, Srinath G, Shiota T, Martin-Miklovic MG, Beachler L, Howell K, Oryszak SJ, Deserranno DG, Freed AD, Greenberg NL, Younoszai A, Thomas JD. Maturational and adaptive modulation of left ventricular torsional biomechanics: Doppler tissue imaging observation from infancy to adulthood. *Circulation* 2006; 113: 2534-2541
148. Takahashi K, Al Naami G, Thompson R, Inage A, Mackie AS, Smallhorn JF. Normal rotational, torsion and untwisting data in children, adolescents and young adults. *J Am Soc Echocardiogr* 2010; 23: 286-293
149. Fujimoto N, Hastings JL, Bhella PS, Shibata S, Gandhi NK, Carrick-Ranson G, Palmer D, Levine BD. Effect of ageing on left ventricular compliance and distensibility in healthy sedentary humans. *J Physiol* 2012; 590: 1871-1880
150. Lakatta EG, Levy D. Arterial and cardiac aging: major shareholders in cardiovascular disease enterprises: Part II: the aging heart in health: links to heart disease. *Circulation* 2003; 107: 346-354
151. McEniery CM, Yasmin, Hall IR, Qasem A, Wilkinson IB, Cockcroft JR, Investigators A. Normal vascular aging: differential effects on wave reflection and aortic pulse wave velocity: the Anglo-Cardiff Collaborative Trial (ACCT). *J Am Coll Cardiol* 2005; 46: 1753-1760
152. Fonseca CG, Oxenham HC, Cowan BR, Occleshaw CJ, Young AA. Aging alters patterns of regional nonuniformity in LV strain relaxation: a 3-D MR tissue tagging study. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003; 285: H621-630
153. Oxenham HC, Young AA, Cowan BR, Gentles TL, Occleshaw CJ, Fonseca CG, Doughty RN, Sharpe N. Age-related changes in myocardial relaxation using three-dimensional tagged magnetic resonance imaging. *J Cardiovasc Magn Reson* 2003; 5: 421-430
154. Lumens J, Delhaas T, Arts T, Cowan BR, Young AA. Impaired subendocardial contractile myofiber function in asymptomatic aged humans, as detected using MRI. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006; 291: H1573-1579

155. Nakai H, Takeuchi M, Nishikage T, Kokumai M, Otani S, Lang RM. Effect of aging on twist-displacement loop by 2-dimensional speckle tracking imaging. *J Am Soc Echocardiogr* 2006; 19: 880-885
156. Takeuchi M, Nakai H, Kokumai M, Nishikage T, Otani S, Lang RM. Age-related changes in left ventricular twist assessed by two-dimensional speckle-tracking imaging. *J Am Soc Echocardiogr* 2006; 19: 1077-1084
157. van Dalen BM, Soliman OI, Vletter WB, ten Cate FJ, Geleijnse ML. Age-related changes in the biomechanics of left ventricular twist measured by speckle tracking echocardiography. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2008; 295: H1705-1711
158. Al-Naami GH. Torsion of young hearts: a speckle tracking study of normal infants, children, and adolescents. *Eur J Echocardiogr* 2010; 11: 853-862
159. Zhang Y, Zhou QC, Pu DR, Zou L, Tan Y. Differences in left ventricular twist related to age: speckle tracking echocardiographic data for healthy volunteers from neonate to age 70 years. *Echocardiography* 2010; 27: 1205-1210
160. Hollingsworth KG, Blamire AM, Keavney BD, Macgowan GA. Left ventricular torsion, energetics, and diastolic function in normal human aging. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2012; 302: H885-892
161. Yoneyama K, Gjesdal O, Choi EY, Wu CO, Hundley WG, Gomes AS, Liu CY, McClelland RL, Bluemke DA, Lima JA. Age, sex, and hypertension-related remodeling influences left ventricular torsion assessed by tagged cardiac magnetic resonance in asymptomatic individuals: the multi-ethnic study of atherosclerosis. *Circulation* 2012; 126: 2481-2490
162. van Dalen BM, Soliman OI, Kauer F, Vletter WB, Zwaan HB, Cate FJ, Geleijnse ML. Alterations in left ventricular untwisting with ageing. *Circulation journal : official journal of the Japanese Circulation Society* 2010; 74: 101-108
163. Omar AM, Vallabhajosyula S, Sengupta PP. Left ventricular twist and torsion: research observations and clinical applications. *Circ Cardiovasc Imaging* 2015; 8
164. Young AA, Kramer CM, Ferrari VA, Axel L, Reichek N. Three-dimensional left ventricular deformation in hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation* 1994; 90: 854-867
165. Abozguia K, Nallur-Shivu G, Phan TT, Ahmed I, Kalra R, Weaver RA, McKenna WJ, Sanderson JE, Elliott P, Frenneaux MP. Left ventricular strain and untwist in hypertrophic cardiomyopathy: relation to exercise capacity. *Am Heart J* 2010; 159: 825-832
166. Kauer F, van Dalen BM, Soliman OI, van der Zwaan HB, Vletter WB, Schinkel AF, ten Cate FJ, Geleijnse ML. Regional left ventricular rotation and back-rotation in patients with reverse septal curvature hypertrophic cardiomyopathy. *European heart journal cardiovascular Imaging* 2013; 14: 435-442
167. Nucifora G, Muser D, Morocutti G, Piccoli G, Zanuttini D, Gianfagna P, Proclemer A. Disease-specific differences of left ventricular rotational mechanics between cardiac amyloidosis and hypertrophic cardiomyopathy. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2014; 307: H680-688
168. Urbano Moral JA, Arias Godinez JA, Maron MS, Malik R, Eagan JE, Patel AR, Pandian NG. Left ventricular twist mechanics in hypertrophic cardiomyopathy assessed by three-dimensional speckle tracking echocardiography. *The American journal of cardiology* 2011; 108: 1788-1795
169. van Dalen BM, Kauer F, Soliman OI, Vletter WB, Michels M, ten Cate FJ, Geleijnse ML. Influence of the pattern of hypertrophy on left ventricular twist in hypertrophic cardiomyopathy. *Heart* 2009; 95: 657-661

170. Zhang HJ, Wang H, Sun T, Lu MJ, Xu N, Wu WC, Sun X, Wang WG, Lin QW. Assessment of left ventricular twist mechanics by speckle tracking echocardiography reveals association between LV twist and myocardial fibrosis in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Int J Cardiovasc Imaging* 2014; 30: 1539-1548
171. Cecchi F, Olivotto I, Gistri R, Lorenzoni R, Chiriatti G, Camici PG. Coronary microvascular dysfunction and prognosis in hypertrophic cardiomyopathy. *N Engl J Med* 2003; 349: 1027-1035
172. Tigen K, Sunbul M, Karaahmet T, Dundar C, Ozben B, Guler A, Cincin A, Bulut M, Sari I, Basaran Y. Left ventricular and atrial functions in hypertrophic cardiomyopathy patients with very high LVOT gradient: a speckle tracking echocardiographic study. *Echocardiography* 2014; 31: 833-841
173. Forsey J, Benson L, Rozenblyum E, Friedberg MK, Mertens L. Early changes in apical rotation in genotype positive children with hypertrophic cardiomyopathy mutations without hypertrophic changes on two-dimensional imaging. *J Am Soc Echocardiogr* 2014; 27: 215-221
174. van Dalen BM, Kauer F, Michels M, Soliman OI, Vletter WB, van der Zwaan HB, ten Cate FJ, Geleijnse ML. Delayed left ventricular untwisting in hypertrophic cardiomyopathy. *J Am Soc Echocardiogr* 2009; 22: 1320-1326
175. Wang J, Buergler JM, Veerasamy K, Ashton YP, Nagueh SF. Delayed untwisting: the mechanistic link between dynamic obstruction and exercise tolerance in patients with hypertrophic obstructive cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 2009; 54: 1326-1334
176. Kanzaki H, Nakatani S, Yamada N, Urayama S, Miyatake K, Kitakaze M. Impaired systolic torsion in dilated cardiomyopathy: reversal of apical rotation at mid-systole characterized with magnetic resonance tagging method. *Basic Res Cardiol* 2006; 101: 465-470
177. Pacileo G, Baldini L, Limongelli G, Di Salvo G, Iacomino M, Capogrosso C, Rea A, D'Andrea A, Russo MG, Calabro R. Prolonged left ventricular twist in cardiomyopathies: a potential link between systolic and diastolic dysfunction. *Eur J Echocardiogr* 2011; 12: 841-849
178. Saito M, Okayama H, Nishimura K, Ogimoto A, Ohtsuka T, Inoue K, Hiasa G, Sumimoto T, Funada J, Shigematsu Y, Higaki J. Determinants of left ventricular untwisting behaviour in patients with dilated cardiomyopathy: analysis by two-dimensional speckle tracking. *Heart* 2009; 95: 290-296
179. Popescu BA, Beladan CC, Calin A, Muraru D, Deleanu D, Rosca M, Ginghina C. Left ventricular remodelling and torsional dynamics in dilated cardiomyopathy: reversed apical rotation as a marker of disease severity. *Eur J Heart Fail* 2009; 11: 945-951
180. Meluzin J, Spinarova L, Hude P, Krejci J, Poloczkova H, Podrouzkova H, Pesl M, Orban M, Dusek L, Korinek J. Left ventricular mechanics in idiopathic dilated cardiomyopathy: systolic-diastolic coupling and torsion. *J Am Soc Echocardiogr* 2009; 22: 486-493
181. Trumble DR, McGregor WE, Kerckhoffs RC, Waldman LK. Cardiac assist with a twist: apical torsion as a means to improve failing heart function. *J Biomech Eng* 2011; 133: 101003
182. van Dalen BM, Kauer F, Vletter WB, Soliman OI, van der Zwaan HB, Ten Cate FJ, Geleijnse ML. Influence of cardiac shape on left ventricular twist. *J Appl Physiol (1985)* 2010; 108: 146-151
183. Karaahmet T, Gurel E, Tigen K, Guler A, Dundar C, Fotbolcu H, Basaran Y. The effect of myocardial fibrosis on left ventricular torsion and twist in patients with non-ischemic dilated cardiomyopathy. *Cardiol J* 2013; 20: 276-286
184. Bertini M, Marsan NA, Delgado V, van Bommel RJ, Nucifora G, Borleffs CJ, Boriani G, Biffi M, Holman ER, van der Wall EE, Schalij MJ, Bax JJ. Effects of cardiac resynchronization therapy on left ventricular twist. *J Am Coll Cardiol* 2009; 54: 1317-1325

185. Sato T, Kato TS, Komamura K, Hashimoto S, Shishido T, Mano A, Oda N, Takahashi A, Ishibashi-Ueda H, Nakatani T, Asakura M, Kanzaki H, Hashimura K, Kitakaze M. Utility of left ventricular systolic torsion derived from 2-dimensional speckle-tracking echocardiography in monitoring acute cellular rejection in heart transplant recipients. *J Heart Lung Transplant* 2011; 30: 536-543
186. Takeuchi M, Nishikage T, Nakai H, Kokumai M, Otani S, Lang RM. The assessment of left ventricular twist in anterior wall myocardial infarction using two-dimensional speckle tracking imaging. *J Am Soc Echocardiogr* 2007; 20: 36-44
187. Nucifora G, Marsan NA, Bertini M, Delgado V, Siebelink HM, van Werkhoven JM, Scholte AJ, Schalij MJ, van der Wall EE, Holman ER, Bax JJ. Reduced left ventricular torsion early after myocardial infarction is related to left ventricular remodeling. *Circ Cardiovasc Imaging* 2010; 3: 433-442
188. Garot J, Pascal O, Diebold B, Derumeaux G, Gerber BL, Dubois-Rande JL, Lima JA, Gueret P. Alterations of systolic left ventricular twist after acute myocardial infarction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002; 282: H357-362
189. Bansal M, Leano RL, Marwick TH. Clinical assessment of left ventricular systolic torsion: effects of myocardial infarction and ischemia. *J Am Soc Echocardiogr* 2008; 21: 887-894
190. Bertini M, Delgado V, Nucifora G, Ajmone Marsan N, Ng AC, Shanks M, Antoni ML, van de Veire NR, van Bommel RJ, Rapezzi C, Schalij MJ, Bax JJ. Left ventricular rotational mechanics in patients with coronary artery disease: differences in subendocardial and subepicardial layers. *Heart* 2010; 96: 1737-1743
191. Firstenberg MS, Smedira NG, Greenberg NL, Prior DL, McCarthy PM, Garcia MJ, Thomas JD. Relationship between early diastolic intraventricular pressure gradients, an index of elastic recoil, and improvements in systolic and diastolic function. *Circulation* 2001; 104: I330-335
192. Joyce E, Leong DP, Hoogslag GE, van Herck PL, Debonnaire P, Abate E, Holman ER, Schalij MJ, Bax JJ, Delgado V, Marsan NA. Left ventricular twist during dobutamine stress echocardiography after acute myocardial infarction: association with reverse remodeling. *Int J Cardiovasc Imaging* 2014; 30: 313-322
193. Wang J, Khoury DS, Yue Y, Torre-Amione G, Nagueh SF. Preserved left ventricular twist and circumferential deformation, but depressed longitudinal and radial deformation in patients with diastolic heart failure. *Eur Heart J* 2008; 29: 1283-1289
194. Yip GW, Zhang Q, Xie JM, Liang YJ, Liu YM, Yan B, Lam YY, Yu CM. Resting global and regional left ventricular contractility in patients with heart failure and normal ejection fraction: insights from speckle-tracking echocardiography. *Heart* 2011; 97: 287-294
195. Wang J, Fang F, Yip GW, Sanderson JE, Feng W, Xie JM, Luo XX, Yu CM, Lam YY. Quantification of left ventricular performance in different heart failure phenotypes by comprehensive ergometry stress echocardiography. *Int J Cardiol* 2013; 169: 311-315
196. Sengupta PP, Krishnamoorthy VK, Abhayaratna WP, Korinek J, Belohlavek M, Sundt TM, 3rd, Chandrasekaran K, Mookadam F, Seward JB, Tajik AJ, Khandheria BK. Disparate patterns of left ventricular mechanics differentiate constrictive pericarditis from restrictive cardiomyopathy. *JACC Cardiovasc Imaging* 2008; 1: 29-38
197. Borg AN, Harrison JL, Argyle RA, Ray SG. Left ventricular torsion in primary chronic mitral regurgitation. *Heart* 2008; 94: 597-603
198. Zito C, Carerj S, Todaro MC, Cusma-Piccione M, Caprino A, Di Bella G, Oreto L, Oreto G, Khandheria BK. Myocardial deformation and rotational profiles in mitral valve prolapse. *The American journal of cardiology* 2013; 112: 984-990

