



HAL
open science

Etude expérimentale évaluant l'effet de l'urapidil sur le tonus artériel et sa capacité à préserver la vasoconstriction hypoxique dans l'artère pulmonaire

Claire Bopp

► **To cite this version:**

Claire Bopp. Etude expérimentale évaluant l'effet de l'urapidil sur le tonus artériel et sa capacité à préserver la vasoconstriction hypoxique dans l'artère pulmonaire. Cardiologie et système cardiovasculaire. Université de Strasbourg, 2017. Français. NNT : 2017STRAJ098 . tel-01767648

HAL Id: tel-01767648

<https://theses.hal.science/tel-01767648v1>

Submitted on 16 Apr 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.



Ecole Doctorale des Sciences de la Vie et de la Santé

Laboratoire de Biophotonique et Pharmacologie

CNRS UMR 7213 Faculté de Pharmacie

THÈSE

Pour l'obtention du grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE STRASBOURG

Discipline : Pharmacologie et Physiopathologie Cardiovasculaire

Etude expérimentale évaluant l'effet de l'urapidil sur le tonus artériel et sa capacité à préserver la vasoconstriction hypoxique dans l'artère pulmonaire

Présentée et soutenue publiquement

par

Claire BOPP

Le 17 novembre 2017 devant le jury :

Professeur **Bernard MULLER**

Professeur **Emmanuel SAMAIN**

Professeur **Dominique CHASSARD**

Professeur **Julien POTTECHER**

Professeur **Pierre DIEMUNSCH**

Professeur **Valérie SCHINI-KERTH**

Rapporteur externe

Rapporteur externe

Examineur

Examineur

Directeur de thèse

Co-Directrice de thèse

Remerciements

Ce mémoire ponctue le fruit de discussion, de réflexion et d'expériences partagées entre de nombreuses personnes en divers endroits et moments. A toutes ces personnes, je dédie ce mémoire.

A Madame le **Professeur Valérie SCHINI-KERTH**, ma directrice de thèse,

Qui m'a guidée dans l'élaboration de ce travail, encouragée et soutenue tout au long de ce projet avec patience et indulgence. Pour son ouverture d'esprit, son intérêt pour le monde des cliniciens et la pleine confiance qu'elle m'a accordée. Votre passion pour la recherche est une source de motivation pour l'avenir.

Veillez trouver ici ma sincère reconnaissance.

A Monsieur le **Professeur Pierre DIEMUNSCH**, mon directeur de thèse,

Qui m'a ouvert les portes de l'anesthésie et montré le chemin. Pour m'avoir encouragé et soutenu dans cette aventure avec gentillesse et indulgence. Votre enthousiasme et votre compétence ont suscité toute mon admiration.

Veillez trouver ici le témoignage de ma profonde reconnaissance.

A Messieurs les **Professeurs Bernard MULLER** et **Emmanuel SAMAIN**,

Vous nous faites l'honneur de juger ce travail de thèse.

Veillez trouver ici le témoignage de nos remerciements sincères.

A Messieurs les **Professeurs Dominique CHASSARD** et **Julien POTTECHER**,

Vous nous faites l'honneur de participer au jury de cette thèse,

Veillez recevoir ici toute notre considération et notre profonde gratitude.

A toutes les personnes **de l'équipe de Valérie SCHINI-KERTH**, au **Docteur Cyril AUGER**, pour son accueil au sein du laboratoire, son aide précieuse, et sa sympathie à **Brigitte POLLET** qui m'a toujours soutenu et épaulé. Aux agréables moments passés ensemble.

A **Hervé**, toujours à mes côtés.

A **Manon, Oriane et Paul**, pour leur amour et leur tendresse.

A **mes parents**, Nicole et Pierre pour m'avoir accompagné avec amour, tout aux longs des aventures de la vie, encore aujourd'hui.

A **mon frère Laurent** et sa petite famille.

A **tous mes amis** que je ne citerai pas de peur d'en oublier. Merci.

Table des matières

Listes des Figures	iii
Production scientifique	iv
Liste des abréviations	ix
Introduction	1
Chapitre I: Urapidil: de l'ancienne molécule aux indications récentes	4
1. Propriétés Pharmacologiques	4
1.1. Propriétés Pharmacodynamiques cardiovasculaires	4
1.1.1. <i>Les récepteurs adrénergiques et sérotoninergiques : généralités</i>	5
1.1.2. <i>L'effet périphérique de l'urapidil</i>	8
1.1.3. <i>L'effet central de l'urapidil</i>	9
1.2. Autres effets pharmacodynamiques	12
1.3. Propriétés pharmacocinétiques	12
2. Les indications classiques et plus récentes de l'urapidil	12
2.1. Les indications classiques	13
2.1.1. <i>L'urgence hypertensive</i>	13
2.1.2. <i>Urapidil dans la période périopératoire</i>	13
2.2. Les indications plus récentes	14
2.2.1. <i>Urapidil et pré-éclampsie</i>	14
2.2.2. <i>Urapidil et pathologies respiratoires</i>	15
Chapitre II : La vasoconstriction hypoxique pulmonaire	18
1. La circulation pulmonaire	18
1.1. Caractéristiques anatomiques et physiologiques	18
1.2. Pressions, débits, résistances pulmonaires	22
1.2.1. <i>Pression et résistances</i>	22
1.2.2. <i>Relation pression débit</i>	23
1.3. Facteurs modulant le niveau des résistances pulmonaires et donc du tonus vasculaire pulmonaire	24
1.3.1. <i>Facteurs mécaniques</i>	24
1.3.2. <i>Contrôle du tonus vasculaire pulmonaire</i>	26

2. La vasoconstriction hypoxique pulmonaire	27
2.1. Généralités	27
2.2. Mécanisme d'action	31
2.2.1. <i>Stimulus hypoxique</i>	32
2.2.2. <i>Transmission du message</i>	35
2.2.3. <i>Modulation du mécanisme</i>	38
2.3. Facteurs affectant la VHP	47
2.3.1. <i>Médicaments interférant avec le VHP</i>	47
2.3.2. <i>Hétérogénéité de la VHP</i>	49
2.4. Les différents modèles expérimentaux étudiant la VHP	49
2.4.1. <i>Les différents modèles</i>	49
2.4.1.1. Modèle des vaisseaux pulmonaires isolés	50
2.4.1.2. Modèle de perfusion ventilation pulmonaire <i>ex vivo</i>	52
2.4.1.3. Modèle d'hypoxie chez l'animal entier	53
2.4.2. <i>Les limites des modèles</i>	54
3. Les implication clinique de la VHP :de la physiologie à la pathologie	54
3.1. La Circulation fœtale	55
3.2. Régulation du rapport ventilation/perfusion et VHP	56
3.2.1. <i>VHP et poumon sain</i>	56
3.2.2. <i>VHP et poumon pathologique</i>	56
Hypothèses de travail	59
Article 1 : Publié dans European Journal of Pharmacology	61
Article 2 : Soumis dans Anesthesiology	69
Discussion	93
Conclusion générale	107
Références	108

Listes des Figures

Figure 1 : Structure chimique de l'urapidil	4
Figure 2 : Structure chimique du 8-hydroxy-2-(di-n-propylamino) tetralin (8-OHDPAT)	4
Figure 3 : Caractérisation de la stimulation des récepteurs alpha 1 adrénergiques	6
Figure 4 : Cascade de signalisation après la fixation de la sérotonine sur le récepteur 5-HT _{1A}	7
Figure 5 : Mécanismes impliqués dans l'effet antihypertenseur de l'urapidil	9
Figure 6 : Circulation pulmonaire et circulation systémique	19
Figure 7 : Echange gazeux au niveau de l'alvéole	19
Figure 8 : Structure d'artère et de veine pulmonaire	21
Figure 9 : Modèle d'interprétation de l'inhomogénéité de la perfusion pulmonaire (Zones de West)	25
Figure 10 : Première description du phénomène de vasoconstriction hypoxique pulmonaire par Von Euler et Liljestrand chez le chat ventilé	27
Figure 11 : Courbe en fonction du temps de la réponse hypoxique	29
Figure 12 : Les différents acteurs impliqués dans la détection de l'hypoxie	35
Figure 13 : Schéma de la contraction de la cellule musculaire lisse	36
Figure 14 : Rôle de la balance d'oxydoréduction dans le déclenchement de la VHP	37
Figure 15 : Schéma d'une cellule endothéliale pulmonaire et alvéole	39
Figure 16 : Rôle du monoxyde d'azote dans la vasodilatation de l'artère pulmonaire	41
Figure 17 : Rôle de l' Inosine 3',5'- cyclique monophosphate (IMPC) comme médiateur dans le VHP	43
Figure 18 : Synthèse des prostaglandines (PG) et thromboxane A ₂ (TXA ₂)	44
Figure 19 : Régulation de la synthèse de l'endothéline-1	46
Figure 20 : Hétérogénéité de la réponse à la VHP chez l'homme	49
Figure 21 : Représentation et fonctionnement des chambres à organes isolés	50
Figure 22 : Modèle perfusion ventilation pulmonaire ex vivo	52
Figure 23 : Circulation fœtale in-utero	55
Figure 24 : Rapport ventilation /perfusion chez le patient sain et pathologique	57

Publications et communications scientifiques

Publications

1. Faisant l'objet de ce travail:

C. Bopp, C. Auger, P. Diemunsch, V. Schini-Kerth, The effect of urapidil, an alpha-1 adrenoceptor antagonist and a 5-HT_{1A} agonist, on the vascular tone of the porcine coronary and pulmonary arteries, the rat aorta, and the human pulmonary artery. *Eur J Pharmacol.* 2016 ; 779:53-8

C. Bopp, C. Auger, A. Mebazza, G.P. Joshi, V. Schini-Kerth, P. Diemunsch. Urapidil but not calcium channel inhibitor preserves the hypoxic pulmonary vasoconstriction (HPV): An Experimental Study in Pigs. Soumis à *Anaesthesiology* 2017

2. Ne Faisant pas l'objet de ce travail

C. Chauvin, A.S. Shalber, F. Lefebvre, **C. Bopp**, G. Carrenard, L. Marcoux, J.F. Mayer, C. Schwaab, G.P. Joshi, P. Diemunsch. Early postoperative oral fluid intake in paediatric day case surgery influences the need for opioids and postoperative vomiting: a controlled randomized trial. *Br J Anaesth.* 2017 ; 118:407-414.

Textes demandés par l'industrie et parutions de vulgarisation

I-gel* en chirurgie pédiatrique : première série mondiale au CHU de Strasbourg. Capital Equipement Médical. P. Diemunsch, **C. Bopp**. Septembre 2009 N°124 pp 4-5.

Communications Scientifiques orales

1. Faisant l'objet de ce travail

Internationales

C. Bopp, G. Joshi, V. Schini-Kerth, P. Diemunsch. Inhibitory effect of urapidil on vascular tone in rat aortics rings : Role of the alpha-1 adreno receptors.. *American Society of Anesthesiologists (ASA) Annual Meeting*; Washington, U.S.A., October 13-17, 2012 A488

C. Bopp, G. Joshi, V. Schini-Kerth, P. Diemunsch. Characterization of the potential serotonergic effects of urapidil on different arterial beds in various species. *American Society of Anesthesiologists (ASA) Annual Meeting*; Washington, U.S.A., October 13-17, 2012 A989

Nationales

C. Bopp, C. Auger, V. Schini-Kerth, P. Diemunsch. Caractérisation des effets vasculaires sérotoninergiques de l'Urapidil sur différents lits artériels et dans différentes espèces. *54ème congrès national d'anesthésie et de réanimation (SFAR)* Paris, 19-20 septembre 2012. Ann. Fr. Anesth. Réanim. 2012, résumés des communications libres R469

C. Bopp, C. Auger, V. Schini-Kerth, P. Diemunsch. The effect of urapidil, an alpha-1 adrenoceptor antagonist and a 5-HT_{1A} agonist, on vascular tone of isolated porcine coronary and pulmonary arteries, rat aorta, and human pulmonary artery. *Journées du campus D'Illkirch (JCI)* Avril 2015

2. Ne faisant pas l'objet de ce travail

Internationales

C. Bopp, G. Carrenard, C. Chauvin, C. Schwaab, P. Diemunsch. The I-gel in paediatric surgery : initial series. *American Society of Anesthesiologists (ASA) Annual Meeting*; New Orleans, U.S.A., October 17-21 2009 A 147

Nationales

C. Bopp, C. Chauvin, C. Schwaab, J.F. Mayer, L. Marcoux, P. Diemunsch. L'I-gel en chirurgie pédiatrique : série initiale. *51ème Congrès National d'Anesthésie et de Réanimation (SFAR) Paris*, 23-26 septembre 2009. Ann. Fr. Anesth. Réanim. 2009, 28 R544

C. Bopp, C. Chauvin, C. Schwaab, J.F. Mayer, G. Carrenard, P. Diemunsch. Le masque laryngé I-Gel* en anesthésie pédiatrique : série initiale. *40èmes Journées Nationales de la Société Française de Médecine Périnatale (SFMP)*, Deauville 20 – 22 octobre 2010. Rev. Med. Périnat. 2010 ; 2 suppl1 S106 P032

Communications Scientifiques affichées

1) Faisant l'objet de ce travail

C. Bopp, C. Auger, V. Schini-Kerth, P. Diemunsch. Urapidil Preserves the Hypoxic Pulmonary Vasoconstriction (HPV): An Experimental Study in Pigs. *American Society of Anesthesiologists (ASA) Annual Meeting*. Chicago, U.S.A., October 22-26, 2016 A1151

C. Bopp, C. Auger, V. A. Mebazza, G. Joshi, Schini-Kerth, P. Diemunsch. Urapidil but not Calcium Channel Inhibitor Clevidipine Preserves the Hypoxic Pulmonary Vasoconstriction (HPV): An Experimental Study in Pigs. *American Society of Anesthesiologists (ASA) Annual Meeting*. Boston, U.S.A., October 21-25, 2017 A1137

2) Ne faisant pas l'objet de ce travail

Internationales

P. Bentzinger, C. Chauvin, **C. Bopp**, G. Carrenard, L. Marcoux, J.F. Mayer, C. Schwaab, B. Calon, P. A. Diemunsch. Antibioprophylaxis for Child's Appendicitis, Are We Correctly Aiming at the Targets? A French Retrospective Survey. *American Society of Anesthesiologists (ASA) Annual Meeting*. New orleans, U.S.A., October 11-15, 2014 A4296

C. Bopp, C. Chauvin, G. Mahoudeau, I. Lacreuse, V. Gasia, P. Diemunsch, T. Pottecher, M.D. Polytrauma in Children: Challenge of Interprofessional Management With Full Scale Simulation. *American Society of Anesthesiologists (ASA) Annual Meeting*. New orleans, U.S.A., October 11-15, 2014 A3138

A.S. Schalber-Geyer, C. Chauvin, **C. Bopp**, G. Carrenard, C. Mahler, L. Marcoux, J.F. Mayer, C. Schwaab, P. Diemunsch. Postoperative Vomiting and Need for Opioids After Early Feeding in Paediatric Day Case Surgery. An Open Randomized Controlled Study. *American Society of Anesthesiologists (ASA) Annual Meeting*. San Diego, U.S.A., October 22-27, 2015 A4205

C. Chauvin, **C. Bopp**, I. Lacreuse, J. Bonnomet, C. Bailleux, B. lebas, F. Becmeur, P. A. Diemunsch. Effect of Hypnosis on Post-operative Pain after Surgery for Pectus Excavatum: A Retrospective Evaluation in 28 Children. *American Society of Anesthesiologists (ASA) Annual Meeting*. Chicago, U.S.A., October 22-26, 2016 A2240

S. Hummel, C. Chauvin, **C. Bopp**, I. Kauffmann, A. Meyer, C. Bruant-Rodier, F. Becmeur, P. A. Diemunsch. Bilateral Suprazygomatic Maxillary Nerve Block for Cleft Palate Surgery in Children: A Retrospective Evaluation. *American Society of Anesthesiologists (ASA) Annual Meeting*. Chicago, U.S.A., October 22-26, 2016 A2242

Nationales

P. Bentzinger, C. Chauvin, **C. Bopp**, J.F. Mayer, P. Diemunsch. Antibioprophylaxie et appendicectomie de l'enfant : enquête de pratiques, épidémiologie bactérienne, évaluation d'un protocole d'antibioprophylaxie. 56ème congrès national d'anesthésie et de réanimation (**SFAR**) Paris, 17-20 septembre 2014. *Ann. Fr. Anesth. Réanim.* 2014, résumés des Communications libres R409

C. Chauvin, **C. Bopp**, G. Mahoudeau, I. Lacreuse, P. Diemunsch, T. Pottecher. L'enfant polytraumatisé : relever le défi de la prise en charge interdisciplinaire à l'aide de la simulation sursite. 56ème congrès national d'anesthésie et de réanimation (**SFAR**) Paris, 17-20 septembre 2014. *Ann. Fr. Anesth. Réanim.* 2014 R301

C. Bopp, F. Barthomeuf, C. Chauvin, G. Carrenard, P. Diemunsch. Intubation difficile chez l'enfant : intérêt de la « technique à 3 mains ». 56ème congrès national d'anesthésie et de réanimation (**SFAR**) Paris, 17-20 septembre 2014. *Ann. Fr. Anesth. Réanim.* 2014 R350

V.F. Thuet, **C.Bopp**, C. Chauvin, C. Schwaab, M. Schaeffer, P. Diemunsch. Évaluation de l'intérêt de la coelioscopie dans la prise en charge de la sténose hypertrophique du pylore au CHU de Hautepierre : étude rétrospective de 2011 à 2013. 57ème congrès national d'anesthésie et de réanimation (SFAR) Paris, 17-19 septembre 2015. *Ann. Fr. Anesth. Réanim.* 2015 R191

A.S. Schalber-Geyer, C. Chauvin, **C. Bopp**, G. Carrenard, C. Mahler, L. Marcoux, J.F. Mayer, C. Schwaab, P. Diemunsch Incidence des vomissements postopératoires après réalimentation précoce en chirurgie ambulatoire chez l'enfant de moins de 4 ans. Etude randomisée, monocentrique, prospective. 57ème congrès national d'anesthésie et de réanimation (SFAR) Paris, 17-19 septembre 2015. *Ann. Fr. Anesth. Réanim.* 2015 R414

S. Hummel, C. Chauvin, **C. Bopp**, I. Kauffmann, A. Meyer, C. Bruant-Rodier, F. Becmeur, P. A. Diemunsch. Effet du bloc maxillaire par voie suprazygomatique dans la chirurgie labio-palatine de l'enfant : étude rétrospective. 58ème congrès national d'anesthésie et de réanimation (SFAR) Paris, 22-24 septembre 2016. *Ann. Fr. Anesth. Réanim.* 2016 R152

C. Chauvin, A.S. Schalber-Geyer, **C. Bopp**, J. Bonnomet, C. Bailleux, B. lebas, F. Becmeur, P. A. Diemunsch. Apport de l'accompagnement hypnotique sur la douleur post-opératoire chez l'enfant après chirurgie du pectus excavatum: évaluation rétrospective chez 28 enfants. 59ème congrès national d'anesthésie et de réanimation (SFAR) Paris, 21-23 septembre 2016. *Ann. Fr. Anesth. Réanim.* 2017 R101

K. Cogne, C. Chauvin, **C. Bopp**, J.F. Mayer, P. Diemunsch. Etude de morbi-mortalité en anesthésie pour chirurgie pédiatrique au CHU de Strasbourg : étude rétrospective sur 21 142 cas. 59ème congrès national d'anesthésie et de réanimation (SFAR) Paris, 21-23 septembre 2017. *Ann. Fr. Anesth. Réanim.* 2017 R407

Liste des Abréviations

ACh	Acétylcholine
ATP	Adénosine Tri-Phosphate
AMM	Autorisation de mise sur le marché
AMPC	Adénosine monophosphate cyclique
ANOVA	Analyse de variance
ATP	Adénosine Triphosphate
BK	Bradykinine
BPCO	Broncho-pneumopathie obstructive
Ca ²⁺	Ion Calcium
CaM	Calmoduline
CE	Cellule endothéliale
CML	Cellule musculaire lisse
COX	Cyclooxygénase
CPP	Comité de protection des personnes
DAG	Diacylglycerol
eNOS	NO synthase endothéliale (NOSIII)
ET-1	Endothéline-1
ET _{A/B}	Recepteur de l'endothéline-1 de type A et B
GC	Guanylyl Cyclase
GCs	Guanylyl Cyclase soluble
GTP	Guanosine triphosphate
GMPc	Guanosine monophosphate cyclique
H ₂ O ₂	Peroxyde d'hydrogène
HDL	High Density Lipoprotein
HTA	Hypertension artérielle
HTAP	Hypertension artérielle pulmonaire
IC	Inhibiteur calcique
IKCa	Canaux potassiques dépendants du calcium de moyenne Conductance
IMPc	Inosine 3',5'- cyclique monophosphate

ITP	Inosine triphosphate
Kv	Canaux potassique voltages-dépendants
Kir	Canaux potassique rectifiant entrant
KO	Knock out
LDL	Low density Lipoprotein
L-NAME	Ester méthylique de nitro-L-arginine
NaCl	Chlorure de sodium
NAD	Nicotinamide Adenine Dinucleotide
NADPH	Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate
NO	Monoxyde d'azote
NOS	NO synthase
ODQ	1H-[1,2,4]oxadiazolo-[4, 3-a]quinoxalin-1-one
O ₂ ⁻	Anion Superoxyde
OH ⁻	Ion hydroxyle
OHDPAT	8-hydroxy-2-(di-n-propylamino) tetralin
PA	Pression artérielle
PAS	Pression artérielle systolique
PG	Prostaglandine
PGI2	Prostacycline
PI3K	Phosphatidylinositide 3-kinase
PKA	Protéine kinase A
PKC	Protéine kinase C
PKG	Protéine kinase G
ROS	Espèces réactives de l'oxygène
RCP	Recommandations pour la pratique clinique
SBV	Sérum bovin fœtal
SOD	Superoxyde dismutase
TxA2	Thromboxane A2
U46619	Analogue de la Thromboxane A2
U	Urapidil (Eupressyl [®])
VHP	Vasoconstriction hypoxique pulmonaire

Introduction

INTRODUCTION

L'hypertension artérielle (HTA) est la première maladie chronique dans le monde et un des principaux facteurs de risque vasculaire. Une prise en charge efficace de l'HTA diminue le risque de complications cardiovasculaires et contribue à l'allongement de l'espérance de vie. En milieu anesthésique, une enquête réalisée en 1996 a révélé qu'un tiers des 8 millions d'anesthésies effectuées chaque année concerne des patients âgés de plus de 60 ans à forte prévalence d'hypertension artérielle (Clergue *et al.*, 1999). C'est dire la fréquence avec laquelle le médecin anesthésiste réanimateur est confronté à la prise en charge d'un opéré hypertendu. Chez ces patients, la préparation à l'intervention, la conduite de l'anesthésie et des soins postopératoires doivent assurer une stabilité tensionnelle, pour limiter le risque de survenue de complications cardiovasculaires auxquelles ces malades sont plus particulièrement exposés. Les accès d'hypertension artérielle peropératoire sont principalement le fait d'un niveau d'hypnose ou d'analgésie inadapté au stimulus chirurgical. Au réveil, ces accès hypertensifs résultent essentiellement de l'augmentation du tonus adrénergique en réponse à des stimulations nociceptives et à une levée de la vasodilatation observée pendant l'anesthésie. Quoi qu'il en soit, en per ou postopératoire ces épisodes hypertensifs doivent être traités rapidement. Dans la même idée, la pré-éclampsie est une situation particulièrement à risque dans laquelle la prise en charge de l'hypertension artérielle est un enjeu majeur. Les inhibiteurs des canaux calciques voltage-dépendants, en particulier ceux du groupe des dihydropyridines, nifédipine et nicardipine, occupent une place importante comme traitement de première intention de ces accès hypertensifs (Coriat *et al.*, 2004). Leur administration a cependant été l'objet de restrictions de la part des autorités sanitaires françaises.