199. Kazui T, Niinuma H, Tsuboi J, Okabayashi H. Changes in left ventricular twist after mitral valve repair. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2011; 141: 716-724
200. Tibayan FA, Yun KL, Fann JI, Lai DT, Timek TA, Daughters GT, Ingels NB, Miller DC. Torsion dynamics in the evolution from acute to chronic mitral regurgitation. *J Heart Valve Dis* 2002; 11: 39-46; discussion 46
201. Reyhan M, Wang Z, Li M, Kim HJ, Gupta H, Lloyd SG, Dell'Italia LJ, Denney T, Ennis DB. Left ventricular twist and shear in patients with primary mitral regurgitation. *J Magn Reson Imaging* 2015; 42: 400-406
202. Candan O, Ozdemir N, Aung SM, Bakal RB, Gecmen C, Akpınar SH, Cem D, Onur O, Kaymaz C. Effect of mitral valve repair versus replacement on left ventricular rotational deformation: a study with speckle tracking echocardiography. *J Heart Valve Dis* 2013; 22: 651-659
203. Nagel E, Stuber M, Burkhard B, Fischer SE, Scheidegger MB, Boesiger P, Hess OM. Cardiac rotation and relaxation in patients with aortic valve stenosis. *Eur Heart J* 2000; 21: 582-589
204. Stuber M, Scheidegger MB, Fischer SE, Nagel E, Steinemann F, Hess OM, Boesiger P. Alterations in the local myocardial motion pattern in patients suffering from pressure overload due to aortic stenosis. *Circulation* 1999; 100: 361-368
205. Van Der Toorn A, Barenbrug P, Snoep G, Van Der Veen FH, Delhaas T, Prinzen FW, Maessen J, Arts T. Transmural gradients of cardiac myofiber shortening in aortic valve stenosis patients using MRI tagging. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002; 283: H1609-1615
206. van Dalen BM, Tzikas A, Soliman OI, Heuvelman HJ, Vletter WB, Ten Cate FJ, Geleijnse ML. Assessment of subendocardial contractile function in aortic stenosis: a study using speckle tracking echocardiography. *Echocardiography* 2013; 30: 293-300
207. van Dalen BM, Tzikas A, Soliman OI, Kauer F, Heuvelman HJ, Vletter WB, ten Cate FJ, Geleijnse ML. Left ventricular twist and untwist in aortic stenosis. *Int J Cardiol* 2011; 148: 319-324
208. Popescu BA, Calin A, Beladan CC, Muraru D, Rosca M, Deleanu D, Lancellotti P, Antonini-Canterin F, Nicolosi GL, Ghingina C. Left ventricular torsional dynamics in aortic stenosis: relationship between left ventricular untwisting and filling pressures. A two-dimensional speckle tracking study. *Eur J Echocardiogr* 2010; 11: 406-413
209. Sandstede JJ, Johnson T, Harre K, Beer M, Hofmann S, Pabst T, Kenn W, Voelker W, Neubauer S, Hahn D. Cardiac systolic rotation and contraction before and after valve replacement for aortic stenosis: a myocardial tagging study using MR imaging. *AJR Am J Roentgenol* 2002; 178: 953-958
210. Lindqvist P, Zhao Y, Bajraktari G, Holmgren A, Henein MY. Aortic valve replacement normalizes left ventricular twist function. *Interact Cardiovasc Thorac Surg* 2011; 12: 701-706
211. Bloechlinger S, Berger D, Bryner J, Roost E, Jakob S, Dunser MW, Takala J. Changes in Left Ventricular Torsion Early Postoperatively After Aortic Valve Replacement and at Long-Term Follow-up. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2015; 29: 860-867
212. Schueler R, Sinning JM, Momcilovic D, Weber M, Ghanem A, Werner N, Nickenig G, Grube E, Hammerstingl C. Three-dimensional speckle-tracking analysis of left ventricular function after transcatheter aortic valve implantation. *J Am Soc Echocardiogr* 2012; 25: 827-834 e821

213. Maron BJ, Towbin JA, Thiene G, Antzelevitch C, Corrado D, Arnett D, Moss AJ, Seidman CE, Young JB, American Heart A, Council on Clinical Cardiology HF, Transplantation C, Quality of C, Outcomes R, Functional G, Translational Biology Interdisciplinary Working G, Council on E, Prevention. Contemporary definitions and classification of the cardiomyopathies: an American Heart Association Scientific Statement from the Council on Clinical Cardiology, Heart Failure and Transplantation Committee; Quality of Care and Outcomes Research and Functional Genomics and Translational Biology Interdisciplinary Working Groups; and Council on Epidemiology and Prevention. *Circulation* 2006; 113: 1807-1816
214. Jenni R, Oechslin EN, van der Loo B. Isolated ventricular non-compaction of the myocardium in adults. *Heart* 2007; 93: 11-15
215. van Dalen BM, Caliskan K, Soliman OI, Nemes A, Vletter WB, Ten Cate FJ, Geleijnse ML. Left ventricular solid body rotation in non-compaction cardiomyopathy: a potential new objective and quantitative functional diagnostic criterion? *Eur J Heart Fail* 2008; 10: 1088-1093
216. Nemes A, Kalapos A, Domsik P, Forster T. Identification of left ventricular "rigid body rotation" by three-dimensional speckle-tracking echocardiography in a patient with noncompaction of the left ventricle: a case from the MAGYAR-Path Study. *Echocardiography* 2012; 29: E237-240
217. Bellavia D, Michelena HI, Martinez M, Pellikka PA, Bruce CJ, Connolly HM, Villarraga HR, Veress G, Oh JK, Miller FA. Speckle myocardial imaging modalities for early detection of myocardial impairment in isolated left ventricular non-compaction. *Heart* 2010; 96: 440-447
218. Udink ten Cate FE, Schmidt BE, Lagies R, Brockmeier K, Sreeram N. Reversed apical rotation and paradoxical increased left ventricular torsion in children with left ventricular non-compaction. *Int J Cardiol* 2010; 145: 558-559
219. van Dalen BM, Caliskan K, Soliman OI, Kauer F, van der Zwaan HB, Vletter WB, van Vark LC, Ten Cate FJ, Geleijnse ML. Diagnostic value of rigid body rotation in noncompaction cardiomyopathy. *J Am Soc Echocardiogr* 2011; 24: 548-555
220. Peters F, Khandheria BK, Libhaber E, Maharaj N, Dos Santos C, Matioda H, Essop MR. Left ventricular twist in left ventricular noncompaction. *European heart journal cardiovascular Imaging* 2014; 15: 48-55
221. Russel IK, Gotte MJ. New insights in LV torsion for the selection of cardiac resynchronisation therapy candidates. *Neth Heart J* 2011; 19: 386-391
222. Nemes A, Havasi K, Forster T. "Rigid body rotation" of the left ventricle in hypoplastic right-heart syndrome: a case from the three-dimensional speckle-tracking echocardiographic MAGYAR-Path Study. *Cardiol Young* 2015; 25: 768-772
223. Motoki H, Koyama J, Nakazawa H, Aizawa K, Kasai H, Izawa A, Tomita T, Miyashita Y, Kumazaki S, Takahashi M, Ikeda U. Torsion analysis in the early detection of anthracycline-mediated cardiomyopathy. *European heart journal cardiovascular Imaging* 2012; 13: 95-103
224. Wachter R, Schmidt-Schweda S, Westermann D, Post H, Edelmann F, Kasner M, Luers C, Steendijk P, Hasenfuss G, Tschope C, Pieske B. Blunted frequency-dependent upregulation of cardiac output is related to impaired relaxation in diastolic heart failure. *Eur Heart J* 2009; 30: 3027-3036
225. Zile MR, Gaasch WH. Mechanical loads and the isovolumic and filling indices of left ventricular relaxation. *Prog Cardiovasc Dis* 1990; 32: 333-346
226. Coudray N, Beregi JP, Lecarpentier Y, Chemla D. Effects of isoproterenol on myocardial relaxation rate: influence of the level of load. *Am J Physiol* 1993; 265: H1645-1653
227. Brutsaert DL, de Clerck NM, Goethals MA, Housmans PR. Relaxation of ventricular cardiac muscle. *J Physiol* 1978; 283: 469-480

228. Leite-Moreira AF, Correia-Pinto J, Gillebert TC. Afterload induced changes in myocardial relaxation: a mechanism for diastolic dysfunction. *Cardiovasc Res* 1999; 43: 344-353
229. O'Rourke B, Kass DA, Tomaselli GF, Kaab S, Tunin R, Marban E. Mechanisms of altered excitation-contraction coupling in canine tachycardia-induced heart failure, I: experimental studies. *Circ Res* 1999; 84: 562-570
230. Frank KF, Bolck B, Brixius K, Kranias EG, Schwinger RH. Modulation of SERCA: implications for the failing human heart. *Basic Res Cardiol* 2002; 97 Suppl 1: I72-78
231. Kent RL, Rozich JD, McCollam PL, McDermott DE, Thacker UF, Menick DR, McDermott PJ, Cooper Gt. Rapid expression of the Na(+)-Ca<sup>2+</sup> exchanger in response to cardiac pressure overload. *Am J Physiol* 1993; 265: H1024-1029
232. Hasenfuss G, Schillinger W, Lehnart SE, Preuss M, Pieske B, Maier LS, Prestle J, Minami K, Just H. Relationship between Na<sup>+</sup>-Ca<sup>2+</sup>-exchanger protein levels and diastolic function of failing human myocardium. *Circulation* 1999; 99: 641-648
233. Weber CR, Piacentino V, 3rd, Houser SR, Bers DM. Dynamic regulation of sodium/calcium exchange function in human heart failure. *Circulation* 2003; 108: 2224-2229
234. Weisser-Thomas J, Piacentino V, 3rd, Gaughan JP, Margulies K, Houser SR. Calcium entry via Na/Ca exchange during the action potential directly contributes to contraction of failing human ventricular myocytes. *Cardiovasc Res* 2003; 57: 974-985
235. Marx SO, Reiken S, Hisamatsu Y, Jayaraman T, Burkhoff D, Rosembliit N, Marks AR. PKA phosphorylation dissociates FKBP12.6 from the calcium release channel (ryanodine receptor): defective regulation in failing hearts. *Cell* 2000; 101: 365-376
236. Marks AR, Reiken S, Marx SO. Progression of heart failure: is protein kinase a hyperphosphorylation of the ryanodine receptor a contributing factor? *Circulation* 2002; 105: 272-275
237. Reiken S, Gaburjakova M, Guatimosim S, Gomez AM, D'Armiento J, Burkhoff D, Wang J, Vassort G, Lederer WJ, Marks AR. Protein kinase A phosphorylation of the cardiac calcium release channel (ryanodine receptor) in normal and failing hearts. Role of phosphatases and response to isoproterenol. *J Biol Chem* 2003; 278: 444-453
238. Yano M, Ono K, Ohkusa T, Suetsugu M, Kohno M, Hisaoka T, Kobayashi S, Hisamatsu Y, Yamamoto T, Kohno M, Noguchi N, Takasawa S, Okamoto H, Matsuzaki M. Altered stoichiometry of FKBP12.6 versus ryanodine receptor as a cause of abnormal Ca<sup>2+</sup> leak through ryanodine receptor in heart failure. *Circulation* 2000; 102: 2131-2136
239. Naudin V, Oliviero P, Rannou F, Sainte Beuve C, Charlemagne D. The density of ryanodine receptors decreases with pressure overload-induced rat cardiac hypertrophy. *FEBS Lett* 1991; 285: 135-138
240. Kim DH, Mkpuru F, Kim CR, Caroll RF. Alteration of Ca<sup>2+</sup> release channel function in sarcoplasmic reticulum of pressure-overload-induced hypertrophic rat heart. *J Mol Cell Cardiol* 1994; 26: 1505-1512
241. Rannou F, Sainte-Beuve C, Oliviero P, Do E, Trouve P, Charlemagne D. The effects of compensated cardiac hypertrophy on dihydropyridine and ryanodine receptors in rat, ferret and guinea-pig hearts. *J Mol Cell Cardiol* 1995; 27: 1225-1234
242. Hittinger L, Ghaleh B, Chen J, Edwards JG, Kudej RK, Iwase M, Kim SJ, Vatner SF, Vatner DE. Reduced subendocardial ryanodine receptors and consequent effects on cardiac function in conscious dogs with left ventricular hypertrophy. *Circ Res* 1999; 84: 999-1006