L'utilisation au cours de la période périopératoire de l'urapidil, agent antihypertenseur d'action mixte centrale et périphérique, a été décrite par Dooley dès 1998 (Dooley *et al.*, 1998). Depuis cette date, l'urapidil a conquis une place importante dans l'arsenal thérapeutique antihypertenseur, en raison d'une tolérance particulièrement satisfaisante. Ainsi, l'urapidil n'induit pas de tachycardie réflexe contrairement aux inhibiteurs calciques voltage-dépendants, antihypertenseurs classiquement proposés en première intention (Roche *et al.*, 2011). Malgré cela, son indication reste limitée à l'hypertension accompagnée d'une atteinte viscérale menaçant le pronostic vital à très court terme [recommandation pour la

pratique courante, RCP d'Eupressyl[®]]. Cette restriction dans ses indications peut s'expliquer par un mécanisme d'action complexe et non complètement élucidé. L'urapidil, antihypertenseur vasodilatateur agit par deux mécanismes au moins : l'un périphérique par blocage des récepteurs alpha-1 adrénergiques et l'autre central par stimulation des récepteurs 5-HT_{1A} sérotoninergiques et inhibition du système nerveux sympathique (Fozard *et al.*, 1987; Saxena *et al.*, 1990). Son action sur les récepteurs alpha-1 adrénergiques est bien connue et serait responsable de la majeure partie de son action (Saxena *et al.*, 1990; Van Zwieten *et al.*, 1990; Gross *et al.*, 1987; Grohs *et al.*, 1992). L'urapidil agit également par un mécanisme central par stimulation de récepteurs 5-HT_{1A} sérotoninergiques localisées au niveau de la région ventromédullaire du cerveau. L'implication éventuelle des récepteurs 5-HT_{1A} sérotoninergiques périphériques dans l'action de l'urapidil est mal connue. **Dans un premier temps, nous avons souhaité caractériser les effets vasculaires sérotoninergiques de l'urapidil sur différents lits artériels et dans différentes espèces**, compte tenu de la diversité des effets médiés par les récepteurs sérotoninergiques. En effet, les récepteurs impliqués dans l'effet vasculaire vasodilatateur de la sérotonine sont hétérogènes. De différents types, ils dépendent de nombreux facteurs dont l'espèce et le lit vasculaire. Ainsi l'effet vasodilatateur endothélial dépendant de la sérotonine serait médié par les récepteurs de type 5-HT_{1D} dans des artères coronaires de porc et de type 5-HT_{2B} pour les artères pulmonaires de porc. Nous nous sommes donc intéressés aux effets vasculaires périphériques de l'urapidil sur des artères coronaires et pulmonaires de porc, des aortes de rat et des artères pulmonaires humaines.

La circulation pulmonaire étant une circulation particulière tant sur le plan anatomique que fonctionnel, notre travail a abordé **dans un deuxième temps l'action de l'urapidil sur le lit vasculaire pulmonaire et en particulier sa capacité à ne pas inhiber la vasoconstriction hypoxique pulmonaire (VHP) réflexe protectrice**. La vasoconstriction hypoxique est un mécanisme physiologique d'adaptation à l'hypoxémie. Cotte et collègues, suggèrent à propos d'un cas clinique publié en 2012, d'éviter l'utilisation des inhibiteurs calciques classiques lorsque la VHP est essentielle pour prévenir une hypoxie aiguë et d'utiliser préférentiellement l'urapidil si un traitement antihypertenseur est nécessaire chez ces patients. Le cas clinique de Cotte met en évidence le respect de la VHP par l'urapidil (Cotte *et al.*, 2012). Peu d'études expérimentales se sont intéressées à la caractérisation du mécanisme de ce phénomène. L'objectif de notre travail est de déterminer d'une part les effets de l'urapidil, de la nicardipine (couramment utilisé en clinique) et de la clévidipine (un

nouvel inhibiteur des canaux calciques voltage-dépendents d'action rapide) sur la vasoconstriction hypoxique d'anneaux d'artères pulmonaires proximales et distales de porc et d'autre part, de caractériser les mécanismes impliqués dans la vasoconstriction hypoxique et la modulation par les deux classes d'antihypertenseurs.

Chapitre I: Urapidil: de l'ancienne molécule aux indications récentes

1. Propriétés Pharmacologiques

1.1. Propriétés Pharmacodynamiques cardiovasculaires

L'urapidil est un agent anti-hypertenseur dérivé du diméthyluracile phénylpiperazinique (Figure 1).

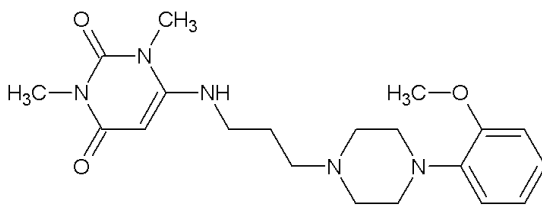


Figure 1 : Structure chimique de l'urapidil :
6-[[3-[4-(2-Methoxyphenyl)-1-piperazinyl]propyl]amino]-1,3-dimethyl-2,4(1*H*,3*H*)-pyrimidinedione hydrochloride
Source : IUPHAR

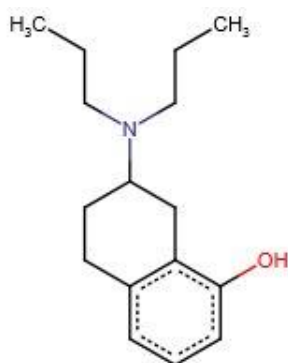


Figure 2 : Structure chimique du 8-OHDPAT
8-hydroxy-2-(di-n-propylamino) tétralin
Agoniste spécifique des récepteurs 5-HT_{1A},
Source : IUPHAR

L'urapidil baisse les pressions artérielles systolique et diastolique principalement en réduisant les résistances artérielles périphériques. Cet effet est la conséquence d'une action mixte périphérique et centrale. La baisse des résistances artérielles périphériques est la conséquence du blocage des récepteurs alpha-1 adrénergiques postsynaptiques. Il exerce

également une action sur le système nerveux central impliquant à la fois un blocage des récepteurs alpha-1 adrénergiques et une activité agoniste sérotoninergique sur les récepteurs 5-HT_{1A}, qui diminue le tonus sympathique et limiterait la tachycardie reflexe (Roche *et al.*, 2011).

1.1.1. Les récepteurs adrénergiques et sérotoninergiques : généralités

Les récepteurs alpha adrénergiques sont subdivisés en plusieurs type selon leur affinité pour différents agonistes et antagonistes. Nous nous intéresserons plus particulièrement aux récepteurs alpha 1 et 2 adrénergiques.

Tableau 1 : Agonistes et antagonistes de récepteurs adrénergiques

Récepteurs	Alpha 1 adrénergique	Alpha 2 adrénergique
Agoniste	adrénaline methoxamin	adrénaline clonidine
Antagoniste	doxazosin prazosin spiroxatrine	yohimbine prazosin spiroxatrine
Mécanisme	Couplage protéine Gq Activation phospholipase C	Couplage protéine Gi Inhibition de l'adenylate cyclase

Source : Site IUPHAR

Les récepteurs alpha adrénergiques 1 et 2 diffèrent également par leur mécanisme d'action. La stimulation des récepteurs alpha adrénergiques 1 par les catécholamines entraîne l'activation d'une protéine de couplage Gq. Cette protéine G active l'effecteur, la phospholipase C, qui entraîne la libération d'inositol 1,4, 5-triphosphate (IP₃) et de diacylglycerol (DAG) à partir du phosphatidylinositol 4,5-diphosphate (PIP₂). L'IP₃ stimule la libération des stocks de calcium (Ca²⁺) séquestrés, entraînant une augmentation de la concentration cytoplasmique de calcium libre. Le calcium se liant à la calmoduline peut alors activer des protéines kinase dépendant du calcium (CaM-kinase) et en particulier la kinase des

chaines légères de la myosine (MLCK) qui va phosphoryler les chaines légères de la myosine et entrainer une contraction (Figure 3).

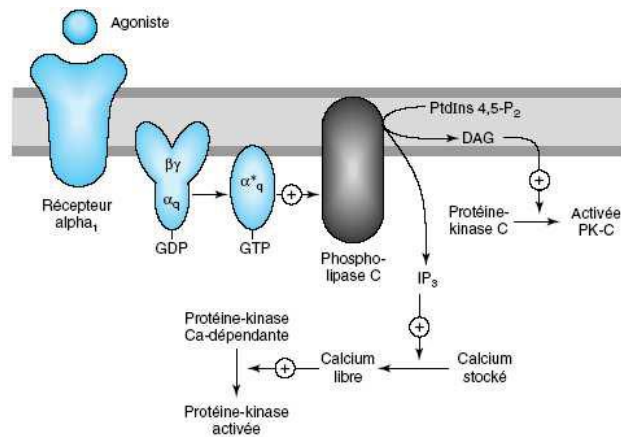


Figure 3: Caractérisation de la stimulation des récepteurs alpha 1 adrénérgiques. La stimulation de ces récepteurs par les catécholamines entraîne l'activation d'une protéine de couplage Gq. Cette protéine G active l'effecteur, une phospholipase C, qui entraîne la libération d'inositol 1,4, 5-triphosphate (IP₃) et de diacylglycerol (DAG) à partir du phosphatidylinositol 4,5-diphosphate (PIP₂). L'IP₃ stimule la libération des stocks de calcium (Ca²⁺) séquestrés, entraînant une augmentation de la concentration cytoplasmique de calcium libre. Le calcium se liant à la calmoduline peut alors activer des protéines kinase dépendant du calcium (CaM-kinase) et en particulier la kinase des chaines légères de la myosine (MLCK) qui va phosphoryler les chaines légères de la myosine et entrainer une contraction.

Les récepteurs sérotoninergiques ont été répartis conventionnellement en sept groupes différents, notés 5-HT₁ à 5HT₇ (IUPHAR). Les sous types 5-HT₁, 2, 4, 5, 6 sont tous heptahélicoïdaux (protéine à sept hélices transmembranaires) couplés aux protéines G. Ces récepteurs modulent l'activité neuronale en augmentant ou diminuant les potentiels d'action postsynaptiques. La famille des récepteurs 5-HT₁ comporte cinq membres, nommés 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{1D}, 5-HT_{1E}, 5-HT_{1F}. Ils ont pu être identifiés grâce la spipérone, une molécule à haute affinité pour les récepteurs 5-HT_{1A} et faible affinité pour 5-HT_{1D}. L'activation du récepteur 5-HT_{1A} (couplé à une protéine G) par la sérotonine provoque une ouverture de canaux potassiques et une fuite de K⁺ et donc hyperpolarisation de la cellule. La fixation de la sérotonine sur le récepteur 5-HT_{1A} (ou 5-HT_{1B}) provoque une modification de sa configuration spatiale, ce qui active la protéine Gi à laquelle il est couplé. Il s'ensuit une cascade de réactions : La stimulation de ces récepteurs couplés à un protéine Gi entraîne une inhibition de l'adényl cyclase (AC). L'inhibition de l'adénylate cyclase (AC) entraîne une diminution de l'adénosine monophosphate cyclique (AMPc) et donc pas d'activation de la

protéine kinase A (PKA). Cela entraîne une augmentation de l'ouverture d'un canal potassique et une sortie importante d'ions K^+ de la cellule provoquant une hyperpolarisation avec augmentation de la charge négative intracellulaire. Finalement, le neurone portant le récepteur se retrouve hyperpolarisé, ce qui entrave la propagation de l'influx nerveux. La sérotonine en activant ces récepteurs 5-HT_{1A} joue ainsi un rôle inhibiteur de l'influx nerveux (Figure 4).

Les corps cellulaires et les dendrites des neurones sérotoninergiques, situés dans les noyaux du raphé, l'hippocampe, l'amygdale et les noyaux de la base, expriment en quantité importante des autorécepteurs 5-HT_{1A} et des canaux potassiques. Les récepteurs 5-HT_{1A} sont aussi largement distribués dans le système limbique où ils sont la cible privilégiée de nombreux anxiolytiques et antidépresseurs. Les récepteurs 5-HT_{1B} et 5-HT_{1D} sont surtout présents au niveau présynaptique dans les ganglions de la base où ils forment une boucle de rétroaction négative.

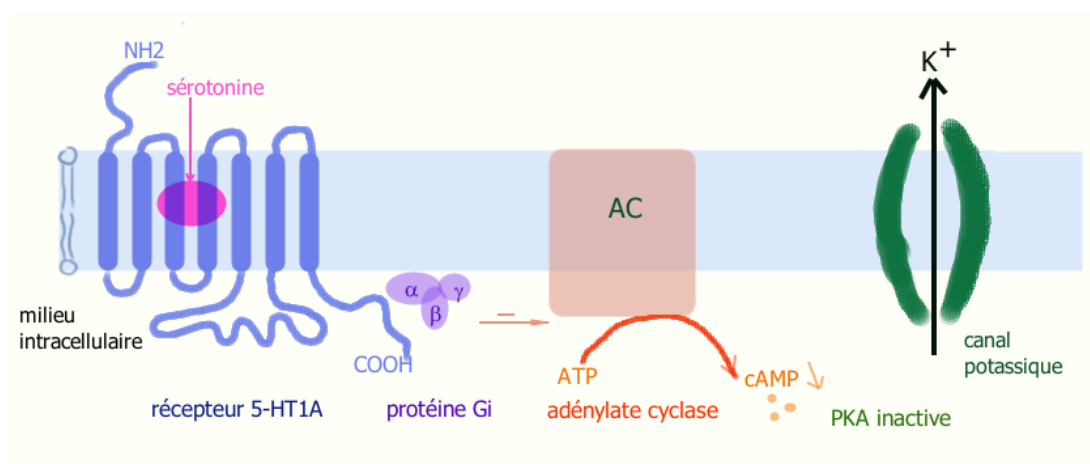


Figure 4 : Cascade de signalisation après la fixation de la sérotonine sur le récepteur 5-HT_{1A}

Source : IUPHAR

Dans certaines espèces, et en particulier dans les artères pulmonaires de porc, les récepteurs 5-HT_{2B/C}, couplés à une protéine Gq, entraînent une production de monoxyde d'azote NO dans la cellule endothéliale entraînant une relaxation du muscle lisse vasculaire et donc une vasodilatation (Glusa *et al.*, 2000).

L'urapidil a une action mixte périphérique et centrale. La baisse des résistances artérielles périphériques est la conséquence du blocage des récepteurs alpha-1 adrénergiques postsynaptiques. Il exerce également une action sur le système nerveux central impliquant à la

fois un blocage des récepteurs alpha-1 adrénergiques et une activité agoniste sérotoninergique sur les récepteurs 5-HT_{1A}, qui diminue le tonus sympathique et limiterait la tachycardie réflexe (Roche *et al.*, 2011).

1.1.2. Effet périphérique de l'urapidil

- **Blocage des récepteurs alpha-1 adrénergiques post synaptiques**

L'effet antagoniste de l'urapidil sur les récepteurs alpha-1 adrénergiques a été largement étudié dans différents modèles et différentes espèces : on parle d'effet alpha-1 bloquant (Figure 5). Dès 1983, Shoetensack suggérait, grâce à l'utilisation d'une antagoniste non sélectif des récepteurs alpha-1 adrénergiques (dihydro-ergotamine), que l'effet antihypertenseur de l'urapidil était principalement le fait d'un blocage des récepteurs alpha-1 adrénergiques (Shoetensak *et al.*, 1983). Peu de temps après, une étude des affinités de l'urapidil pour des radioligands spécifiques dans du tissu cérébral de rat vient confirmer cette hypothèse (Kellar *et al.*, 1984). Ainsi, l'urapidil présente une forte affinité pour les récepteurs alpha-1 adrénergiques mais aussi, mais plus faible, pour les récepteurs alpha-2 adrénergiques.

Quelques années plus tard, avec le développement des antagonistes spécifiques des récepteurs alpha-1 et alpha-2 adrénergiques, il apparaît clairement que l'urapidil est un antagoniste sélectif des récepteurs alpha-1 et 2 adrénergiques mais préférentiellement pour les récepteurs alpha-1 adrénergiques et ceux dans différents modèles animaux : chats et chiens anesthésiés (Kellar *et al.*, 1984), rat anesthésié (Van Zwieten *et al.*, 1985). Dans cette dernière étude sur le rat décérébré, Van Zwieten étudie la courbe dose-réponse de la pression diastolique des rats en fonction de l'administration de cirazoline, un agoniste spécifique des récepteurs alpha-1 adrénergiques, et après un traitement par des doses variées d'urapidil (Van Zwieten *et al.*, 1985). L'effet antagoniste de l'urapidil sur les récepteurs alpha-2 adrénergiques a été également étudié, mais cet effet est largement plus faible que le blocage des récepteurs alpha-1 adrénergiques (Van Zwieten *et al.*, 1985).

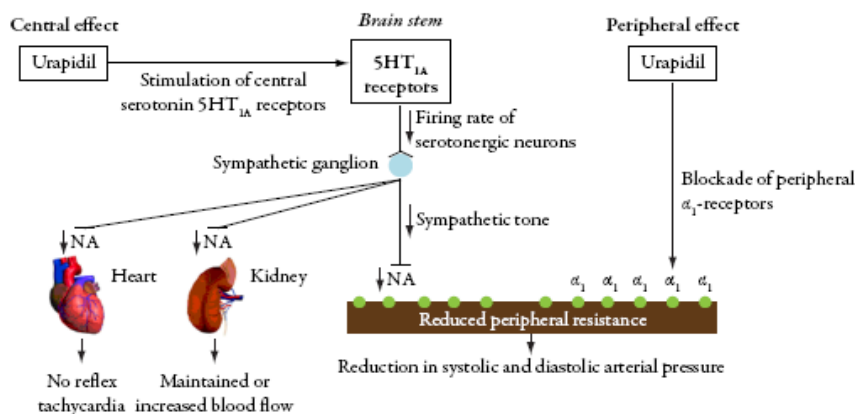


Figure 5 : Mécanismes impliqués dans l'effet antihypertenseur de l'urapidil : effet périphérique par blocage des récepteurs alpha-1 adrénérgiques post synaptiques et central par blocage des récepteurs alpha-1 adrénérgiques et une activité agoniste sérotoninergique sur les récepteurs 5-HT_{1A} (Ramage *et al.*, 1991)

- **Blocage des récepteurs bêta-adrénérgiques cardiaques**

L'urapidil possède une activité β -1 bloquante faible, qui a été décrite par quelques auteurs. Ainsi, Van Zwieten *et al.*, montre que l'urapidil a une action compétitive avec la réponse chronotrope de l'isoprénaline sur des oreillettes de rat isolées (Van Zwieten *et al.*, 1985). Des études pharmacologiques utilisant des antagonistes sélectifs, mettent en évidence l'effet β -1 bloquant mais pas β -2 bloquant de l'urapidil (Van Zwieten *et al.*, 1985). Chez l'homme, cette action reste faible, sans traduction clinique aux doses recommandées (Garcia V. *et al.*, 2010).

1.1.3. Effet central de l'urapidil

Dès 1983, Shoentasak *et al.*, suggère la possibilité d'une part d'origine centrale dans l'effet antihypertenseur de l'urapidil. En effet, l'effet antihypertenseur de l'urapidil est plus marqué quand celui-ci est directement injecté dans le cerveau. L'injection d'urapidil dans l'artère vertébrale gauche diminue plus fortement la pression artérielle (PA) que l'injection dans la veine fémorale de chats anesthésiés (respectivement 30% de réduction de la pression artérielle contre 10% après injection de 300 μ g/ kg d'urapidil) (Van Zwieten *et al.*, 1985). Cet effet serait même plus marqué dans la partie postérieure du cerveau (Kellar *et al.*, 1984).

Mais à cette époque, les preuves sont peu concluantes. Plusieurs hypothèses sont alors proposées : l'implication de récepteurs alpha-2 adrénergiques centraux, le rôle de récepteurs alpha-1 adrénergiques centraux et une hypothèse plutôt novatrice émise par Ramage dès 1986, le rôle de récepteurs sérotoninergiques 5-HT_{1A} centraux responsables d'une inhibition du système nerveux sympathique.

Le rôle des récepteurs alpha-2 adrénergiques centraux dans l'effet central de l'urapidil, comme la clonidine (agoniste classique des récepteurs alpha-2 adrénergiques) a été largement étudié mais cette hypothèse semble peu probable. Premièrement, l'effet antihypertenseur de la clonidine est inchangé par l'injection d'urapidil (Kellar *et al.*, 1984). Deuxièmement, l'effet antihypertenseur centrale de l'urapidil n'est pas inhibée par l'injection préalable, directement dans l'artère vertébrale, de yohimbine (un antagoniste sélectif des récepteurs alpha-2 adrénergiques) contrairement à la réponse à la clonidine (Van Zwieten *et al.*, 1984). Et pour finir, les zones cérébrales impliquées dans les effets centraux de la clonidine et de l'urapidil sont différentes (Timmermans *et al.*, 1981). Ainsi, l'effet central de l'urapidil n'implique pas des récepteurs alpha-2 adrénergiques comme c'est le cas pour la clonidine.

Le rôle des récepteurs alpha-1 adrénergiques centraux n'est pas clair non plus. Pour certains auteurs, les récepteurs alpha-1 adrénergiques centraux joueraient un rôle, même faible, dans l'effet antihypertenseur de l'urapidil (Kellar *et al.*, 1984 ; Ramage *et al.*, 1986). Cependant, Gillis *et al.* ont montré que l'administration centrale de prazosine, un antagoniste sélectif des récepteurs alpha-1 adrénergiques ne reproduit pas l'effet antihypertenseur de l'urapidil (Gillis *et al.*, 1987).

L'idée de l'implication de récepteurs sérotoninergiques 5-HT_{1A} centraux dans l'effet central de l'urapidil s'est développée au fil des études. Premièrement, l'affinité de l'urapidil pour différents sous-types de récepteurs sérotoninergique a été définie par Fozard et collègues en 1987 et une forte affinité pour le sous-type 5-HT_{1A} a été mise en évidence (Fozard *et al.*, 1987). Quelques années plus tard, Laporte confirme cette sélectivité pour le 5-HT_{1A} avec des études de ligands sur le rat *in vitro* (Laporte *et al.*, 1991). Deuxièmement, l'utilisation d'antagonistes sélectifs des récepteurs sérotoninergiques 5-HT_{1A} a été contributive. En effet, le prétraitement par la spiroxatine, un antagoniste sélectif 5-HT_{1A}, réduit l'effet central antihypertenseur de l'urapidil (Nelson *et al.*, 1986 ; Dabire *et al.*, 1987) et du 8-OH-DPAT (8-

hydroxy-2-(di-n-propylamino) tetralin, agoniste spécifique des récepteurs 5-HT_{1A}) (Kolossa *et al.*, 1987 ; Valenta *et al.*, 1990). Dans la même idée, la courbe dose-réponse de l'urapidil est décalée vers la droite de manière parallèle aux concentrations croissantes de spiroxatine (Sanders *et al.*, 1988). Pour finir, le 8-OH-DPAT entraîne une diminution de la pression artérielle malgré le blocage des récepteurs alpha-1 adrénergiques périphériques et centraux par la prazocine (Kolossa *et al.*, 1989).