243. Song LS, Pi Y, Kim SJ, Yatani A, Guatimosim S, Kudej RK, Zhang Q, Cheng H, Hittinger L, Ghaleh B, Vatner DE, Lederer WJ, Vatner SF. Paradoxical cellular Ca<sup>2+</sup> signaling in severe but compensated canine left ventricular hypertrophy. *Circ Res* 2005; 97: 457-464
244. Selby DE, Palmer BM, LeWinter MM, Meyer M. Tachycardia-induced diastolic dysfunction and resting tone in myocardium from patients with a normal ejection fraction. *J Am Coll Cardiol* 2011; 58: 147-154
245. Fitzsimons DP, Patel JR, Moss RL. Role of myosin heavy chain composition in kinetics of force development and relaxation in rat myocardium. *J Physiol* 1998; 513 ( Pt 1): 171-183
246. Geisterfer-Lowrance AA, Christe M, Conner DA, Ingwall JS, Schoen FJ, Seidman CE, Seidman JG. A mouse model of familial hypertrophic cardiomyopathy. *Science* 1996; 272: 731-734
247. Kentish JC, McCloskey DT, Layland J, Palmer S, Leiden JM, Martin AF, Solaro RJ. Phosphorylation of troponin I by protein kinase A accelerates relaxation and crossbridge cycle kinetics in mouse ventricular muscle. *Circ Res* 2001; 88: 1059-1065
248. Hunlich M, Begin KJ, Gorga JA, Fishbaugher DE, LeWinter MM, VanBuren P. Protein kinase A mediated modulation of acto-myosin kinetics. *J Mol Cell Cardiol* 2005; 38: 119-125
249. Layland J, Solaro RJ, Shah AM. Regulation of cardiac contractile function by troponin I phosphorylation. *Cardiovasc Res* 2005; 66: 12-21
250. Donaldson C, Palmer BM, Zile M, Maughan DW, Ikonomidis JS, Granzier H, Meyer M, VanBuren P, LeWinter MM. Myosin cross-bridge dynamics in patients with hypertension and concentric left ventricular remodeling. *Circ Heart Fail* 2012; 5: 803-811
251. Cazorla O, Szilagyi S, Vignier N, Salazar G, Kramer E, Vassort G, Carrier L, Lacampagne A. Length and protein kinase A modulations of myocytes in cardiac myosin binding protein C-deficient mice. *Cardiovasc Res* 2006; 69: 370-380
252. Pohlmann L, Kroger I, Vignier N, Schlossarek S, Kramer E, Coirault C, Sultan KR, El-Armouche A, Winegrad S, Eschenhagen T, Carrier L. Cardiac myosin-binding protein C is required for complete relaxation in intact myocytes. *Circ Res* 2007; 101: 928-938
253. Tong CW, Stelzer JE, Greaser ML, Powers PA, Moss RL. Acceleration of crossbridge kinetics by protein kinase A phosphorylation of cardiac myosin binding protein C modulates cardiac function. *Circ Res* 2008; 103: 974-982
254. Rosas PC, Liu Y, Abdalla MI, Thomas CM, Kidwell DT, Dusio GF, Mukhopadhyay D, Kumar R, Baker KM, Mitchell BM, Powers PA, Fitzsimons DP, Patel BG, Warren CM, Solaro RJ, Moss RL, Tong CW. Phosphorylation of cardiac Myosin-binding protein-C is a critical mediator of diastolic function. *Circ Heart Fail* 2015; 8: 582-594
255. Paulus WJ, Vantrimpont PJ, Shah AM. Acute effects of nitric oxide on left ventricular relaxation and diastolic distensibility in humans. Assessment by bicoronary sodium nitroprusside infusion. *Circulation* 1994; 89: 2070-2078
256. Paulus WJ, Bronzwaer JG. Nitric oxide's role in the heart: control of beating or breathing? *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004; 287: H8-13
257. Seddon M, Shah AM, Casadei B. Cardiomyocytes as effectors of nitric oxide signalling. *Cardiovasc Res* 2007; 75: 315-326
258. Heymes C, Vanderheyden M, Bronzwaer JG, Shah AM, Paulus WJ. Endomyocardial nitric oxide synthase and left ventricular preload reserve in dilated cardiomyopathy. *Circulation* 1999; 99: 3009-3016

259. Matter CM, Mandinov L, Kaufmann PA, Vassalli G, Jiang Z, Hess OM. Effect of NO donors on LV diastolic function in patients with severe pressure-overload hypertrophy. *Circulation* 1999; 99: 2396-2401
260. Tang WH, Tong W, Shrestha K, Wang Z, Levison BS, Delfraino B, Hu B, Troughton RW, Klein AL, Hazen SL. Differential effects of arginine methylation on diastolic dysfunction and disease progression in patients with chronic systolic heart failure. *Eur Heart J* 2008; 29: 2506-2513
261. Bronzwaer JG, Paulus WJ. Nitric oxide: the missing lusitrope in failing myocardium. *Eur Heart J* 2008; 29: 2453-2455
262. Silberman GA, Fan TH, Liu H, Jiao Z, Xiao HD, Lovelock JD, Boulden BM, Widder J, Fredd S, Bernstein KE, Wolska BM, Dikalov S, Harrison DG, Dudley SC, Jr. Uncoupled cardiac nitric oxide synthase mediates diastolic dysfunction. *Circulation* 2010; 121: 519-528
263. Loyer X, Oliviero P, Damy T, Robidel E, Marotte F, Heymes C, Samuel JL. Effects of sex differences on constitutive nitric oxide synthase expression and activity in response to pressure overload in rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007; 293: H2650-2658
264. Smith CS, Bottomley PA, Schulman SP, Gerstenblith G, Weiss RG. Altered creatine kinase adenosine triphosphate kinetics in failing hypertrophied human myocardium. *Circulation* 2006; 114: 1151-1158
265. Diamant M, Lamb HJ, Groeneveld Y, Endert EL, Smit JW, Bax JJ, Romijn JA, de Roos A, Radder JK. Diastolic dysfunction is associated with altered myocardial metabolism in asymptomatic normotensive patients with well-controlled type 2 diabetes mellitus. *J Am Coll Cardiol* 2003; 42: 328-335
266. Rider OJ, Francis JM, Ali MK, Holloway C, Pegg T, Robson MD, Tyler D, Byrne J, Clarke K, Neubauer S. Effects of catecholamine stress on diastolic function and myocardial energetics in obesity. *Circulation* 2012; 125: 1511-1519
267. Trochu JN, Bouhour JB, Kaley G, Hintze TH. Role of endothelium-derived nitric oxide in the regulation of cardiac oxygen metabolism: implications in health and disease. *Circ Res* 2000; 87: 1108-1117
268. Schroen B, Heymans S, Sharma U, Blankesteyn WM, Pokharel S, Cleutjens JP, Porter JG, Evelo CT, Duisters R, van Leeuwen RE, Janssen BJ, Debets JJ, Smits JF, Daemen MJ, Crijns HJ, Bornstein P, Pinto YM. Thrombospondin-2 is essential for myocardial matrix integrity: increased expression identifies failure-prone cardiac hypertrophy. *Circ Res* 2004; 95: 515-522
269. Schellings MW, Pinto YM, Heymans S. Matricellular proteins in the heart: possible role during stress and remodeling. *Cardiovasc Res* 2004; 64: 24-31
270. Weber KT, Brilla CG, Janicki JS. Myocardial fibrosis: functional significance and regulatory factors. *Cardiovasc Res* 1993; 27: 341-348
271. Querejeta R, Varo N, Lopez B, Larman M, Artinano E, Etayo JC, Martinez Ubago JL, Gutierrez-Stampa M, Emparanza JI, Gil MJ, Monreal I, Mindan JP, Diez J. Serum carboxy-terminal propeptide of procollagen type I is a marker of myocardial fibrosis in hypertensive heart disease. *Circulation* 2000; 101: 1729-1735
272. Lopez B, Gonzalez A, Diez J. Circulating biomarkers of collagen metabolism in cardiac diseases. *Circulation* 2010; 121: 1645-1654
273. Ahmed SH, Clark LL, Pennington WR, Webb CS, Bonnema DD, Leonardi AH, McClure CD, Spinale FG, Zile MR. Matrix metalloproteinases/tissue inhibitors of metalloproteinases: relationship between changes in proteolytic determinants of matrix composition and structural, functional, and clinical manifestations of hypertensive heart disease. *Circulation* 2006; 113: 2089-2096

274. Heymans S, Schroen B, Vermeersch P, Milting H, Gao F, Kassner A, Gillijns H, Herijgers P, Flameng W, Carmeliet P, Van de Werf F, Pinto YM, Janssens S. Increased cardiac expression of tissue inhibitor of metalloproteinase-1 and tissue inhibitor of metalloproteinase-2 is related to cardiac fibrosis and dysfunction in the chronic pressure-overloaded human heart. *Circulation* 2005; 112: 1136-1144
275. Gonzalez A, Lopez B, Querejeta R, Zubillaga E, Echeverria T, Diez J. Filling pressures and collagen metabolism in hypertensive patients with heart failure and normal ejection fraction. *Hypertension* 2010; 55: 1418-1424
276. van Heerebeek L, Borbely A, Niessen HW, Bronzwaer JG, van der Velden J, Stienen GJ, Linke WA, Laarman GJ, Paulus WJ. Myocardial structure and function differ in systolic and diastolic heart failure. *Circulation* 2006; 113: 1966-1973
277. Borbely A, van der Velden J, Papp Z, Bronzwaer JG, Edes I, Stienen GJ, Paulus WJ. Cardiomyocyte stiffness in diastolic heart failure. *Circulation* 2005; 111: 774-781
278. van Heerebeek L, Hamdani N, Handoko ML, Falcao-Pires I, Musters RJ, Kupreishvili K, Ijsselmuiden AJ, Schalkwijk CG, Bronzwaer JG, Diamant M, Borbely A, van der Velden J, Stienen GJ, Laarman GJ, Niessen HW, Paulus WJ. Diastolic stiffness of the failing diabetic heart: importance of fibrosis, advanced glycation end products, and myocyte resting tension. *Circulation* 2008; 117: 43-51
279. Chaturvedi RR, Herron T, Simmons R, Shore D, Kumar P, Sethia B, Chua F, Vassiliadis E, Kentish JC. Passive stiffness of myocardium from congenital heart disease and implications for diastole. *Circulation* 2010; 121: 979-988
280. Warren CM, Jordan MC, Roos KP, Krzesinski PR, Greaser ML. Titin isoform expression in normal and hypertensive myocardium. *Cardiovasc Res* 2003; 59: 86-94
281. Borbely A, Falcao-Pires I, van Heerebeek L, Hamdani N, Edes I, Gavina C, Leite-Moreira AF, Bronzwaer JG, Papp Z, van der Velden J, Stienen GJ, Paulus WJ. Hypophosphorylation of the Stiff N2B titin isoform raises cardiomyocyte resting tension in failing human myocardium. *Circ Res* 2009; 104: 780-786
282. Kruger M, Linke WA. Protein kinase-A phosphorylates titin in human heart muscle and reduces myofibrillar passive tension. *J Muscle Res Cell Motil* 2006; 27: 435-444
283. Kruger M, Kotter S, Grutzner A, Lang P, Andresen C, Redfield MM, Butt E, dos Remedios CG, Linke WA. Protein kinase G modulates human myocardial passive stiffness by phosphorylation of the titin springs. *Circ Res* 2009; 104: 87-94
284. Hamdani N, Franssen C, Lourenco A, Falcao-Pires I, Fontoura D, Leite S, Plettig L, Lopez B, Ottenheijm CA, Becher PM, Gonzalez A, Tschope C, Diez J, Linke WA, Leite-Moreira AF, Paulus WJ. Myocardial titin hypophosphorylation importantly contributes to heart failure with preserved ejection fraction in a rat metabolic risk model. *Circ Heart Fail* 2013; 6: 1239-1249
285. Hidalgo C, Hudson B, Bogomolovas J, Zhu Y, Anderson B, Greaser M, Labeit S, Granzier H. PKC phosphorylation of titin's PEVK element: a novel and conserved pathway for modulating myocardial stiffness. *Circ Res* 2009; 105: 631-638, 617 p following 638
286. van Heerebeek L, Hamdani N, Falcao-Pires I, Leite-Moreira AF, Begieneman MP, Bronzwaer JG, van der Velden J, Stienen GJ, Laarman GJ, Somsen A, Verheugt FW, Niessen HW, Paulus WJ. Low myocardial protein kinase G activity in heart failure with preserved ejection fraction. *Circulation* 2012; 126: 830-839
287. Grutzner A, Garcia-Manyes S, Kotter S, Badilla CL, Fernandez JM, Linke WA. Modulation of titin-based stiffness by disulfide bonding in the cardiac titin N2-B unique sequence. *Biophys J* 2009; 97: 825-834