En conclusion, l'effet antihypertenseur central de l'urapidil sur les récepteurs sérotoninergiques 5-HT_{1A} est additif à son effet périphérique sur les récepteurs alpha-1 adrénergiques post synaptiques. L'effet central de l'urapidil sur les récepteurs 5-HT_{1A} expliqueraient en partie l'absence de tachycardie reflexe (Saxena *et al.*, 1990, Sporton *et al.*, 1991). Les récepteurs sérotoninergiques 5-HT_{1A} impliqués dans l'effet central de l'urapidil se situeraient plus précisément au niveau des aires B₁/B_A de la partie ventromédullaire du cerveau (Van Zwieten *et al.*, 1990 ; Saxena *et al.*, 1990).

Le rôle des récepteurs sérotoninergiques 5-HT_{1A} dans l'effet antihypertenseur de l'urapidil est toujours un sujet de recherche et de discussion. Ainsi, le rôle des récepteurs sérotoninergiques 5-HT_{1A}, bien connus et étudiés au niveau du système nerveux central, est moins connu au niveau du système vasculaire périphérique. C'est pourquoi, l'idée d'une implication potentielle de récepteurs sérotoninergiques 5-HT_{1A} périphériques dans l'effet antihypertenseur de l'urapidil apparaît intéressante. Ainsi, en 1994, Van Zwieten *et al.*, montrent que le flesinoxan, un agoniste sélectif des récepteurs 5-HT_{1A}, entraîne une vasodilatation dans l'avant-bras des volontaires sains qu'à forte dose. A ces fortes concentrations, le flesinoxan ne pouvant plus être considéré comme un agoniste sélectif des récepteurs 5-HT_{1A}, il aurait un petit effet alpha-1 bloquant. Ils en concluent que les récepteurs sérotoninergiques 5-HT_{1A} périphériques ne seraient pas impliqués dans l'effet vasodilatateur de l'urapidil au niveau de lit vasculaire de l'avant-bras. (Van Zwieten *et al.*, 1994). Plus récemment, une équipe russe rapporte une relaxation de l'ordre de 70-80% avec le 8-OH-DPAT sur des aortes de rat pré contractées avec de la noradrénaline, soutenant l'idée de la présence de récepteurs 5-HT_{1A} sur l'aorte de rat (Kozhznikova *et al.*, 2010). La discussion est relancée sur le rôle potentiel des récepteurs sérotoninergiques 5-HT_{1A} périphériques dans l'effet antihypertenseur de l'urapidil.

1.2. Autres effets pharmacodynamiques

Un effet bénéfique de l'urapidil sur le profil lipidique et le métabolisme du glucose, a été suggéré lorsqu'il est administré comme traitement antihypertenseur à des patients hyperlipidémiques ou diabétiques (Dooley *et al.*, 1998). Des études expérimentales ont cherché à préciser les effets d'un traitement par urapidil sur la glycémie de rat diabétique. Une de ses études, compare les effets de la glycémie, l'insulinémie, le poids et la pression artérielle du ramipril (inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine, connu pour son effet favorable sur le métabolisme glucidique) et l'urapidil. Le but de cette étude était de rechercher une antagonisation des effets favorables, là aussi connus, d'un blocage des récepteurs alpha-adrénergiques par l'agonisme 5-HT_{1A} propre à l'urapidil. L'urapidil et le ramipril avaient un effet bénéfique comparable sur tous les paramètres métaboliques et hémodynamiques étudiés (Ittner *et al.*, 2000).

L'urapidil n'interagit pas avec les récepteurs muscariniques, histaminergiques, dopaminergiques ou opioïdes (Garcia *et al.*, 2010).

1.3 Propriétés Pharmacocinétiques

Après administration intra-veineuse, la concentration plasmatique d'urapidil décroît pendant 10 minutes puis reste en plateau pendant environ 1 heure. Ainsi, l'effet antihypertenseur de l'urapidil maximal est observé en deux à trois minutes. L'urapidil est donc un médicament d'action rapide ayant toute sa place dans l'urgence hypertensive. La demi-vie d'élimination sérique est de 2,7 heures en moyenne ce qui correspond à la durée d'action de l'urapidil. L'urapidil est métabolisé essentiellement au niveau hépatique en trois métabolites, dont le principal chez l'homme est le dérivé parahydroxylé (M1), qui est inactif.

2. Les indications classiques et plus récentes de l'urapidil

Les indications figurant sur l'autorisation de mise sur le marché (AMM) française sont l'urgence hypertensive, l'hypertension artérielle péri-opératoire et l'hypotension artérielle contrôlée. En France, l'urapidil par voie intraveineuse est recommandé pour le traitement des urgences hypertensives (Agences française de sécurité sanitaire des produits de santé). En revanche, en Allemagne et en Autriche, l'urapidil est recommandé comme

traitement de première intention de l'hypertension artérielle associée à la pré-éclampsie (Deutsch Gesellschaft, 2010).

2.1. Les indications classiques :

2.1.1. *L'urgence hypertensive*

Une des indications classiques de l'urapidil est l'hypertension artérielle essentielle ayant un retentissement viscéral menaçant le pronostic vital à très court terme (urgence hypertensive) notamment lors de l'hypertension maligne, de l'encéphalopathie hypertensive, de la dissection aortique, de la décompensation ventriculaire gauche avec œdème pulmonaire, ainsi que dans l'hypertension en période périopératoire (Recommandations pour la pratique clinique, 2012). La prise en charge d'une élévation aiguë de la pression artérielle doit être adaptée à chaque situation clinique allant de l'abstention thérapeutique, à la baisse plus marquée et rapide de la pression artérielle. Le traitement, souvent intraveineux, ne doit pas aggraver une situation souvent précaire. L'absence de tachycardie permet dans ces cas, de préserver le flux coronaire et d'optimiser les demandes en oxygène du myocarde. Dans une étude en préhospitalier, Alijotas-Reg et collègues ont montré l'efficacité, la maniabilité et l'absence d'effets indésirables graves de l'urapidil dans le traitement des urgences hypertensives (Alijotas *et al.*, 2001).

2.1.2. *Urapidil dans la période périopératoire*

L'utilisation de l'urapidil au cours de la période périopératoire a été décrite par Dooley et Goa (Dooley *et al.*, 1998). Ses propriétés cardiovasculaires, respiratoires et son effet sur le frisson rendent l'urapidil adapté au contrôle des poussées hypertensives périopératoire. Au cours de la phase de réveil, les épisodes hypertensifs sont le plus souvent liés à une augmentation du tonus adrénergique en réponse à des stimulations nociceptives et à une levée de la vasodilatation observée pendant l'anesthésie. Les frissons ainsi que la période de l'extubation trachéale sont particulièrement à risque d'accès hypertensifs, mais ceux-ci sont de courte durée. Enfin, un peu plus à distance, l'augmentation de la pression artérielle peut être liée à l'interruption des traitements anti-hypertenseurs pendant la période périopératoire. L'urapidil, du fait de ses propriétés pharmacologiques et de sa maniabilité, est un anti-hypertenseur adapté aux élévations postopératoires de la pression artérielle.

Concernant le rôle potentiel de l'urapidil dans la thermorégulation, Fritz *et al.*, ont étudié les modifications des seuils de régulation thermique à la suite d'un prétraitement par l'urapidil, chez des volontaires sains refroidis artificiellement (Fritz *et al.*, 2002). Le seuil de vasoconstriction de l'organisme était diminué à la suite de l'administration d'urapidil dont un bolus de 25 mg suffisait à stopper l'apparition d'un frisson. En post-opératoire, l'urapidil s'avère donc un traitement approprié aux patients coronariens et/ ou insuffisant respiratoires. Il permet de contrôler les poussées hypertensives, de préserver la fonction cardiorespiratoire et de diminuer les conséquences hémodynamiques du frisson postanesthésique (Roche *et al.*, 2011).

2.2. Les indications plus récentes

Des publications récentes concernant l'urapidil, conduisent à envisager de nouvelles indications pour cette « vieille » molécule. Nous ne détaillerons ici que la pré-éclampsie et l'intérêt de l'urapidil dans les pathologies respiratoires, car ces deux sujets présentent un intérêt particulier dans notre travail de recherche. Nous pouvons citer comme autres indications potentielles : l'urapidil et phéochromocytome, urapidil et pathologie ischémique cardiaque, urapidil et insuffisance cardiaque, urapidil et traitement des troubles mictionnels, et urapidil et effets métaboliques (Roche *et al.*, 2011).

2.2.1. Urapidil et pré-éclampsie

L'urapidil, du fait de ses propriétés pharmacologiques est particulièrement intéressant dans le contexte obstétrical et notamment dans le cadre de la prise en charge de la pré-éclampsie. La pré-éclampsie est une pathologie materno-fœtale complexe, de gravité variable, d'évolution imprévisible et classiquement décrite par la triade : hypertension artérielle, protéinurie, œdème des membres inférieurs. Sa physiopathologie encore méconnue associe probablement un rejet du greffon foeto-placentaire à une maladie endothéliale vasculaire maternelle.

L'urapidil fait partie des alternatives thérapeutiques de première intention recommandées pour la prise en charge des crises hypertensives dont celles de la pré-éclampsie (Link *et al.*, 2009 ; Hirschl *et al.*, 1995). Plusieurs travaux préliminaires ont montré l'efficacité et la bonne tolérance maternelle de l'urapidil dans la pré-éclampsie. Ainsi, l'urapidil permet de contrôler l'hypertension maternelle sans entraîner ni hypotension

artérielle, ni tachycardie, ni céphalées maternelles, ni rebond d'hypertension à la fin du traitement (Wacker *et al.*, 1994). Des études comparant l'urapidil à la dihydralazine, traitement de référence aux États-Unis, confirment l'efficacité comparable des deux médicaments avec une meilleure maniabilité et tolérance maternelle pour l'urapidil (Wacker *et al.*, 2006). De manière similaire, des études préliminaires d'un essai randomisé contrôlé de l'urapidil contre la nicardipine, montre une efficacité comparable des deux molécules avec une meilleur tolérance pour l'urapidil (Vizitiu *et al.*, 2010). Concernant le fœtus, les auteurs concluent à l'absence d'effets secondaires préoccupants de l'urapidil sur les nouveau-nés et à une influence moindre de ce médicament sur leurs paramètres hémodynamiques en comparaison avec ce qui est observée lors du traitement par dihydralazine. Ainsi, les gazométries et les fréquences cardiaques des nouveau-nés de mères traitées par urapidil ne sont pas différentes de celles des enfants des mères traitées par dihydralazine. En revanche, les pressions artérielles systoliques, diastoliques et moyennes des nouveau-nés sont plus basses dans le groupe dihydralazine que dans le groupe urapidil. La différence est statistiquement significative mais les valeurs corrigés pour le poids de naissance, restent dans tous les cas dans les limite de la normale (Schulz *et al.*, 2001).

L'urapidil ne semble pas entraver la circulation utéroplacentaire (Roche *et al.*, 2011). Sur le rat diabétique, le traitement par l'urapidil permet de restaurer le débit utéroplacentaire et de corriger l'hypotrophie fœtale (Takenaka *et al.*, 1995). Chez l'homme, l'urapidil exerce une action relaxante, dose dépendante, sur des anneaux d'artères et de veines placentaires normales, prélevées à terme (Resch *et al.*, 2003).