288. Tagawa H, Wang N, Narishige T, Ingber DE, Zile MR, Cooper Gt. Cytoskeletal mechanics in pressure-overload cardiac hypertrophy. *Circ Res* 1997; 80: 281-289
289. Zile MR, Richardson K, Cowles MK, Buckley JM, Koide M, Cowles BA, Gharpuray V, Cooper Gt. Constitutive properties of adult mammalian cardiac muscle cells. *Circulation* 1998; 98: 567-579
290. Samuel JL, Bertier B, Bugaisky L, Marotte F, Swynghedauw B, Schwartz K, Rappaport L. Different distributions of microtubules, desmin filaments and isomyosins during the onset of cardiac hypertrophy in the rat. *Eur J Cell Biol* 1984; 34: 300-306
291. Samuel JL, Marotte F, Delcayre C, Rappaport L. Microtubule reorganization is related to rate of heart myocyte hypertrophy in rat. *Am J Physiol* 1986; 251: H1118-1125
292. Silvestre JS, Heymes C, Oubenaissa A, Robert V, Aupetit-Faisant B, Carayon A, Swynghedauw B, Delcayre C. Activation of cardiac aldosterone production in rat myocardial infarction: effect of angiotensin II receptor blockade and role in cardiac fibrosis. *Circulation* 1999; 99: 2694-2701
293. Di Zhang A, Nguyen Dinh Cat A, Soukaseum C, Escoubet B, Cherfa A, Messaoudi S, Delcayre C, Samuel JL, Jaisser F. Cross-talk between mineralocorticoid and angiotensin II signaling for cardiac remodeling. *Hypertension* 2008; 52: 1060-1067
294. Sakata Y, Masuyama T, Yamamoto K, Doi R, Mano T, Kuzuya T, Miwa T, Takeda H, Hori M. Renin angiotensin system-dependent hypertrophy as a contributor to heart failure in hypertensive rats: different characteristics from renin angiotensin system-independent hypertrophy. *J Am Coll Cardiol* 2001; 37: 293-299
295. Azibani F, Benard L, Schlossarek S, Merval R, Tournoux F, Fazal L, Polidano E, Launay JM, Carrier L, Chatziantoniou C, Samuel JL, Delcayre C. Aldosterone inhibits antifibrotic factors in mouse hypertensive heart. *Hypertension* 2012; 59: 1179-1187
296. Marney AM, Brown NJ. Aldosterone and end-organ damage. *Clin Sci (Lond)* 2007; 113: 267-278
297. Cruickshank JM, Lewis J, Moore V, Dodd C. Reversibility of left ventricular hypertrophy by differing types of antihypertensive therapy. *J Hum Hypertens* 1992; 6: 85-90
298. Weinberg EO, Schoen FJ, George D, Kagaya Y, Douglas PS, Litwin SE, Schunkert H, Benedict CR, Lorell BH. Angiotensin-converting enzyme inhibition prolongs survival and modifies the transition to heart failure in rats with pressure overload hypertrophy due to ascending aortic stenosis. *Circulation* 1994; 90: 1410-1422
299. Udelson JE, Bacharach SL, Cannon RO, 3rd, Bonow RO. Minimum left ventricular pressure during beta-adrenergic stimulation in human subjects. Evidence for elastic recoil and diastolic "suction" in the normal heart. *Circulation* 1990; 82: 1174-1182
300. Perry R, De Pasquale CG, Chew DP, Joseph MX. Assessment of early diastolic left ventricular function by two-dimensional echocardiographic speckle tracking. *Eur J Echocardiogr* 2008; 9: 791-795
301. Courtois M, Kovacs SJ, Jr., Ludbrook PA. Transmitral pressure-flow velocity relation. Importance of regional pressure gradients in the left ventricle during diastole. *Circulation* 1988; 78: 661-671
302. Nikolic SD, Feneley MP, Pajaro OE, Rankin JS, Yellin EL. Origin of regional pressure gradients in the left ventricle during early diastole. *Am J Physiol* 1995; 268: H550-557
303. Abhayaratna WP, Marwick TH, Smith WT, Becker NG. Characteristics of left ventricular diastolic dysfunction in the community: an echocardiographic survey. *Heart* 2006; 92: 1259-1264
304. Kuznetsova T, Herbots L, Lopez B, Jin Y, Richart T, Thijs L, Gonzalez A, Herregods MC, Fagard RH, Diez J, Staessen JA. Prevalence of left ventricular diastolic dysfunction in a general population. *Circ Heart Fail* 2009; 2: 105-112

305. Owan TE, Hodge DO, Herges RM, Jacobsen SJ, Roger VL, Redfield MM. Trends in prevalence and outcome of heart failure with preserved ejection fraction. *N Engl J Med* 2006; 355: 251-259
306. Regan TJ, Lyons MM, Ahmed SS, Levinson GE, Oldewurtel HA, Ahmad MR, Haider B. Evidence for cardiomyopathy in familial diabetes mellitus. *J Clin Invest* 1977; 60: 884-899
307. Devereux RB, Roman MJ, Paranicas M, O'Grady MJ, Lee ET, Welty TK, Fabsitz RR, Robbins D, Rhoades ER, Howard BV. Impact of diabetes on cardiac structure and function: the strong heart study. *Circulation* 2000; 101: 2271-2276
308. Boyer JK, Thanigaraj S, Schechtman KB, Perez JE. Prevalence of ventricular diastolic dysfunction in asymptomatic, normotensive patients with diabetes mellitus. *The American journal of cardiology* 2004; 93: 870-875
309. Klapholz M, Maurer M, Lowe AM, Messineo F, Meisner JS, Mitchell J, Kalman J, Phillips RA, Steingart R, Brown EJ, Jr., Berkowitz R, Moskowitz R, Soni A, Mancini D, Bijou R, Sehhat K, Varshneya N, Kukin M, Katz SD, Sleeper LA, Le Jemtel TH, New York Heart Failure C. Hospitalization for heart failure in the presence of a normal left ventricular ejection fraction: results of the New York Heart Failure Registry. *J Am Coll Cardiol* 2004; 43: 1432-1438
310. Redfield MM, Jacobsen SJ, Burnett JC, Jr., Mahoney DW, Bailey KR, Rodeheffer RJ. Burden of systolic and diastolic ventricular dysfunction in the community: appreciating the scope of the heart failure epidemic. *JAMA* 2003; 289: 194-202
311. Fischer M, Baessler A, Hense HW, Hengstenberg C, Muscholl M, Holmer S, Doring A, Broeckel U, Riegger G, Schunkert H. Prevalence of left ventricular diastolic dysfunction in the community. Results from a Doppler echocardiographic-based survey of a population sample. *Eur Heart J* 2003; 24: 320-328
312. Lenzen MJ, Scholte op Reimer WJ, Boersma E, Vantrimpont PJ, Follath F, Swedberg K, Cleland J, Komajda M. Differences between patients with a preserved and a depressed left ventricular function: a report from the EuroHeart Failure Survey. *Eur Heart J* 2004; 25: 1214-1220
313. Masoudi FA, Havranek EP, Smith G, Fish RH, Steiner JF, Ordin DL, Krumholz HM. Gender, age, and heart failure with preserved left ventricular systolic function. *J Am Coll Cardiol* 2003; 41: 217-223
314. Chung J, Abraszewski P, Yu X, Liu W, Krainik AJ, Ashford M, Caruthers SD, McGill JB, Wickline SA. Paradoxical increase in ventricular torsion and systolic torsion rate in type I diabetic patients under tight glycemic control. *J Am Coll Cardiol* 2006; 47: 384-390
315. Fonseca CG, Dissanayake AM, Doughty RN, Whalley GA, Gamble GD, Cowan BR, Occleshaw CJ, Young AA. Three-dimensional assessment of left ventricular systolic strain in patients with type 2 diabetes mellitus, diastolic dysfunction, and normal ejection fraction. *The American journal of cardiology* 2004; 94: 1391-1395
316. Larghat AM, Swoboda PP, Biglands JD, Kearney MT, Greenwood JP, Plein S. The microvascular effects of insulin resistance and diabetes on cardiac structure, function, and perfusion: a cardiovascular magnetic resonance study. *European heart journal cardiovascular Imaging* 2014; 15: 1368-1376
317. Crendal E, Walther G, Vinet A, Dutheil F, Naughton G, Lesourd B, Chapier R, Rupp T, Courteix D, Obert P. Myocardial deformation and twist mechanics in adults with metabolic syndrome: impact of cumulative metabolic burden. *Obesity (Silver Spring)* 2013; 21: E679-686
318. Takeuchi M, Borden WB, Nakai H, Nishikage T, Kokumai M, Nagakura T, Otani S, Lang RM. Reduced and delayed untwisting of the left ventricle in patients with hypertension and left ventricular hypertrophy: a study using two-dimensional speckle tracking imaging. *Eur Heart J* 2007; 28: 2756-2762

319. Ahmed MI, Desai RV, Gaddam KK, Venkatesh BA, Agarwal S, Inusah S, Lloyd SG, Denney TS, Jr., Calhoun D, Dell'italia LJ, Gupta H. Relation of torsion and myocardial strains to LV ejection fraction in hypertension. *JACC Cardiovasc Imaging* 2012; 5: 273-281
320. Schiros CG, Desai RV, Venkatesh BA, Gaddam KK, Agarwal S, Lloyd SG, Calhoun DA, Denney TS, Jr., Dell'italia LJ, Gupta H. Left ventricular torsion shear angle volume analysis in patients with hypertension: a global approach for LV diastolic function. *J Cardiovasc Magn Reson* 2014; 16: 70
321. Celic V, Tadic M, Suzic-Lazic J, Andric A, Majstorovic A, Ivanovic B, Stevanovic P, Iracek O, Scepanovic R. Two- and three-dimensional speckle tracking analysis of the relation between myocardial deformation and functional capacity in patients with systemic hypertension. *The American journal of cardiology* 2014; 113: 832-839
322. Phan TT, Shivu GN, Abozguia K, Gnanadevan M, Ahmed I, Frenneaux M. Left ventricular torsion and strain patterns in heart failure with normal ejection fraction are similar to age-related changes. *Eur J Echocardiogr* 2009; 10: 793-800
323. Maharaj N, Khandheria BK, Libhaber E, Govender S, Duarte R, Peters F, Essop MR. Relationship between left ventricular twist and circulating biomarkers of collagen turnover in hypertensive patients with heart failure. *J Am Soc Echocardiogr* 2014; 27: 1064-1071
324. Hittinger L, Shannon RP, Bishop SP, Gelpi RJ, Vatner SF. Subendomyocardial exhaustion of blood flow reserve and increased fibrosis in conscious dogs with heart failure. *Circ Res* 1989; 65: 971-980
325. Hittinger L, Mirsky I, Shen YT, Patrick TA, Bishop SP, Vatner SF. Hemodynamic mechanisms responsible for reduced subendocardial coronary reserve in dogs with severe left ventricular hypertrophy. *Circulation* 1995; 92: 978-986
326. Hoening MR, Bianchi C, Rosenzweig A, Sellke FW. The cardiac microvasculature in hypertension, cardiac hypertrophy and diastolic heart failure. *Curr Vasc Pharmacol* 2008; 6: 292-300
327. Stanton T, Marwick TH. Assessment of subendocardial structure and function. *JACC Cardiovasc Imaging* 2010; 3: 867-875
328. Martinez DA, Guhl DJ, Stanley WC, Vailas AC. Extracellular matrix maturation in the left ventricle of normal and diabetic swine. *Diabetes Res Clin Pract* 2003; 59: 1-9
329. Mizuguchi Y, Oishi Y, Miyoshi H, Iuchi A, Nagase N, Oki T. The functional role of longitudinal, circumferential, and radial myocardial deformation for regulating the early impairment of left ventricular contraction and relaxation in patients with cardiovascular risk factors: a study with two-dimensional strain imaging. *J Am Soc Echocardiogr* 2008; 21: 1138-1144
330. Park SJ, Miyazaki C, Bruce CJ, Ommen S, Miller FA, Oh JK. Left ventricular torsion by two-dimensional speckle tracking echocardiography in patients with diastolic dysfunction and normal ejection fraction. *J Am Soc Echocardiogr* 2008; 21: 1129-1137
331. Mizuguchi Y, Oishi Y, Miyoshi H, Iuchi A, Nagase N, Oki T. Concentric left ventricular hypertrophy brings deterioration of systolic longitudinal, circumferential, and radial myocardial deformation in hypertensive patients with preserved left ventricular pump function. *J Cardiol* 2010; 55: 23-33
332. Sengupta PP, Narula J. Reclassifying heart failure: predominantly subendocardial, subepicardial, and transmural. *Heart Fail Clin* 2008; 4: 379-382
333. Stohr EJ, Shave RE, Baggish AL, Weiner RB. Left ventricular twist mechanics in the context of normal physiology and cardiovascular disease: a review of studies using speckle tracking echocardiography. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2016; 311: H633-644
334. Weiss JL, Frederiksen JW, Weisfeldt ML. Hemodynamic determinants of the time-course of fall in canine left ventricular pressure. *J Clin Invest* 1976; 58: 751-760

335. Matsubara H, Takaki M, Yasuhara S, Araki J, Suga H. Logistic time constant of isovolumic relaxation pressure-time curve in the canine left ventricle. Better alternative to exponential time constant. *Circulation* 1995; 92: 2318-2326
336. Senzaki H, Kass DA. Analysis of isovolumic relaxation in failing hearts by monoexponential time constants overestimates lusitropic change and load dependence: mechanisms and advantages of alternative logistic fit. *Circ Heart Fail* 2010; 3: 268-276
337. Vasan RS, Levy D. Defining diastolic heart failure: a call for standardized diagnostic criteria. *Circulation* 2000; 101: 2118-2121
338. Gaasch WH, Battle WE, Oboler AA, Banas JS, Jr., Levine HJ. Left ventricular stress and compliance in man. With special reference to normalized ventricular function curves. *Circulation* 1972; 45: 746-762
339. Gaasch WH, Levine HJ, Quinones MA, Alexander JK. Left ventricular compliance: mechanisms and clinical implications. *The American journal of cardiology* 1976; 38: 645-653
340. Nagueh SF, Smiseth OA, Appleton CP, Byrd BF, 3rd, Dokainish H, Edvardsen T, Flachskampf FA, Gillebert TC, Klein AL, Lancellotti P, Marino P, Oh JK, Alexandru Popescu B, Waggoner AD, Houston T, Oslo N, Phoenix A, Nashville T, Hamilton OC, Uppsala S, Ghent, Liege B, Cleveland O, Novara I, Rochester M, Bucharest R, St. Louis M. Recommendations for the Evaluation of Left Ventricular Diastolic Function by Echocardiography: An Update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *European heart journal cardiovascular Imaging* 2016; 17: 1321-1360
341. Appleton CP, Hatle LK, Popp RL. Relation of transmitral flow velocity patterns to left ventricular diastolic function: new insights from a combined hemodynamic and Doppler echocardiographic study. *J Am Coll Cardiol* 1988; 12: 426-440
342. Nishimura RA, Tajik AJ. Evaluation of diastolic filling of left ventricle in health and disease: Doppler echocardiography is the clinician's Rosetta Stone. *J Am Coll Cardiol* 1997; 30: 8-18
343. Appleton CP, Firstenberg MS, Garcia MJ, Thomas JD. The echo-Doppler evaluation of left ventricular diastolic function. A current perspective. *Cardiol Clin* 2000; 18: 513-546, ix
344. Hurrell DG, Nishimura RA, Ilstrup DM, Appleton CP. Utility of preload alteration in assessment of left ventricular filling pressure by Doppler echocardiography: a simultaneous catheterization and Doppler echocardiographic study. *J Am Coll Cardiol* 1997; 30: 459-467
345. Zile MR, Gaasch WH, Carroll JD, Feldman MD, Aurigemma GP, Schaer GL, Ghali JK, Liebson PR. Heart failure with a normal ejection fraction: is measurement of diastolic function necessary to make the diagnosis of diastolic heart failure? *Circulation* 2001; 104: 779-782
346. Nagueh SF, Sun H, Kopelen HA, Middleton KJ, Khoury DS. Hemodynamic determinants of the mitral annulus diastolic velocities by tissue Doppler. *J Am Coll Cardiol* 2001; 37: 278-285
347. Firstenberg MS, Greenberg NL, Main ML, Drinko JK, Odabashian JA, Thomas JD, Garcia MJ. Determinants of diastolic myocardial tissue Doppler velocities: influences of relaxation and preload. *J Appl Physiol (1985)* 2001; 90: 299-307
348. Ommen SR, Nishimura RA, Appleton CP, Miller FA, Oh JK, Redfield MM, Tajik AJ. Clinical utility of Doppler echocardiography and tissue Doppler imaging in the estimation of left ventricular filling pressures: A comparative simultaneous Doppler-catheterization study. *Circulation* 2000; 102: 1788-1794
349. Garcia MJ, Ares MA, Asher C, Rodriguez L, Vandervoort P, Thomas JD. An index of early left ventricular filling that combined with pulsed Doppler peak E velocity may estimate capillary wedge pressure. *J Am Coll Cardiol* 1997; 29: 448-454