Pour toutes ces raisons, l'urapidil semble avoir un potentiel intéressant dans le traitement de la pré-éclampsie. Bien entendu, des études complémentaires sur le mécanisme d'action de l'urapidil dans la pré-éclampsie et en particulier au niveau de la dysfonction endothéliale sont nécessaires afin d'appuyer cette indication.

2.2.2. *Urapidil et pathologies respiratoires*

L'administration de bêtabloquants à des patients aux antécédents cardiopulmonaires (asthme, broncho-pneumopathie chronique obstructive) expose au risque de bronchoconstriction pouvant aggraver une défaillance respiratoire préexistante. Dans une revue de la littérature concernant le traitement de l'hypertension artérielle non compliquée chez le patient souffrant de broncho-pneumopathie chronique obstructive avec hypertension artérielle pulmonaire, Cazzola *et al.* ont montré l'effet bénéfique de l'urapidil sur l'état

hémodynamique et la fonction pulmonaire (Cazzola *et al.*, 2002).

En clinique, et en particulier en réanimation, les patients atteints d'une pathologie respiratoire (pneumopathie, atélectasie) peuvent présenter des épisodes hypertensifs d'origine variée (hyperactivité sympathique due au réveil, analgésie insuffisante). Cette association est même assez fréquente. Dans ces cas-là, les inhibiteurs calciques sont classiquement utilisés en première intention. Cotte et collègues, rapportent le cas d'un patient de 55 ans, atteint d'une pneumonie hypoxémiante ayant présenté deux épisodes d'hypoxémie suite à l'administration d'un inhibiteur calcique, la nicardipine. L'originalité de cette observation réside dans l'importance de la dégradation de l'oxygénation à la suite de l'injection d'une dose modérée de nicardipine (dose continue 4mg/h pendant 30 minutes). Les antihypertenseurs, dont l'action inhibitrice sur la VPH est la mieux documentée, sont les inhibiteurs calciques. L'action des inhibiteurs calciques sur la pression artérielle se fait par l'intermédiaire d'une vasodilatation artérielle liée à l'inhibition des canaux calciques dans les cellules musculaires lisses. Les études expérimentales mettent en évidence une vasodilatation artérielle pulmonaire, uniquement en cas d'hypoxémie (Nakazawa *et al.*, 1988). Celle-ci correspond à une inhibition de la VPH. Cet effet est retrouvé pour les inhibiteurs calciques de la classe de dihydropyridines, dont la nifédipine et la nicardipine. Les inhibiteurs calciques non-dihydropyridiniques, comme le vérapamil et le diltiazem, semblent avoir une action moins marquée sur la vascularisation pulmonaire (Erdemli *et al.*, 1994). Leur tolérance sur l'oxygénation artérielle est meilleure (Okutomi *et al.*, 1989). Les données expérimentales récentes mettent en avant le rôle central de la concentration intra-cellulaire en calcium dans la régulation de la VPH (Sylvester *et al.*, 2012). Cela pourrait expliquer l'intensité des effets des inhibiteurs calciques sur la vascularisation pulmonaire.

En clinique, les propriétés vasodilatatrices pulmonaires des inhibiteurs calciques sont utilisées dans le traitement de l'hypertension artérielle pulmonaire (HTAP). Chez l'homme sain, la nifédipine inhibe la VPH sans modifier l'oxygénation du sang artériel (Naeije *et al.*, 1982). Cet effet est retrouvé chez le patient atteint de broncho-pneumopathie chronique obstructive (Burghuber *et al.*, 1987). Les données cliniques sur les effets de la nicardipine chez des patients hypoxémiques sont divergentes. Une étude ne retrouvait pas d'altération de l'hématose ni de réduction de la VPH chez des patients souffrant de HTAP, secondaire à une insuffisance respiratoire chronique (Saadjian *et al.*, 1993). Cependant, il est établi que parmi les personnes avec une HTAP chronique, seule une faible proportion présente une amélioration de ces pressions artérielles pulmonaires après administration d'inhibiteurs

calciques. Cette différence de sensibilité est due à l'existence de modifications structurales progressives des vaisseaux pulmonaires, diminuant le rôle de la VPH dans l'HTAP (Neely *et al.*, 1996). En situation aiguë, la nicardipine réduit modérément la PaO₂ des patients présentant une poussée hypertensive en postopératoire d'une chirurgie abdominale majeure (Vincent *et al.*, 1999). Un inhibiteur calcique proche de la nicardipine, la nimodipine, a été incriminé dans la survenue d'hypoxies sévères chez un patient présentant une contusion pulmonaire (Devlin *et al.*, 2000). Les similitudes entre ce cas clinique et l'observation de Cotte sont nombreuses. En effet, les malades présentaient une pathologie pulmonaire aiguë hypoxémiante sur poumon antérieurement sain. Dans les deux cas, l'administration de l'inhibiteur a entraîné une aggravation de l'hypoxémie en quelques minutes. La normalisation de l'hématose s'est faite en moins d'une heure, délai compatible avec la pharmacocinétique de ces médicaments.

Toujours dans le cas clinique de Cotte, les auteurs rapportent une amélioration de l'état respiratoire et une stabilisation de la tension artérielle après l'administration d'urapidil. Ils concluent en suggérant d'éviter l'utilisation des IC en cas d'hypoxie aiguë (Cotte *et al.*, 2012) et plutôt d'utiliser l'urapidil qui respecterait la VHP.

Ainsi l'urapidil, molécule plutôt ancienne, reste d'actualité au vu de ces nouvelles pistes d'investigations et en particulier sa propriété à préserver la VHP.

Chapitre II : La vasoconstriction hypoxique pulmonaire

1. La circulation pulmonaire

Le principal rôle de la circulation pulmonaire ou petite circulation est de permettre les échanges gazeux (oxygène O₂ et gaz carbonique (CO₂) entre l'organisme et l'atmosphère : c'est la fonction hématosique. La circulation pulmonaire est la seule circulation d'organe qui voit transiter la totalité du débit cardiaque.

Plusieurs points caractérisent la circulation pulmonaire (Fishman *et al.*, 1985) :

- Elle reçoit l'ensemble du débit cardiaque
- Les pressions, pulsatiles, sont faibles. La pression moyenne de l'artère pulmonaire est de l'ordre de 15 mmHg. La différence de pression entre l'entrée et la sortie de la circulation pulmonaire ou pression motrice est d'environ 10 mmHg chez le sujet sain.
- Correspondant à ces faibles pressions, les parois des artères pulmonaires sont fines et contiennent peu de cellules musculaires lisses par rapport aux artères systémiques.

1.1. Caractéristiques anatomiques et physiologiques

La circulation pulmonaire débute par le tronc de l'artère pulmonaire qui reçoit le sang veineux mêlé éjecté par le ventricule droit. Elle se termine par les quatre grosses veines pulmonaires qui contiennent du sang oxygéné et qui se drainent dans l'oreillette gauche. La géométrie de cette circulation est complexe (Figure 6). L'artère pulmonaire se divise en artères lobaires puis en branches sublobaires, segmentaires, subsegmentaires, et lobulaires.

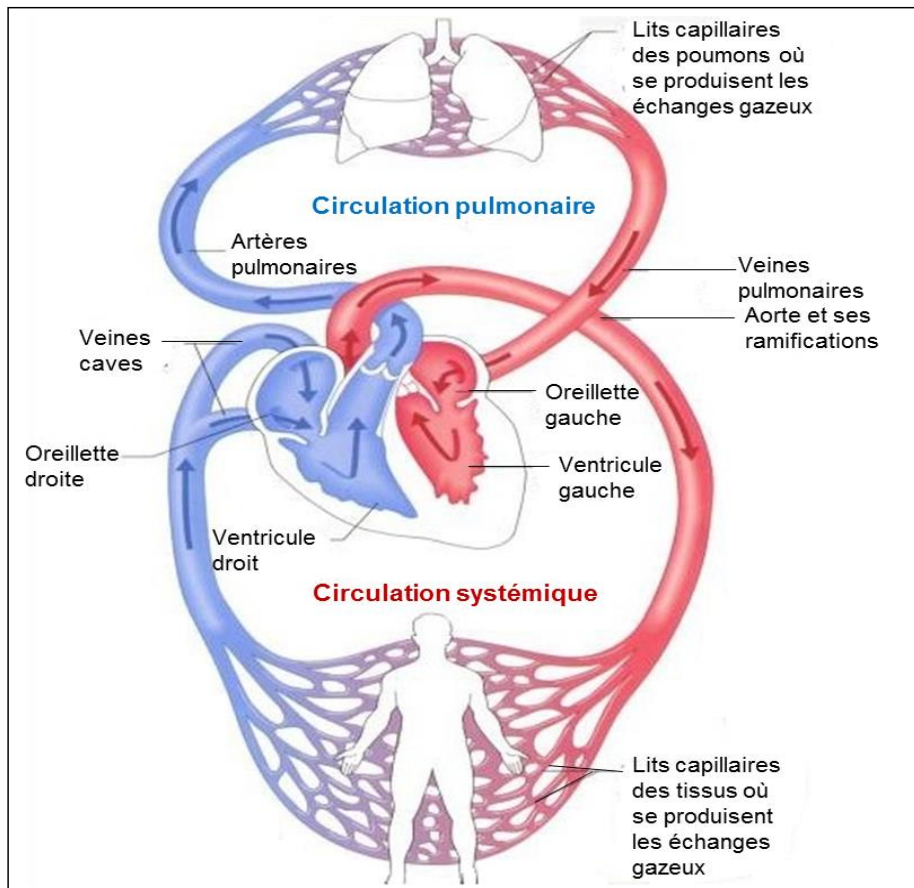


Figure 6 : Circulation pulmonaire et circulation systémique
 (Source : <http://www.alloprof.qc.ca/BV/pages/s1274.aspx>)

Au terme de ces divisions se trouve le réseau de capillaires qui cheminent dans les parois alvéolaires. C'est là que se font les échanges gazeux. Au-delà se constitue le réseau veineux par la convergence et la réunion des branches veineuse (Figure 7).



Figure 7 : Echange gazeux au niveau de l'alvéole.
 Source : <http://www.reannecy.org>

La structure et la fonction des vaisseaux pulmonaires diffèrent selon leur siège proximal ou distal.

- Les vaisseaux proximaux (tronc pulmonaire, artères principales et intra-pulmonaires) sont élastiques. Ils transportent le sang du ventricule droit aux artères de résistance. Les vaisseaux élastiques forment un réservoir distensible et élastique pour le volume systolique ventriculaire droit. En raison de leur compliance, ils se distendent à chaque systole, stockent une partie du volume systolique qui est distribuée pendant la diastole vers les petits vaisseaux. Ceci diminue la charge systolique du ventricule droit, diminue le flux systolique des vaisseaux périphériques et améliore le flux diastolique. En cas d'hypertension artérielle pulmonaire aiguë, la compliance artérielle pulmonaire est diminuée. Le maintien du volume systolique augmente la charge systolique du ventricule droit et la compliance artérielle pulmonaire est diminuée. Le maintien du volume systolique augmente la charge systolique du ventricule droit et la tension pariétale des artères pulmonaires. Ces vaisseaux élastiques ont également une couche musculaire et peuvent être le siège d'une vasoconstriction.
- Les artères pulmonaires distales, vaisseaux de résistance, ont une média formée de cellules musculaires lisses. Elles sont le siège principal de la vasoconstriction hypoxique pulmonaire. Quand les artères deviennent intra-acinaires, elles perdent leur muscle lisse. Ces artérioles alimentent les capillaires alvéolaires d'où naissent les veinules pulmonaires, à l'origine des veines pulmonaires.