350. Rivas-Gotz C, Manolios M, Thohan V, Nagueh SF. Impact of left ventricular ejection fraction on estimation of left ventricular filling pressures using tissue Doppler and flow propagation velocity. *The American journal of cardiology* 2003; 91: 780-784
351. Bouchard JL, Aurigemma GP, Hill JC, Ennis CA, Tighe DA. Usefulness of the pulmonary arterial systolic pressure to predict pulmonary arterial wedge pressure in patients with normal left ventricular systolic function. *The American journal of cardiology* 2008; 101: 1673-1676
352. Nagueh SF, Appleton CP, Gillebert TC, Marino PN, Oh JK, Smiseth OA, Waggoner AD, Flachskampf FA, Pellikka PA, Evangelisa A. Recommendations for the evaluation of left ventricular diastolic function by echocardiography. *Eur J Echocardiogr* 2009; 10: 165-193
353. Appleton CP. Hemodynamic determinants of Doppler pulmonary venous flow velocity components: new insights from studies in lightly sedated normal dogs. *J Am Coll Cardiol* 1997; 30: 1562-1574
354. Smiseth OA, Thompson CR, Lohavanichbutr K, Ling H, Abel JG, Miyagishima RT, Lichtenstein SV, Bowering J. The pulmonary venous systolic flow pulse--its origin and relationship to left atrial pressure. *J Am Coll Cardiol* 1999; 34: 802-809
355. Keren G, Bier A, Sherez J, Miura D, Keefe D, LeJemtel T. Atrial contraction is an important determinant of pulmonary venous flow. *J Am Coll Cardiol* 1986; 7: 693-695
356. Masuyama T, Lee JM, Tamai M, Tanouchi J, Kitabatake A, Kamada T. Pulmonary venous flow velocity pattern as assessed with transthoracic pulsed Doppler echocardiography in subjects without cardiac disease. *The American journal of cardiology* 1991; 67: 1396-1404
357. Rossvoll O, Hatle LK. Pulmonary venous flow velocities recorded by transthoracic Doppler ultrasound: relation to left ventricular diastolic pressures. *J Am Coll Cardiol* 1993; 21: 1687-1696
358. Appleton CP, Galloway JM, Gonzalez MS, Gaballa M, Basnight MA. Estimation of left ventricular filling pressures using two-dimensional and Doppler echocardiography in adult patients with cardiac disease. Additional value of analyzing left atrial size, left atrial ejection fraction and the difference in duration of pulmonary venous and mitral flow velocity at atrial contraction. *J Am Coll Cardiol* 1993; 22: 1972-1982
359. Tsang TS, Barnes ME, Gersh BJ, Bailey KR, Seward JB. Left atrial volume as a morphophysiologic expression of left ventricular diastolic dysfunction and relation to cardiovascular risk burden. *The American journal of cardiology* 2002; 90: 1284-1289
360. Schillaci G, Pasqualini L, Verdecchia P, Vaudo G, Marchesi S, Porcellati C, de Simone G, Mannarino E. Prognostic significance of left ventricular diastolic dysfunction in essential hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2002; 39: 2005-2011
361. Solomon SD, Verma A, Desai A, Hassanein A, Izzo J, Oparil S, Lacourciere Y, Lee J, Seifu Y, Hilker RJ, Rocha R, Pitt B, Exforge Intensive Control of Hypertension to Evaluate Efficacy in Diastolic Dysfunction I. Effect of intensive versus standard blood pressure lowering on diastolic function in patients with uncontrolled hypertension and diastolic dysfunction. *Hypertension* 2010; 55: 241-248
362. Bonow RO, Udelson JE. Left ventricular diastolic dysfunction as a cause of congestive heart failure. Mechanisms and management. *Ann Intern Med* 1992; 117: 502-510
363. Muller-Brunotte R, Kahan T, Malmqvist K, Ring M, Edner M. Tissue velocity echocardiography shows early improvement in diastolic function with irbesartan and atenolol therapy in patients with hypertensive left ventricular hypertrophy. Results from the Swedish Irbesartan Left Ventricular Hypertrophy Investigation vs Atenolol (SILVHIA). *Am J Hypertens* 2006; 19: 927-936

364. Reiken S, Gaburjakova M, Gaburjakova J, He Kl KL, Prieto A, Becker E, Yi Gh GH, Wang J, Burkhoff D, Marks AR. beta-adrenergic receptor blockers restore cardiac calcium release channel (ryanodine receptor) structure and function in heart failure. *Circulation* 2001; 104: 2843-2848
365. Reiken S, Wehrens XH, Vest JA, Barbone A, Klotz S, Mancini D, Burkhoff D, Marks AR. Beta-blockers restore calcium release channel function and improve cardiac muscle performance in human heart failure. *Circulation* 2003; 107: 2459-2466
366. Bergstrom A, Andersson B, Edner M, Nylander E, Persson H, Dahlstrom U. Effect of carvedilol on diastolic function in patients with diastolic heart failure and preserved systolic function. Results of the Swedish Doppler-echocardiographic study (SWEDIC). *Eur J Heart Fail* 2004; 6: 453-461
367. Hernandez AF, Hammill BG, O'Connor CM, Schulman KA, Curtis LH, Fonarow GC. Clinical effectiveness of beta-blockers in heart failure: findings from the OPTIMIZE-HF (Organized Program to Initiate Lifesaving Treatment in Hospitalized Patients with Heart Failure) Registry. *J Am Coll Cardiol* 2009; 53: 184-192
368. Conraads VM, Metra M, Kamp O, De Keulenaer GW, Pieske B, Zamorano J, Vardas PE, Bohm M, Dei Cas L. Effects of the long-term administration of nebivolol on the clinical symptoms, exercise capacity, and left ventricular function of patients with diastolic dysfunction: results of the ELANDD study. *Eur J Heart Fail* 2012; 14: 219-225
369. Yamamoto K, Origasa H, Hori M, Investigators JD. Effects of carvedilol on heart failure with preserved ejection fraction: the Japanese Diastolic Heart Failure Study (J-DHF). *Eur J Heart Fail* 2013; 15: 110-118
370. Simon L, Ghaleh B, Puybasset L, Giudicelli JF, Berdeaux A. Coronary and hemodynamic effects of S 16257, a new bradycardic agent, in resting and exercising conscious dogs. *J Pharmacol Exp Ther* 1995; 275: 659-666
371. Colin P, Ghaleh B, Monnet X, Hittinger L, Berdeaux A. Effect of graded heart rate reduction with ivabradine on myocardial oxygen consumption and diastolic time in exercising dogs. *J Pharmacol Exp Ther* 2004; 308: 236-240
372. Heusch G. Heart rate in the pathophysiology of coronary blood flow and myocardial ischaemia: benefit from selective bradycardic agents. *Br J Pharmacol* 2008; 153: 1589-1601
373. Heusch G. Pleiotropic action(s) of the bradycardic agent ivabradine: cardiovascular protection beyond heart rate reduction. *Br J Pharmacol* 2008; 155: 970-971
374. Roubille F, Tardif JC. New therapeutic targets in cardiology: heart failure and arrhythmia: HCN channels. *Circulation* 2013; 127: 1986-1996
375. Reil JC, Hohl M, Reil GH, Granzier HL, Kratz MT, Kazakov A, Fries P, Muller A, Lenski M, Custodis F, Graber S, Frohlig G, Steendijk P, Neuberger HR, Bohm M. Heart rate reduction by If-inhibition improves vascular stiffness and left ventricular systolic and diastolic function in a mouse model of heart failure with preserved ejection fraction. *Eur Heart J* 2013; 34: 2839-2849
376. Maczewski M, Mackiewicz U. Effect of metoprolol and ivabradine on left ventricular remodelling and Ca<sup>2+</sup> handling in the post-infarction rat heart. *Cardiovasc Res* 2008; 79: 42-51
377. Fang Y, Debonne M, Vercauteren M, Brakenhielm E, Richard V, Lallemand F, Henry JP, Mulder P, Thuillez C. Heart rate reduction induced by the if current inhibitor ivabradine improves diastolic function and attenuates cardiac tissue hypoxia. *J Cardiovasc Pharmacol* 2012; 59: 260-267
378. Mulder P, Barbier S, Chagraoui A, Richard V, Henry JP, Lallemand F, Renet S, Lerebours G, Mahlberg-Gaudin F, Thuillez C. Long-term heart rate reduction induced by the selective I(f) current inhibitor ivabradine improves left ventricular function and intrinsic myocardial structure in congestive heart failure. *Circulation* 2004; 109: 1674-1679

379. Busseuil D, Shi Y, Mecteau M, Brand G, Gillis MA, Thorin E, Asselin C, Romeo P, Leung TK, Latour JG, Des Rosiers C, Bouly M, Rheaume E, Tardif JC. Heart rate reduction by ivabradine reduces diastolic dysfunction and cardiac fibrosis. *Cardiology* 2010; 117: 234-242
380. Becher PM, Lindner D, Miteva K, Savvatis K, Zietsch C, Schmack B, Van Linthout S, Westermann D, Schultheiss HP, Tschope C. Role of heart rate reduction in the prevention of experimental heart failure: comparison between If-channel blockade and beta-receptor blockade. *Hypertension* 2012; 59: 949-957
381. Kosmala W, Holland DJ, Rojek A, Wright L, Przewlocka-Kosmala M, Marwick TH. Effect of If-channel inhibition on hemodynamic status and exercise tolerance in heart failure with preserved ejection fraction: a randomized trial. *J Am Coll Cardiol* 2013; 62: 1330-1338
382. Fox K, Ford I, Steg PG, Tardif JC, Tendera M, Ferrari R, Investigators S. Ivabradine in stable coronary artery disease without clinical heart failure. *N Engl J Med* 2014; 371: 1091-1099
383. Komajda M, Isnard R, Cohen-Solal A, Metra M, Pieske B, Ponikowski P, Voors AA, Dominjon F, Henon-Goburdhun C, Pannaux M, Bohm M, prEserve DlvfchFwisl. Effect of ivabradine in patients with heart failure with preserved ejection fraction: the EDIFY randomized placebo-controlled trial. *Eur J Heart Fail* 2017
384. Ventura H, Loyalka P, Smart FW. Treatment of the hypertensive patient with microvascular angina. *Curr Opin Cardiol* 1999; 14: 370-374
385. Setaro JF, Zaret BL, Schulman DS, Black HR, Soufer R. Usefulness of verapamil for congestive heart failure associated with abnormal left ventricular diastolic filling and normal left ventricular systolic performance. *The American journal of cardiology* 1990; 66: 981-986
386. Terpstra WF, May JF, Smit AJ, de Graeff PA, Havinga TK, van den Veur E, Schuurman FH, Meyboom-de Jong B, Crijns HJ. Long-term effects of amlodipine and lisinopril on left ventricular mass and diastolic function in elderly, previously untreated hypertensive patients: the ELVERA trial. *J Hypertens* 2001; 19: 303-309
387. Hung MJ, Cherng WJ, Kuo LT, Wang CH. Effect of verapamil in elderly patients with left ventricular diastolic dysfunction as a cause of congestive heart failure. *Int J Clin Pract* 2002; 56: 57-62
388. Tapp RJ, Sharp A, Stanton AV, O'Brien E, Chaturvedi N, Poulter NR, Sever PS, Thom SA, Hughes AD, Mayet J, Investigators A. Differential effects of antihypertensive treatment on left ventricular diastolic function: an ASCOT (Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes Trial) substudy. *J Am Coll Cardiol* 2010; 55: 1875-1881
389. Takami T, Shigematsu M. Effects of calcium channel antagonists on left ventricular hypertrophy and diastolic function in patients with essential hypertension. *Clin Exp Hypertens* 2003; 25: 525-535
390. Yamamoto K, Ozaki H, Takayasu K, Akehi N, Fukui S, Sakai A, Kodama M, Shimonagata T, Kobayashi K, Ota M, Horiguchi Y, Ebisuno S, Katsube Y, Yamazaki T, Ohtsu H, Hori M. The effect of losartan and amlodipine on left ventricular diastolic function and atherosclerosis in Japanese patients with mild-to-moderate hypertension (J-ELAN) study. *Hypertension research : official journal of the Japanese Society of Hypertension* 2011; 34: 325-330
391. Solomon SD, Janardhanan R, Verma A, Bourgoun M, Daley WL, Purkayastha D, Lacourciere Y, Hippler SE, Fields H, Naqvi TZ, Mulvagh SL, Arnold JM, Thomas JD, Zile MR, Aurigemma GP, Valsartan In Diastolic Dysfunction I. Effect of angiotensin receptor blockade and antihypertensive drugs on diastolic function in patients with hypertension and diastolic dysfunction: a randomised trial. *Lancet* 2007; 369: 2079-2087