Tableau 2 : Propriétés des artères et veines pulmonaires

	Diamètre de la lumière	Épaisseur de la paroi	Cellules musculaires lisses
Artères élastiques	1-2 cm	2 mm	+++
Artères musculaires	1 mm à 1 cm	1mm	+++
Artérioles	30 µm	20 µm	+
Capillaires	5 à 8 µm	1 µm	0
Veinules post-capillaires	20 µm	2 µm	0
Veinules	0,5 cm	0,5 mm	+
Veines	1 à 3 cm	1,5 mm	+

Ainsi, les cellules musculaires lisses vasculaires pulmonaires se situent dans la media des vaisseaux sanguins et régulent le flux sanguin grâce au mécanisme de vasomotricité. La vasomotricité se manifeste soit par une vasoconstriction (diminution du diamètre des vaisseaux) qui s'associe à une réduction de la circulation sanguine, soit par une vasodilatation (augmentation de ce diamètre) qui à l'inverse, entraîne une augmentation du flux sanguin. On peut distinguer quatre type de vaisseaux sanguins : les artères, les artérioles, les vaisseaux capillaires et les veines. Le vaisseau se compose i) d'une intima qui correspond à l'endothélium délimitant la lumière du vaisseau, ii) d'une media qui est la tunique de cellules musculaires lisses et de fibres élastiques iii) d'une adventice qui est essentiellement composée de fibres et de collagène (Figure 8). La présence de cellules musculaires lisses varie en fonction des différents territoires vasculaires. Grâce à leur contraction ou relaxation, les cellules musculaires lisses vasculaires pulmonaires régulent le débit sanguin local et la pression artérielle.

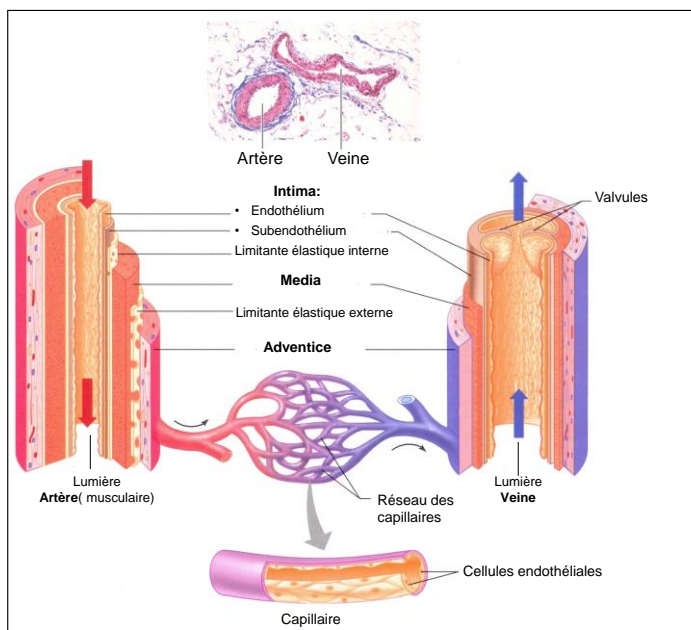


Figure 8 : Structure d'artère et de veine pulmonaire.
(Schéma réalisé par Jerome Harlé, 2009)

1.2. Pressions, débits, résistances pulmonaires

1.2.1. Pressions et résistances

La circulation pulmonaire est normalement une circulation à basse pression, en comparaison à la circulation systémique.

Le tableau suivant compare les valeurs mesurées au repos :

Tableau 3 : Caractéristiques des circulations pulmonaires et systémiques

Circulation	Pression d'entrée mmHg	Pression de sortie mmHg	Débit (l/min)	Résistances (mmHg/l/min)
Pulmonaire	15	5	5	≈ 2
Systémique	100	2	5	≈ 20

La pression d'entrée mesurée dans l'artère pulmonaire (P_{AP} moyenne) est, au repos, environ six fois moindre que celle de la circulation systémique (pression aortique moyenne) ; pourtant les pressions de sortie des deux circulations que sont la pression dans l'oreillette gauche (P_{OG}) pour la circulation pulmonaire et la pression veineuse centrale pour la circulation systémique sont voisines.

La résistance vasculaire pulmonaire (RVP) est généralement quantifiée, par l'analogie avec la loi d'Ohm (Fritts, 1959), comme quotient : la différence entre les pressions moyennes d'entrée (P_{AP}) et sortie (P_{OG}) divisée par un débit continu.

$$RVP = (P \text{ entrée} - P \text{ sortie}) / \text{débit} = (P_{AP} - P_{OG}) / Q$$

Où P pression moyenne, P_{AP} : pression artérielle pulmonaire moyenne, P_{OG} : pression auriculaire gauche moyenne, $P_{AP} - P_{OG}$: pression motrice, Q : débit cardiaque.

Dans la pratique, il est facile de cathétériser l'artère pulmonaire pour en mesurer la pression. Faute de pouvoir mesurer aisément la pression dans l'oreillette gauche, on estime la valeur de la P_{OG} par la pression recueillie au bout d'une sonde lorsque celle-ci est bloquée par l'artère pulmonaire : en l'absence de débit, la pression à l'extrémité de la sonde s'équilibre en effet avec la pression de l'oreillette gauche.

La pression dans l'artère pulmonaire varie entre une valeur systolique (25-30 mmHg) et une valeur diastolique (8-10 mmHg). La différence entre ces deux valeurs est grande par rapport à la pression moyenne (15 mmHg) : elle révèle le caractère pulsatile de la circulation pulmonaire.

Le volume de sang présent dans la circulation pulmonaire est très petit, comparé à la circulation systémique. Chez un adulte normal, on peut estimer le volume sanguin pulmonaire à environ 500 ml, dont seulement 75 ml sont présent dans le lit capillaire, alors que la circulation systémique totalise plus de 4000 ml de sang.

Chez un sujet normal, une pression artérielle pulmonaire moyenne à 10-15 mmHg suffit à assurer un débit adéquat ce qui révèle que le niveau de résistance pulmonaire est étonnamment faible. Le maintien des pressions et résistances artérielles pulmonaires à des valeurs très basses répond à plusieurs exigences :

- L'oxygène est un gaz peu soluble qui diffuse difficilement de l'air au plasma. Pour que ce gaz puisse arriver dans le sang, à travers la paroi alvéolaire, il est nécessaire que la distance de diffusion soit la plus courte possible. Ceci implique des vaisseaux aux parois fines ne pouvant donc supporter que des pressions intravasculaires faibles.
- La circulation pulmonaire et la circulation systémique étant monté en série, il est nécessaire que le débit cardiaque ne soit soumis aux exigences que d'une seule de ces deux circulations, sous peine de conflit. Le maintien de la pression artérielle systémique à des chiffres élevés étant l'objectif principal, c'est la régulation de la pression artérielle systémique qui est étroitement lié avec le contrôle du débit cardiaque. En pratique, le ventricule gauche impose le débit que doit assurer le ventricule droit. Il est donc essentiel que la post-charge du ventricule droit soit faible, de façon à permettre aisément à ce ventricule de modifier son volume d'éjection. Le maintien de pressions basses dans la circulation pulmonaire permet ainsi au ventricule droit, malgré la faible épaisseur de ses parois de satisfaire les exigences du débit imposé par le ventricule gauche.

1.2.2. Relation pression-débit

L'évaluation des caractéristiques résistives de la circulation en faisant appel au calcul de la résistance vasculaire est à priori commode : cette évaluation reste malgré tout insuffisante car la relation pression-débit n'est pas linéaire. La relation pression-débit

pulmonaire autorise des grandes variations de débit tout en limitant les variations de pressions, et minimise ainsi le surcroît de travail imposé au ventricule droit dans les conditions d'un débit cardiaque élevé. Ce type de relation est caractéristique de la circulation pulmonaire et s'explique par la diminution des résistances vasculaires pulmonaires dès l'augmentation du débit cardiaque.

1.3. Facteurs modulant le niveau des résistances vasculaires pulmonaires et donc du tonus vasculaire pulmonaire

1.3.1. *Facteurs mécaniques :*

Dans les conditions normales, les deux mécanismes qui permettent d'assurer le maintien de pressions basses dans la circulation pulmonaire utilisent des propriétés mécaniques du poumon : le recrutement et la distensibilité.

Le recrutement :

La distribution du débit sanguin au sein d'un poumon humain est extrêmement hétérogène. La perfusion augmente progressivement des parties supérieures aux parties inférieures du poumon, où elle est toutefois limitée.

L'interprétation de ce phénomène développée par West *et al.*, (1964), repose sur une modélisation du poumon en 3 compartiments (Figure 9).

- La zone 1, en position verticale, est située à l'apex du poumon. A ce niveau, en raison de la gravité, la pression alvéolaire peut y être supérieure à la pression artérielle pulmonaire locale ($PA > Pa$). A l'extrême le débit peut y être nul. Cette zone pulmonaire, ventilée mais non perfusée, et qui ne sert à priori à rien pour les échanges gazeux, représente un espace mort alvéolaire. Cette zone ne caractérise que l'extrême sommet du poumon vertical et n'existe pas en position horizontale.
- La zone 2 est une zone de transition qui peut être le siège de recrutements importants pour des petites modifications de pression et de débit. Dans cette zone, la pression artérielle pulmonaire locale est supérieure à la pression alvéolaire et cette dernière elle-même supérieure à la pression veineuse ($Pa > PA > Pv$). C'est la différence entre la pression artérielle et la pression alvéolaire qui représente ici la pression motrice de perfusion.
- La zone 3 est normalement complètement perfusée. Comme la pression artérielle

pulmonaire locale et la pression veineuse ont augmenté parallèlement (0,75 mmHg par cm de hauteur de poumon), la pression veineuse devient supérieure à la pression alvéolaire ($P_a > P_v > P_A$). Le débit y est donc déterminé par la différence de pression ($P_a - P_v$).

La répartition dans le poumon de ces différentes zones dépend donc des valeurs de la pression artérielle pulmonaire (PAP) et de la pression veineuse, cette dernière étant assimilable à la pression dans l'oreillette gauche (P_{OG}). Si la P_{OG} est anormalement haute et donc aussi le PAP (cas de l'insuffisance cardiaque), la zone 1 cesse d'exister, et la zone 2 est d'autant moins étendue que la P_{OG} est plus haute. De plus, la distribution, dépendante de la gravité est modifiée par le changement de posture et par l'exercice.