392. Devereux RB, Dahlof B, Gerds E, Boman K, Nieminen MS, Papademetriou V, Rokkedal J, Harris KE, Edelman JM, Wachtell K. Regression of hypertensive left ventricular hypertrophy by losartan compared with atenolol: the Losartan Intervention for Endpoint Reduction in Hypertension (LIFE) trial. *Circulation* 2004; 110: 1456-1462
393. Wachtell K, Bella JN, Rokkedal J, Palmieri V, Papademetriou V, Dahlof B, Aalto T, Gerds E, Devereux RB. Change in diastolic left ventricular filling after one year of antihypertensive treatment: The Losartan Intervention For Endpoint Reduction in Hypertension (LIFE) Study. *Circulation* 2002; 105: 1071-1076
394. Dahlof B, Zanchetti A, Diez J, Nicholls MG, Yu CM, Barrios V, Aurup P, Smith RD, Johansson M, Investigators RS. Effects of losartan and atenolol on left ventricular mass and neurohormonal profile in patients with essential hypertension and left ventricular hypertrophy. *J Hypertens* 2002; 20: 1855-1864
395. Yusuf S, Pfeffer MA, Swedberg K, Granger CB, Held P, McMurray JJ, Michelson EL, Olofsson B, Ostergren J, Investigators C, Committees. Effects of candesartan in patients with chronic heart failure and preserved left-ventricular ejection fraction: the CHARM-Preserved Trial. *Lancet* 2003; 362: 777-781
396. Cleland JG, Tendera M, Adamus J, Freemantle N, Polonski L, Taylor J, Investigators P-C. The perindopril in elderly people with chronic heart failure (PEP-CHF) study. *Eur Heart J* 2006; 27: 2338-2345
397. Massie BM, Carson PE, McMurray JJ, Komajda M, McKelvie R, Zile MR, Anderson S, Donovan M, Iverson E, Staiger C, Ptaszynska A, Investigators IP. Irbesartan in patients with heart failure and preserved ejection fraction. *N Engl J Med* 2008; 359: 2456-2467
398. Kitzman DW, Hundley WG, Brubaker PH, Morgan TM, Moore JB, Stewart KP, Little WC. A randomized double-blind trial of enalapril in older patients with heart failure and preserved ejection fraction: effects on exercise tolerance and arterial distensibility. *Circ Heart Fail* 2010; 3: 477-485
399. Brilla CG, Zhou G, Matsubara L, Weber KT. Collagen metabolism in cultured adult rat cardiac fibroblasts: response to angiotensin II and aldosterone. *J Mol Cell Cardiol* 1994; 26: 809-820
400. Lopez-Andres N, Martin-Fernandez B, Rossignol P, Zannad F, Lahera V, Fortuno MA, Cachofeiro V, Diez J. A role for cardiotrophin-1 in myocardial remodeling induced by aldosterone. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2011; 301: H2372-2382
401. Suzuki G, Morita H, Mishima T, Sharov VG, Todor A, Tanhehco EJ, Rudolph AE, McMahan EG, Goldstein S, Sabbah HN. Effects of long-term monotherapy with eplerenone, a novel aldosterone blocker, on progression of left ventricular dysfunction and remodeling in dogs with heart failure. *Circulation* 2002; 106: 2967-2972
402. Mottram PM, Haluska B, Leano R, Cowley D, Stowasser M, Marwick TH. Effect of aldosterone antagonism on myocardial dysfunction in hypertensive patients with diastolic heart failure. *Circulation* 2004; 110: 558-565
403. Deswal A, Richardson P, Bozkurt B, Mann DL. Results of the Randomized Aldosterone Antagonism in Heart Failure with Preserved Ejection Fraction trial (RAAM-PEF). *J Card Fail* 2011; 17: 634-642
404. Edelmann F, Wachter R, Schmidt AG, Kraigher-Krainer E, Colantonio C, Kamke W, Duvinage A, Stahrenberg R, Durstewitz K, Loffler M, Dungen HD, Tschope C, Herrmann-Lingen C, Halle M, Hasenfuss G, Gelbrich G, Pieske B, Aldo DHF. Effect of spironolactone on diastolic function and exercise capacity in patients with heart failure with preserved ejection fraction: the Aldo-DHF randomized controlled trial. *JAMA* 2013; 309: 781-791

405. Pitt B, Pfeffer MA, Assmann SF, Boineau R, Anand IS, Claggett B, Clausell N, Desai AS, Diaz R, Fleg JL, Gordeev I, Harty B, Heitner JF, Kenwood CT, Lewis EF, O'Meara E, Probstfield JL, Shaburishvili T, Shah SJ, Solomon SD, Sweitzer NK, Yang S, McKinlay SM, Investigators T. Spironolactone for heart failure with preserved ejection fraction. *N Engl J Med* 2014; 370: 1383-1392
406. Pfeffer MA, Claggett B, Assmann SF, Boineau R, Anand IS, Clausell N, Desai AS, Diaz R, Fleg JL, Gordeev I, Heitner JF, Lewis EF, O'Meara E, Rouleau JL, Probstfield JL, Shaburishvili T, Shah SJ, Solomon SD, Sweitzer NK, McKinlay SM, Pitt B. Regional variation in patients and outcomes in the Treatment of Preserved Cardiac Function Heart Failure With an Aldosterone Antagonist (TOPCAT) trial. *Circulation* 2015; 131: 34-42
407. Lewis EF, Kim HY, Claggett B, Spertus J, Heitner JF, Assmann SF, Kenwood CT, Solomon SD, Desai AS, Fang JC, McKinlay SA, Pitt BA, Pfeffer MA, Investigators T. Impact of Spironolactone on Longitudinal Changes in Health-Related Quality of Life in the Treatment of Preserved Cardiac Function Heart Failure With an Aldosterone Antagonist Trial. *Circ Heart Fail* 2016; 9: e001937
408. Kosmala W, Rojek A, Przewlocka-Kosmala M, Wright L, Mysiak A, Marwick TH. Effect of Aldosterone Antagonism on Exercise Tolerance in Heart Failure With Preserved Ejection Fraction. *J Am Coll Cardiol* 2016; 68: 1823-1834
409. Contard F, Glukhova M, Sabri A, Marotte F, Sartore S, Narcisse G, Schatz C, Guez D, Rappaport L, Samuel JL. Comparative effects of indapamide and hydrochlorothiazide on cardiac hypertrophy and vascular smooth-muscle phenotype in the stroke-prone, spontaneously hypertensive rat. *J Cardiovasc Pharmacol* 1993; 22 Suppl 6: S29-34
410. Yip GW, Wang M, Wang T, Chan S, Fung JW, Yeung L, Yip T, Lau ST, Lau CP, Tang MO, Yu CM, Sanderson JE. The Hong Kong diastolic heart failure study: a randomised controlled trial of diuretics, irbesartan and ramipril on quality of life, exercise capacity, left ventricular global and regional function in heart failure with a normal ejection fraction. *Heart* 2008; 94: 573-580
411. Borlaug BA, Kass DA. Ventricular-vascular interaction in heart failure. *Heart Fail Clin* 2008; 4: 23-36
412. Ahmed A, Rich MW, Fleg JL, Zile MR, Young JB, Kitzman DW, Love TE, Aronow WS, Adams KF, Jr., Gheorghiu M. Effects of digoxin on morbidity and mortality in diastolic heart failure: the ancillary digitalis investigation group trial. *Circulation* 2006; 114: 397-403
413. Bishu K, Hamdani N, Mohammed SF, Kruger M, Ohtani T, Ogut O, Brozovich FV, Burnett JC, Jr., Linke WA, Redfield MM. Sildenafil and B-type natriuretic peptide acutely phosphorylate titin and improve diastolic distensibility in vivo. *Circulation* 2011; 124: 2882-2891
414. Westermann D, Becher PM, Lindner D, Savvatis K, Xia Y, Frohlich M, Hoffmann S, Schultheiss HP, Tschope C. Selective PDE5A inhibition with sildenafil rescues left ventricular dysfunction, inflammatory immune response and cardiac remodeling in angiotensin II-induced heart failure in vivo. *Basic Res Cardiol* 2012; 107: 308
415. Guazzi M, Vicenzi M, Arena R, Guazzi MD. Pulmonary hypertension in heart failure with preserved ejection fraction: a target of phosphodiesterase-5 inhibition in a 1-year study. *Circulation* 2011; 124: 164-174
416. Redfield MM, Chen HH, Borlaug BA, Semigran MJ, Lee KL, Lewis G, LeWinter MM, Rouleau JL, Bull DA, Mann DL, Deswal A, Stevenson LW, Givertz MM, Ofili EO, O'Connor CM, Felker GM, Goldsmith SR, Bart BA, McNulty SE, Ibarra JC, Lin G, Oh JK, Patel MR, Kim RJ, Tracy RP, Velazquez EJ, Anstrom KJ, Hernandez AF, Mascette AM, Braunwald E, Trial R. Effect of phosphodiesterase-5 inhibition on exercise capacity and clinical status in heart failure with preserved ejection fraction: a randomized clinical trial. *JAMA* 2013; 309: 1268-1277

417. Lindman BR, Davila-Roman VG, Mann DL, McNulty S, Semigran MJ, Lewis GD, de las Fuentes L, Joseph SM, Vader J, Hernandez AF, Redfield MM. Cardiovascular phenotype in HFpEF patients with or without diabetes: a RELAX trial ancillary study. *J Am Coll Cardiol* 2014; 64: 541-549
418. Zakeri R, Borlaug BA, McNulty SE, Mohammed SF, Lewis GD, Semigran MJ, Deswal A, LeWinter M, Hernandez AF, Braunwald E, Redfield MM. Impact of atrial fibrillation on exercise capacity in heart failure with preserved ejection fraction: a RELAX trial ancillary study. *Circ Heart Fail* 2014; 7: 123-130
419. Hussain I, Mohammed SF, Forfia PR, Lewis GD, Borlaug BA, Gallup DS, Redfield MM. Impaired Right Ventricular-Pulmonary Arterial Coupling and Effect of Sildenafil in Heart Failure With Preserved Ejection Fraction: An Ancillary Analysis From the Phosphodiesterase-5 Inhibition to Improve Clinical Status And Exercise Capacity in Diastolic Heart Failure (RELAX) Trial. *Circ Heart Fail* 2016; 9: e002729
420. Filippatos G, Maggioni AP, Lam CSP, Pieske-Kraigher E, Butler J, Spertus J, Ponikowski P, Shah SJ, Solomon SD, Scalise AV, Mueller K, Roessig L, Bamber L, Gheorghiade M, Pieske B. Patient-reported outcomes in the SOLuble guanylate Cyclase stimulatOR in heArT failurE patientS with PRESERVED ejection fraction (SOCRATES-PRESERVED) study. *Eur J Heart Fail* 2017; 19: 782-791
421. Pieske B, Maggioni AP, Lam CSP, Pieske-Kraigher E, Filippatos G, Butler J, Ponikowski P, Shah SJ, Solomon SD, Scalise AV, Mueller K, Roessig L, Gheorghiade M. Vericiguat in patients with worsening chronic heart failure and preserved ejection fraction: results of the SOLuble guanylate Cyclase stimulatOR in heArT failurE patientS with PRESERVED EF (SOCRATES-PRESERVED) study. *Eur Heart J* 2017; 38: 1119-1127
422. Bonderman D, Pretsch I, Steringer-Mascherbauer R, Jansa P, Rosenkranz S, Tufaro C, Bojic A, Lam CSP, Frey R, Ochan Kilama M, Unger S, Roessig L, Lang IM. Acute hemodynamic effects of riociguat in patients with pulmonary hypertension associated with diastolic heart failure (DILATE-1): a randomized, double-blind, placebo-controlled, single-dose study. *Chest* 2014; 146: 1274-1285
423. Andersen MJ, Ersboll M, Axelsson A, Gustafsson F, Hassager C, Kober L, Borlaug BA, Boesgaard S, Skovgaard LT, Moller JE. Sildenafil and diastolic dysfunction after acute myocardial infarction in patients with preserved ejection fraction: the Sildenafil and Diastolic Dysfunction After Acute Myocardial Infarction (SIDAMI) trial. *Circulation* 2013; 127: 1200-1208
424. Hasenfuss G, Pieske B. Calcium cycling in congestive heart failure. *J Mol Cell Cardiol* 2002; 34: 951-969
425. Valdivia CR, Chu WW, Pu J, Foell JD, Haworth RA, Wolff MR, Kamp TJ, Makielski JC. Increased late sodium current in myocytes from a canine heart failure model and from failing human heart. *J Mol Cell Cardiol* 2005; 38: 475-483
426. Sossalla S, Wagner S, Rasenack EC, Ruff H, Weber SL, Schondube FA, Tirilomis T, Tenderich G, Hasenfuss G, Belardinelli L, Maier LS. Ranolazine improves diastolic dysfunction in isolated myocardium from failing human hearts--role of late sodium current and intracellular ion accumulation. *J Mol Cell Cardiol* 2008; 45: 32-43
427. Sossalla S, Maurer U, Schotola H, Hartmann N, Didie M, Zimmermann WH, Jacobshagen C, Wagner S, Maier LS. Diastolic dysfunction and arrhythmias caused by overexpression of CaMKII $\delta$ (C) can be reversed by inhibition of late Na<sup>(+)</sup> current. *Basic Res Cardiol* 2011; 106: 263-272
428. Lovelock JD, Monasky MM, Jeong EM, Lardin HA, Liu H, Patel BG, Taglieri DM, Gu L, Kumar P, Pokhrel N, Zeng D, Belardinelli L, Sorescu D, Solaro RJ, Dudley SC, Jr. Ranolazine improves cardiac diastolic dysfunction through modulation of myofilament calcium sensitivity. *Circ Res* 2012; 110: 841-850

429. Williams S, Pourrier M, McAfee D, Lin S, Fedida D. Ranolazine improves diastolic function in spontaneously hypertensive rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2014; 306: H867-881
430. De Angelis A, Cappetta D, Piegari E, Rinaldi B, Ciuffreda LP, Esposito G, Ferraiolo FA, Rivellino A, Russo R, Donniacuo M, Rossi F, Urbanek K, Berrino L. Long-term administration of ranolazine attenuates diastolic dysfunction and adverse myocardial remodeling in a model of heart failure with preserved ejection fraction. *Int J Cardiol* 2016; 217: 69-79
431. Maier LS, Layug B, Karwatowska-Prokopczuk E, Belardinelli L, Lee S, Sander J, Lang C, Wachter R, Edelmann F, Hasenfuss G, Jacobshagen C. RANoLazine for the treatment of diastolic heart failure in patients with preserved ejection fraction: the RALI-DHF proof-of-concept study. *JACC Heart Fail* 2013; 1: 115-122
432. Shah NR, Cheezum MK, Veeranna V, Horgan SJ, Taqueti VR, Murthy VL, Foster C, Hainer J, Daniels KM, Rivero J, Shah AM, Stone PH, Morrow DA, Steigner ML, Dorbala S, Blankstein R, Di Carli MF. Ranolazine in Symptomatic Diabetic Patients Without Obstructive Coronary Artery Disease: Impact on Microvascular and Diastolic Function. *J Am Heart Assoc* 2017; 6
433. Gu J, Noe A, Chandra P, Al-Fayoumi S, Ligueros-Saylan M, Sarangapani R, Maahs S, Ksander G, Rigel DF, Jeng AY, Lin TH, Zheng W, Dole WP. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of LCZ696, a novel dual-acting angiotensin receptor-neprilysin inhibitor (ARNi). *J Clin Pharmacol* 2010; 50: 401-414
434. Ruilope LM, Dukat A, Bohm M, Lacourciere Y, Gong J, Lefkowitz MP. Blood-pressure reduction with LCZ696, a novel dual-acting inhibitor of the angiotensin II receptor and neprilysin: a randomised, double-blind, placebo-controlled, active comparator study. *Lancet* 2010; 375: 1255-1266
435. Solomon SD, Zile M, Pieske B, Voors A, Shah A, Kraigher-Krainer E, Shi V, Bransford T, Takeuchi M, Gong J, Lefkowitz M, Packer M, McMurray JJ. Prospective comparison of AwarBoMOhfwepfl. The angiotensin receptor neprilysin inhibitor LCZ696 in heart failure with preserved ejection fraction: a phase 2 double-blind randomised controlled trial. *Lancet* 2012; 380: 1387-1395
436. Masson S, Latini R, Anand IS, Barlera S, Angelici L, Vago T, Tognoni G, Cohn JN, Val-He FTI. Prognostic value of changes in N-terminal pro-brain natriuretic peptide in Val-HeFT (Valsartan Heart Failure Trial). *J Am Coll Cardiol* 2008; 52: 997-1003
437. Voors AA, Gori M, Liu LC, Claggett B, Zile MR, Pieske B, McMurray JJ, Packer M, Shi V, Lefkowitz MP, Solomon SD, Investigators P. Renal effects of the angiotensin receptor neprilysin inhibitor LCZ696 in patients with heart failure and preserved ejection fraction. *Eur J Heart Fail* 2015; 17: 510-517
438. Solomon SD, Rizkala AR, Gong J, Wang W, Anand IS, Ge J, Lam CSP, Maggioni AP, Martinez F, Packer M, Pfeffer MA, Pieske B, Redfield MM, Rouleau JL, Van Veldhuisen DJ, Zannad F, Zile MR, Desai AS, Shi VC, Lefkowitz MP, McMurray JJV. Angiotensin Receptor Neprilysin Inhibition in Heart Failure With Preserved Ejection Fraction: Rationale and Design of the PARAGON-HF Trial. *JACC Heart Fail* 2017; 5: 471-482
439. Schmieder RE, Wagner F, Mayr M, Delles C, Ott C, Keicher C, Hrabak-Paar M, Heye T, Aichner S, Khder Y, Yates D, Albrecht D, Langenickel T, Freyhardt P, Janka R, Bremerich J. The effect of sacubitril/valsartan compared to olmesartan on cardiovascular remodelling in subjects with essential hypertension: the results of a randomized, double-blind, active-controlled study. *Eur Heart J* 2017; 38: 3308-3317
440. Antoniadou C, Bakogiannis C, Leeson P, Guzik TJ, Zhang MH, Tousoulis D, Antonopoulos AS, Demosthenous M, Marinou K, Hale A, Paschalis A, Psarros C, Triantafyllou C, Bendall J, Casadei B, Stefanadis C, Channon KM. Rapid, direct effects of statin treatment on arterial redox state and nitric oxide bioavailability in human atherosclerosis via tetrahydrobiopterin-mediated endothelial nitric oxide synthase coupling. *Circulation* 2011; 124: 335-345

441. Fukuta H, Sane DC, Brucks S, Little WC. Statin therapy may be associated with lower mortality in patients with diastolic heart failure: a preliminary report. *Circulation* 2005; 112: 357-363
442. Alehagen U, Benson L, Edner M, Dahlstrom U, Lund LH. Association Between Use of Statins and Mortality in Patients With Heart Failure and Ejection Fraction of  $\geq 50$ . *Circ Heart Fail* 2015; 8: 862-870
443. Gombert-Maitland M, Shah SJ, Guazzi M. Inflammation in Heart Failure With Preserved Ejection Fraction: Time to Put Out the Fire. *JACC Heart Fail* 2016; 4: 325-328
444. Kasner M, Aleksandrov AS, Westermann D, Lassner D, Gross M, von Haehling S, Anker SD, Schultheiss HP, Tschope C. Functional iron deficiency and diastolic function in heart failure with preserved ejection fraction. *Int J Cardiol* 2013; 168: 4652-4657
445. Omori Y, Ohtani T, Sakata Y, Mano T, Takeda Y, Tamaki S, Tsukamoto Y, Kamimura D, Aizawa Y, Miwa T, Komuro I, Soga T, Yamamoto K. L-Carnitine prevents the development of ventricular fibrosis and heart failure with preserved ejection fraction in hypertensive heart disease. *J Hypertens* 2012; 30: 1834-1844
446. Mizuguchi Y, Oishi Y, Miyoshi H, Iuchi A, Nagase N, Oki T. Beneficial effects of telmisartan on left ventricular structure and function in patients with hypertension determined by two-dimensional strain imaging. *J Hypertens* 2009; 27: 1892-1899
447. Mizuguchi Y, Oishi Y, Miyoshi H, Iuchi A, Nagase N, Ara N, Oki T. Possible mechanisms of left ventricular torsion evaluated by cardioreparative effects of telmisartan in patients with hypertension. *Eur J Echocardiogr* 2010; 11: 690-697
448. Tea BS, Dam TV, Moreau P, Hamet P, deBlois D. Apoptosis during regression of cardiac hypertrophy in spontaneously hypertensive rats. Temporal regulation and spatial heterogeneity. *Hypertension* 1999; 34: 229-235
449. Rienzo M, Bize A, Pongas D, Michineau S, Melka J, Chan HL, Sambin L, Su JB, Dubois-Rande JL, Hittinger L, Berdeaux A, Ghaleh B. Impaired left ventricular function in the presence of preserved ejection in chronic hypertensive conscious pigs. *Basic Res Cardiol* 2012; 107: 298
450. Rushmer RF. Continuous measurements of left ventricular dimensions in intact, unanesthetized dogs. *Circ Res* 1954; 2: 14-21
451. Raff GL, Glantz SA. Volume loading slows left ventricular isovolumic relaxation rate. Evidence of load-dependent relaxation in the intact dog heart. *Circ Res* 1981; 48: 813-824
452. Lang RM, Bierig M, Devereux RB, Flachskampf FA, Foster E, Pellikka PA, Picard MH, Roman MJ, Seward J, Shanewise JS, Solomon SD, Spencer KT, Sutton MS, Stewart WJ. 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: 1440-1463
453. D'Hooge J, Heimdal A, Jamal F, Kukulski T, Bijnens B, Rademakers F, Hatle L, Suetens P, Sutherland GR. Regional strain and strain rate measurements by cardiac ultrasound: principles, implementation and limitations. *Eur J Echocardiogr* 2000; 1: 154-170
454. Becker M, Bilke E, Kuhl H, Katoh M, Kramann R, Franke A, Bucker A, Hanrath P, Hoffmann R. Analysis of myocardial deformation based on pixel tracking in two dimensional echocardiographic images enables quantitative assessment of regional left ventricular function. *Heart* 2006; 92: 1102-1108

455. Kosmala W, Plaksej R, Strotmann JM, Weigel C, Herrmann S, Niemann M, Mende H, Stork S, Angermann CE, Wagner JA, Weidemann F. Progression of left ventricular functional abnormalities in hypertensive patients with heart failure: an ultrasonic two-dimensional speckle tracking study. *J Am Soc Echocardiogr* 2008; 21: 1309-1317
456. Kraigher-Krainer E, Shah AM, Gupta DK, Santos A, Claggett B, Pieske B, Zile MR, Voors AA, Lefkowitz MP, Packer M, McMurray JJ, Solomon SD, Investigators P. Impaired systolic function by strain imaging in heart failure with preserved ejection fraction. *J Am Coll Cardiol* 2014; 63: 447-456
457. Liu YW, Tsai WC, Su CT, Lin CC, Chen JH. Evidence of left ventricular systolic dysfunction detected by automated function imaging in patients with heart failure and preserved left ventricular ejection fraction. *J Card Fail* 2009; 15: 782-789
458. Russell K, Eriksen M, Aaberge L, Wilhelmsen N, Skulstad H, Remme EW, Haugaa KH, Opdahl A, Fjeld JG, Gjesdal O, Edvardsen T, Smiseth OA. A novel clinical method for quantification of regional left ventricular pressure-strain loop area: a non-invasive index of myocardial work. *Eur Heart J* 2012; 33: 724-733
459. Gryniewicz G, Poenie M, Tsien RY. A new generation of Ca<sup>2+</sup> indicators with greatly improved fluorescence properties. *J Biol Chem* 1985; 260: 3440-3450
460. Meli AC, Refaat MM, Dura M, Reiken S, Wronska A, Wojciak J, Carroll J, Scheinman MM, Marks AR. A novel ryanodine receptor mutation linked to sudden death increases sensitivity to cytosolic calcium. *Circ Res* 2011; 109: 281-290
461. Cui Y, Shen YT, Kalthof B, Iwase M, Sato N, Uechi M, Vatner SF, Vatner DE. Identification and functional role of beta-adrenergic receptor subtypes in primate and rodent: in vivo versus isolated myocytes. *J Mol Cell Cardiol* 1996; 28: 1307-1317
462. Shiels HA, White E. The Frank-Starling mechanism in vertebrate cardiac myocytes. *J Exp Biol* 2008; 211: 2005-2013
463. Conceicao G, Heinonen I, Lourenco AP, Duncker DJ, Falcao-Pires I. Animal models of heart failure with preserved ejection fraction. *Neth Heart J* 2016; 24: 275-286
464. Hayashida W, Donckier J, Van Mechelen H, Charlier AA, Pouleur H. Diastolic properties in canine hypertensive left ventricular hypertrophy: effects of angiotensin converting enzyme inhibition and angiotensin II type-1 receptor blockade. *Cardiovasc Res* 1997; 33: 54-62
465. Hart CY, Meyer DM, Tazelaar HD, Grande JP, Burnett JC, Jr., Housmans PR, Redfield MM. Load versus humoral activation in the genesis of early hypertensive heart disease. *Circulation* 2001; 104: 215-220
466. Maniu CV, Meyer DM, Redfield MM. Hemodynamic and humoral effects of vasopeptidase inhibition in canine hypertension. *Hypertension* 2002; 40: 528-534
467. Munagala VK, Hart CY, Burnett JC, Jr., Meyer DM, Redfield MM. Ventricular structure and function in aged dogs with renal hypertension: a model of experimental diastolic heart failure. *Circulation* 2005; 111: 1128-1135
468. Abrahams C, Janicki JS, Weber KT. Myocardial hypertrophy in *Macaca fascicularis*. Structural remodeling of the collagen matrix. *Lab Invest* 1987; 56: 676-683
469. Hittinger L, Patrick T, Ihara T, Hasebe N, Shen YT, Kalthof B, Shannon RP, Vatner SF. Exercise induces cardiac dysfunction in both moderate, compensated and severe hypertrophy. *Circulation* 1994; 89: 2219-2231
470. Zhang J, Duncker DJ, Ya X, Zhang Y, Pavek T, Wei H, Merkle H, Ugurbil K, From AH, Bache RJ. Effect of left ventricular hypertrophy secondary to chronic pressure overload on transmural myocardial 2-deoxyglucose uptake. A 31P NMR spectroscopic study. *Circulation* 1995; 92: 1274-1283

471. Hirsch JC, Borton AR, Albayya FP, Russell MW, Ohye RG, Metzger JM. Comparative analysis of parvalbumin and SERCA2a cardiac myocyte gene transfer in a large animal model of diastolic dysfunction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004; 286: H2314-2321
472. Depre C, Wang Q, Yan L, Hedhli N, Peter P, Chen L, Hong C, Hittinger L, Ghaleh B, Sadoshima J, Vatner DE, Vatner SF, Madura K. Activation of the cardiac proteasome during pressure overload promotes ventricular hypertrophy. *Circulation* 2006; 114: 1821-1828
473. Flanagan MF, Fujii AM, Colan SD, Flanagan RG, Lock JE. Myocardial angiogenesis and coronary perfusion in left ventricular pressure-overload hypertrophy in the young lamb. Evidence for inhibition with chronic protamine administration. *Circ Res* 1991; 68: 1458-1470
474. Aoyagi T, Mirsky I, Flanagan MF, Currier JJ, Colan SD, Fujii AM. Myocardial function in immature and mature sheep with pressure-overload hypertrophy. *Am J Physiol* 1992; 262: H1036-1048
475. Aoyagi T, Fujii AM, Flanagan MF, Arnold LW, Brathwaite KW, Colan SD, Mirsky I. Transition from compensated hypertrophy to intrinsic myocardial dysfunction during development of left ventricular pressure-overload hypertrophy in conscious sheep. Systolic dysfunction precedes diastolic dysfunction. *Circulation* 1993; 88: 2415-2425
476. Moorjani N, Ahmad M, Catarino P, Brittin R, Trabzuni D, Al-Mohanna F, Narula N, Narula J, Westaby S. Activation of apoptotic caspase cascade during the transition to pressure overload-induced heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2006; 48: 1451-1458
477. Dhalla NS, Alto LE, Heyliger CE, Pierce GN, Panagia V, Singal PK. Sarcoplasmic reticular Ca<sup>2+</sup>-pump adaptation in cardiac hypertrophy due to pressure overload in pigs. *Eur Heart J* 1984; 5 Suppl F: 323-328
478. Ye Y, Gong G, Ochiai K, Liu J, Zhang J. High-energy phosphate metabolism and creatine kinase in failing hearts: a new porcine model. *Circulation* 2001; 103: 1570-1576
479. Malo O, Desjardins F, Tanguay JF, Tardif JC, Carrier M, Perrault LP. Tetrahydrobiopterin and antioxidants reverse the coronary endothelial dysfunction associated with left ventricular hypertrophy in a porcine model. *Cardiovasc Res* 2003; 59: 501-511
480. Yarbrough WM, Mukherjee R, Stroud RE, Rivers WT, Oelsen JM, Dixon JA, Eckhouse SR, Ikonomidis JS, Zile MR, Spinale FG. Progressive induction of left ventricular pressure overload in a large animal model elicits myocardial remodeling and a unique matrix signature. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2012; 143: 215-223
481. Xiong Q, Zhang P, Guo J, Swingen C, Jang A, Zhang J. Myocardial ATP hydrolysis rates in vivo: a porcine model of pressure overload-induced hypertrophy. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2015; 309: H450-458
482. Harper J, Harper E, Covell JW. Collagen characterization in volume-overload- and pressure-overload-induced cardiac hypertrophy in minipigs. *Am J Physiol* 1993; 265: H434-438
483. Emter CA, Tharp DL, Ivey JR, Ganjam VK, Bowles DK. Low-intensity interval exercise training attenuates coronary vascular dysfunction and preserves Ca<sup>2+</sup>-sensitive K<sup>+</sup> current in miniature swine with LV hypertrophy. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2011; 301: H1687-1694
484. Vatner SF, Braunwald E. Cardiovascular control mechanisms in the conscious state. *N Engl J Med* 1975; 293: 970-976
485. Kobayashi K, Kotilainen PW, Haffty BG, Moreau KA, Bishop RL, Spodick DH. Cardiac responses to impulse exercise and recovery: systolic time intervals. *Eur J Cardiol* 1979; 10: 453-473
486. Miyamoto Y, Higuchi J, Abe Y, Hiura T, Nakazono Y, Mikami T. Dynamics of cardiac output and systolic time intervals in supine and upright exercise. *J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol* 1983; 55: 1674-1681

487. Vatner SF, Shannon R, Hittinger L. Reduced subendocardial coronary reserve. A potential mechanism for impaired diastolic function in the hypertrophied and failing heart. *Circulation* 1990; 81: III8-14
488. Hittinger L, Shannon RP, Kohin S, Manders WT, Kelly P, Vatner SF. Exercise-induced subendocardial dysfunction in dogs with left ventricular hypertrophy. *Circ Res* 1990; 66: 329-343
489. Duncker DJ, Ishibashi Y, Bache RJ. Effect of treadmill exercise on transmural distribution of blood flow in hypertrophied left ventricle. *Am J Physiol* 1998; 275: H1274-1282
490. Colin P, Ghaleh B, Hittinger L, Monnet X, Slama M, Giudicelli JF, Berdeaux A. Differential effects of heart rate reduction and beta-blockade on left ventricular relaxation during exercise. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002; 282: H672-679
491. Monnet X, Colin P, Ghaleh B, Hittinger L, Giudicelli JF, Berdeaux A. Heart rate reduction during exercise-induced myocardial ischaemia and stunning. *Eur Heart J* 2004; 25: 579-586
492. Monnet X, Ghaleh B, Lucats L, Colin P, Zini R, Hittinger L, Berdeaux A. Phenotypic adaptation of the late preconditioned heart: myocardial oxygen consumption is reduced. *Cardiovasc Res* 2006; 70: 391-398
493. Heusch G, Skyschally A, Gres P, van Caster P, Schilawa D, Schulz R. Improvement of regional myocardial blood flow and function and reduction of infarct size with ivabradine: protection beyond heart rate reduction. *Eur Heart J* 2008; 29: 2265-2275
494. Reil JC, Bohm M. The role of heart rate in the development of cardiovascular disease. *Clin Res Cardiol* 2007; 96: 585-592
495. Reil JC, Tardif JC, Ford I, Lloyd SM, O'Meara E, Komajda M, Borer JS, Tavazzi L, Swedberg K, Bohm M. Selective heart rate reduction with ivabradine unloads the left ventricle in heart failure patients. *J Am Coll Cardiol* 2013; 62: 1977-1985
496. Little WC, Downes TR. Clinical evaluation of left ventricular diastolic performance. *Prog Cardiovasc Dis* 1990; 32: 273-290
497. Yellin EL, Nikolic S, Frater RW. Left ventricular filling dynamics and diastolic function. *Prog Cardiovasc Dis* 1990; 32: 247-271
498. Sabbah HN, Stein PD. Pressure-diameter relations during early diastole in dogs. Incompatibility with the concept of passive left ventricular filling. *Circ Res* 1981; 48: 357-365
499. Cheng CP, Freeman GL, Santamore WP, Constantinescu MS, Little WC. Effect of loading conditions, contractile state, and heart rate on early diastolic left ventricular filling in conscious dogs. *Circ Res* 1990; 66: 814-823
500. Cheng CP, Igarashi Y, Little WC. Mechanism of augmented rate of left ventricular filling during exercise. *Circ Res* 1992; 70: 9-19
501. Hartford M, Wikstrand J, Wallentin I, Ljungman S, Wilhelmssen L, Berglund G. Diastolic function of the heart in untreated primary hypertension. *Hypertension* 1984; 6: 329-338
502. Inouye I, Massie B, Loge D, Topic N, Silverstein D, Simpson P, Tubau J. Abnormal left ventricular filling: an early finding in mild to moderate systemic hypertension. *The American journal of cardiology* 1984; 53: 120-126
503. Wachtell K, Smith G, Gerds E, Dahlöf B, Nieminen MS, Papademetriou V, Bella JN, Ibsen H, Rokkedal J, Devereux RB. Left ventricular filling patterns in patients with systemic hypertension and left ventricular hypertrophy (the LIFE study). Losartan Intervention For Endpoint. *The American journal of cardiology* 2000; 85: 466-472

504. Geskin G, Schulman DS. Relation of changes in left ventricular peak filling rate during exercise to exercise performance in systemic hypertension and in healed myocardial infarction. *The American journal of cardiology* 1997; 80: 1144-1149
505. Opdahl A, Remme EW, Helle-Valle T, Lyseggen E, Vartdal T, Pettersen E, Edvardsen T, Smiseth OA. Determinants of left ventricular early-diastolic lengthening velocity: independent contributions from left ventricular relaxation, restoring forces, and lengthening load. *Circulation* 2009; 119: 2578-2586
506. Melka J, Rienzo M, Bize A, Jozwiak M, Sambin L, Hittinger L, Su JB, Berdeaux A, Ghaleh B. Improvement of left ventricular filling by ivabradine during chronic hypertension: involvement of contraction-relaxation coupling. *Basic Res Cardiol* 2016; 111: 30
507. Marwick TH. Methods used for the assessment of LV systolic function: common currency or tower of Babel? *Heart* 2013; 99: 1078-1086
508. Wehrens XH, Lehnart SE, Reiken SR, Deng SX, Vest JA, Cervantes D, Coromilas J, Landry DW, Marks AR. Protection from cardiac arrhythmia through ryanodine receptor-stabilizing protein calstabin2. *Science* 2004; 304: 292-296
509. Kohno M, Yano M, Kobayashi S, Doi M, Oda T, Tokuhisa T, Okuda S, Ohkusa T, Kohno M, Matsuzaki M. A new cardioprotective agent, JTV519, improves defective channel gating of ryanodine receptor in heart failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003; 284: H1035-1042
510. Andersson DC, Marks AR. Fixing ryanodine receptor Ca leak - a novel therapeutic strategy for contractile failure in heart and skeletal muscle. *Drug Discov Today Dis Mech* 2010; 7: e151-e157
511. Marks AR. Calcium cycling proteins and heart failure: mechanisms and therapeutics. *J Clin Invest* 2013; 123: 46-52
512. Toischer K, Lehnart SE, Tenderich G, Milting H, Korfer R, Schmitto JD, Schondube FA, Kaneko N, Loughrey CM, Smith GL, Hasenfuss G, Seidler T. K201 improves aspects of the contractile performance of human failing myocardium via reduction in Ca<sup>2+</sup> leak from the sarcoplasmic reticulum. *Basic Res Cardiol* 2010; 105: 279-287
513. Rienzo M, Melka J, Bize A, Sambin L, Jozwiak M, Su JB, Hittinger L, Berdeaux A, Ghaleh B. Ivabradine improves left ventricular function during chronic hypertension in conscious pigs. *Hypertension* 2015; 65: 122-129
514. Lucats L, Ghaleh B, Colin P, Monnet X, Bize A, Berdeaux A. Heart rate reduction by inhibition of If or by beta-blockade has different effects on postsystolic wall thickening. *Br J Pharmacol* 2007; 150: 335-341
515. Couvreur N, Tissier R, Pons S, Chetboul V, Gouni V, Bruneval P, Mandet C, Pouchelon JL, Berdeaux A, Ghaleh B. Chronic heart rate reduction with ivabradine improves systolic function of the reperfused heart through a dual mechanism involving a direct mechanical effect and a long-term increase in FKBP12/12.6 expression. *Eur Heart J* 2010; 31: 1529-1537
516. Ciobotaru V, Heimbürger M, Louedec L, Heymes C, Ventura-Clapier R, Bedossa P, Escoubet B, Michel JB, Mercadier JJ, Logeart D. Effect of long-term heart rate reduction by If current inhibition on pressure overload-induced heart failure in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 2008; 324: 43-49
517. Vantrimpont PJ, Felice H, Paulus WJ. Does dobutamine prevent the rise in left ventricular filling pressures observed during exercise after heart transplantation? *Eur Heart J* 1995; 16: 1300-1306
518. Shapiro BP, Owan TE, Mohammed S, Kruger M, Linke WA, Burnett JC, Jr., Redfield MM. Mineralocorticoid signaling in transition to heart failure with normal ejection fraction. *Hypertension* 2008; 51: 289-295

**TITRE :** Caractérisation et modulation pharmacologique de la fonction ventriculaire gauche et du couplage contraction-relaxation par la mesure de la torsion et de la détorsion au cours de l'hypertension artérielle chronique

**NOM :** Mathieu JOZWIAK

**RESUME :** L'hypertension artérielle chronique induit une hypertrophie ventriculaire gauche, à l'origine d'une dysfonction diastolique caractérisée par des troubles de la relaxation, de la compliance et du remplissage ventriculaires gauches, le tout aggravé par toute augmentation de la fréquence cardiaque. Le couplage contraction-relaxation physiologique implique, en cas de préservation dans ce contexte d'hypertrophie ventriculaire gauche, que cette dysfonction diastolique s'accompagne d'une dysfonction systolique. Ainsi, ce travail de thèse s'est attaché (1) à caractériser la fonction ventriculaire gauche et le couplage contraction-relaxation à l'aide de la mesure de la torsion et la détorsion, (2) à étudier les mécanismes cellulaires impliqués dans le couplage contraction-relaxation et (3) à explorer les effets d'une stratégie thérapeutique visant à réduire la fréquence cardiaque sur la torsion et la détorsion du ventricule gauche dans un modèle d'hypertension artérielle chronique et d'hypertrophie ventriculaire induites chez le porc chroniquement instrumenté par la perfusion continue d'angiotensine II pendant 28 jours. A J28, la torsion et la détorsion étaient diminuées et la détorsion également retardée au sein du cycle cardiaque, alors que la fraction d'éjection ventriculaire gauche était préservée. Le couplage contraction-relaxation était préservé, tant au niveau du ventricule gauche qu'à l'échelon cardiomyocytaire, suggérant que toute dysfonction diastolique devrait faire rechercher une dysfonction systolique. A J28, ces anomalies fonctionnelles s'accompagnaient d'une diminution de l'expression de la SERCA2a et de sa protéine régulatrice le phospholamban. Des anomalies du récepteur de la ryanodine de type 2 étaient aussi observées avec son hyperphosphorylation et la dissociation de sa protéine régulatrice calstabile 2, à l'origine de fuites calciques systoliques et diastoliques. Ce dernier pourrait ainsi jouer un rôle clé dans la préservation du couplage contraction-relaxation et représenter l'intégrateur entre les anomalies ventriculaire gauche systolique et diastolique observées. Enfin, la réduction pharmacologique de la fréquence cardiaque à J28 par l'ivabradine, un inhibiteur sélectif des canaux If, permettait d'améliorer, en partie par des effets fréquence-indépendants dont les mécanismes cellulaires restent à élucider, tant les anomalies ventriculaire gauche diastolique que systolique, avec une amélioration des temps de contraction et de relaxation isovolumiques, de la torsion et de la détorsion ainsi que du remplissage du ventricule gauche. En l'absence d'hypertrophie ventriculaire gauche, la réduction de la fréquence cardiaque à des valeurs inférieures à 60 batt/min s'accompagnait d'un effet délétère fréquence-dépendant, à l'origine d'une altération isolée de la fonction diastolique caractérisée par une diminution de la détorsion du ventricule gauche et une augmentation de la pression télédiastolique ventriculaire gauche. La caractérisation de la fonction ventriculaire gauche et l'étude du couplage contraction-relaxation par la mesure de la torsion et de la détorsion en cas de décompensation cardiaque restent à déterminer.

**MOTS-CLES :** hypertension artérielle, hypertrophie ventriculaire gauche, torsion du ventricule gauche, détorsion du ventricule gauche, couplage contraction-relaxation, ivabradine

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