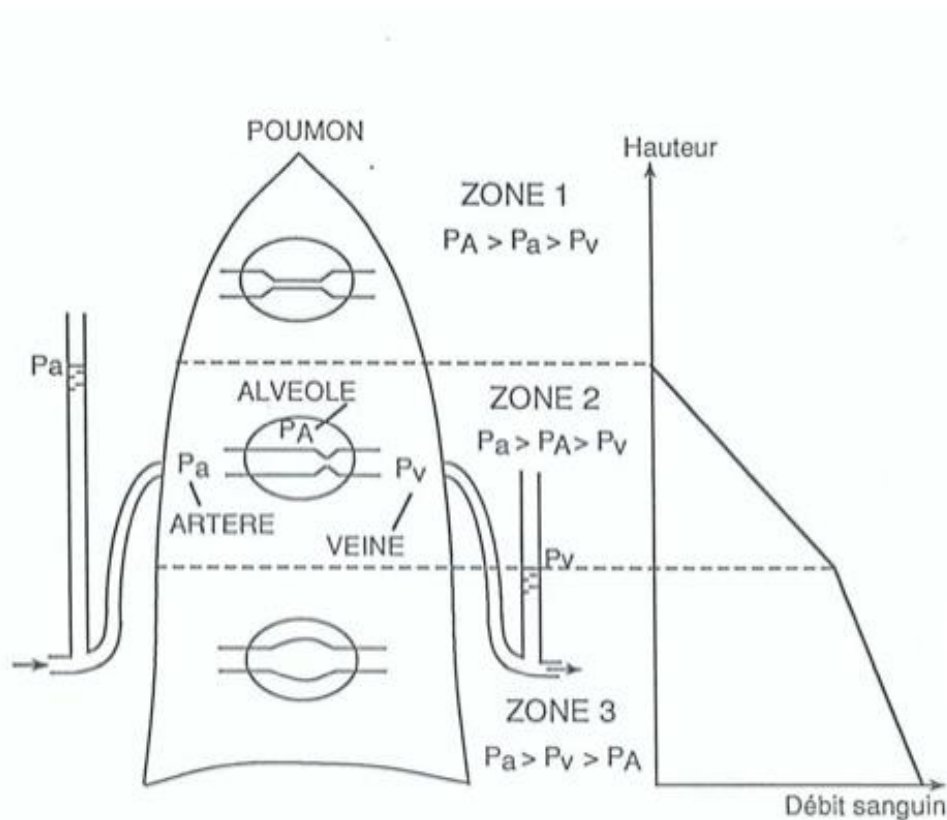


Figure 9 : Modèle d'interprétation de l'inhomogénéité de la perfusion pulmonaire. Les zones de West, représentées sur un poumon en position verticale, sont déterminées par les interactions entre les pressions vasculaires et alvéolaires. Pour simplifier la présentation, seules les zones 1, 2 et 3 sont schématisées ici. La colonne d'eau située à gauche représente la pression artérielle pulmonaire et celle à droite la pression veineuse pulmonaire. PA : pression alvéolaire; P_a : pression artérielle pulmonaire; P_v : pression veineuse pulmonaire (d'après West *et al.*, 1964).

Distension

Du fait de la faible épaisseur de la paroi des vaisseaux pulmonaires, et de leurs propriétés viscoélastique, les vaisseaux pulmonaires sont distensibles : le rayon des vaisseaux pulmonaires varie directement avec les modifications de pression et de flux. Cette propriété permet de réduire les résistances vasculaires pulmonaires. Ce mécanisme deviendrait surtout prépondérant lorsque les pressions deviennent relativement élevée, et que le recrutement est déjà intervenu pour des modifications de pression plus faibles.

Vaisseaux extra-alvéolaires et alvéolaires :

Des modifications de la résistance vasculaire pulmonaire peuvent également être liées à un changement de diamètre des vaisseaux dits extra-alvéolaires, c'est à dire des vaisseaux de relatif grand diamètre par rapport aux capillaires situés avant ou après le paroi alvéolaire. Ces vaisseaux extra-alvéolaires sont entourés d'une gaine où règne une pression dite interstitielle qui évolue parallèlement à la pression pleurale. Dans les parties supérieures du poumon où la pression pleurale est très négative, les vaisseaux extra-alvéolaires sont distendus. Dans les parties inférieures du poumon, la pression pleurale moins négative diminue le diamètre des vaisseaux extra-alvéolaires, réduisant leur débit et par conséquent le débit dans les vaisseaux intra-alvéolaires qui en dépendent.

1.3.2. Contrôle du tonus vasculaire pulmonaire

Le maintien dans la circulation pulmonaire d'une pression basse est lié aux propriétés de recrutement et de distensibilité des vaisseaux pulmonaires mais également au très faible tonus vasculaire pulmonaire à l'état de base, à la différence de la circulation systémique. Le tonus basal est un élément important de la réactivité vasculaire pulmonaire à un stimulus. Il existe des différences importantes entre les espèces dans les réponses vasculaires pulmonaires liées à une susceptibilité interindividuelle probablement d'origine génétique (Fishman, 1985).

La circulation pulmonaire est sous l'influence de facteurs actifs et passifs. Les facteurs passifs (débit cardiaque, pression oreillette gauche, pressions des voies aériennes, alvéolaires et interstitielles, gravité) modifient la résistance vasculaire pulmonaire indépendamment du tonus vasculaire pulmonaire. Les facteurs actifs régulent le tonus vasculaire pulmonaire en provoquant une contraction ou une relaxation du muscle lisse vasculaire. Ces facteurs incluent, outre la pression alvéolaire en oxygène et dans une moindre mesure la teneur en gaz

carbonique du sang veineux mêlé, des mécanismes nerveux et humoraux et des facteurs paracrines et autocrines (Fishman, 1985; Liu & Barnes, 1997). L'endothélium a un rôle important dans le contrôle du tonus vasculaire pulmonaire. Les cellules endothéliales libèrent des médiateurs vasoactifs dont certains sont susceptibles d'influencer la croissance et la différenciation des cellules de la paroi vasculaire. Dans l'étude de l'action vasculaire pulmonaire d'agents pharmacologiques, il est important d'envisager leurs effets sur les cellules endothéliales et musculaires lisses car la majorité des agonistes modifient le tonus vasculaire pulmonaire par la libération de médiateurs endothéliaux.

2. La vasoconstriction hypoxique pulmonaire

2.1. Généralités :

La vasoconstriction hypoxique pulmonaire (VHP) correspond à une contraction reflexe des cellules musculaires lisses pulmonaires en réponse à une baisse régionale de la pression partielle en oxygène (P_{O_2}).

Découvert en 1946 par Von Euler et Liljestrand grâce à leurs travaux chez le chat (Von Euler *et al.*, 1946) (Figure 10), le phénomène de vasoconstriction hypoxique pulmonaire interpelle car il s'oppose à la vasodilatation observée dans les autres organes en réponse à une hypoxie locale. Depuis, la VHP a fait l'objet de nombreux travaux. Ainsi, la vasoconstriction pulmonaire hypoxique améliore l'oxygénation par redistribution du débit sanguin vers les zones les mieux ventilées permettant un ajustement de la perfusion capillaire pulmonaire à la ventilation alvéolaire.

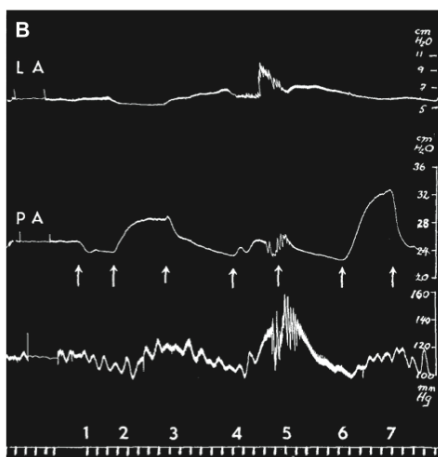


Figure 10 : Première description du phénomène de VHP par Von Euler et Liljestrand chez le chat ventilé. Pression dans l'oreillette gauche (LA) et dans l'artère pulmonaire (PA) soumis à 3 épisodes d'hypoxie successifs (2,4,6).
D'après Von Euler et Liljestrand., 1946)

Localisation anatomique :

Le site anatomique précis de la VHP est incertain. Chez l'animal, le phénomène de VHP pourrait se manifester à tous les niveaux de l'arbre vasculaire pulmonaire des petites artères pulmonaires aux veinules en passant par les artérioles et les capillaires. Le site anatomique précis de la VHP fait cependant l'objet de controverse. Pour certains, la réponse la plus importante et la plus soutenue à l'hypoxie se situerait au niveau des artères pulmonaires distales (Glazier *et al.*, 1971 ; Kato *et al.*, 1966). Pour d'autres, les capillaires seraient le principal site de la VHP. En 1922, Haldane suggérait déjà qu'il existait un mécanisme qui adaptait le flux sanguin en fonction de la ventilation et que celui-ci se situait au niveau des capillaires (Haldane *et al.*, 1922). Cette hypothèse a été longtemps critiquée : comment les capillaires dépourvues de cellules musculaires lisses réduisent-ils le flux sanguin ? Il a fallu attendre les travaux de Kapanci en 1974 pour apporter une hypothèse. Ce serait la présence de cellules contractiles interstitielles dans le septa alvéolaire (des myofibroblastes alvéolaires) qui répondant à l'hypoxie en se contractant, entraînerait une déformation des capillaires par contact direct et donc une contraction (Kapanci *et al.*, 1974). A l'heure actuelle, les différents travaux chez l'animal, suggèrent que le phénomène de VHP peut se produire à tous les niveaux de l'arbre vasculaire pulmonaire mais que celui-ci serait prédominant au niveau des petites artères pulmonaires (Sylvester *et al.*, 2012).

Caractéristiques temporelles :

L'étude de la relation dans le temps entre la PaO₂ et l'amplitude de la vasocontraction est intéressante pour comprendre la variabilité du phénomène de la VHP. Cette relation dépend de nombreux facteurs dont l'espèce, le type de modèle utilisé, le degré de l'hypoxie (modérée ou sévère) et le type d'hypoxie appliquée (globale ou locale). Il faut ainsi distinguer deux cas de figures pour lesquels la réponse varie en fonction du modèle étudié : l'étude sur poumon intact, isolé (Figure 11.A) ou l'étude de vaisseaux pulmonaires isolés (Figure 11.B).

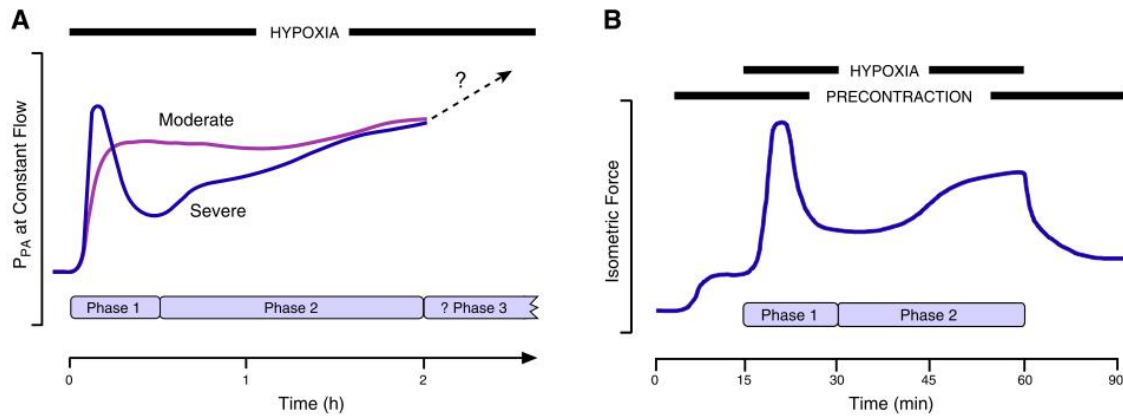


Figure 11 : Courbe en fonction du temps de la réponse hypoxique de poumons ou lobe pulmonaire isolés soumis à une hypoxie modérée ou sévère (A) et de vaisseaux isolées pré contractés soumis à une hypoxie sévère (B). (D'après Sylvester *et al.*, 2012)

En cas de poumon intact ou isolé :

La vasoconstriction hypoxique présente trois phases distinctes qui diffèrent en fonction du degré de l'hypoxie :

- En hypoxie modérée (30-50 mmHg), les différentes études réalisées chez le chien anesthésié (Tucker *et al.*, 1975), le cochon anesthésié (Lamm *et al.*, 2007), ou le poumon isolé de porcs (Sylvester *et al.*, 1980) montrent que la phase 1 commence quelques secondes après le début de l'hypoxie par une vasoconstriction qui atteint son maximal en 15 minutes. Cette réponse est ensuite soutenue pendant 30-120 minutes correspondant à la phase 2. La phase 2 consiste en une augmentation progressive de la vasoconstriction atteignant un pic à 2 heures. La phase 3 correspond à une augmentation soutenue de la contraction au-delà de 120 minutes.
- L'Hypoxie sévère globale a été étudiée dans différents modèles (poumons intacts (Malik *et al.*, 1973), poumons isolés ex vivo (Clarke *et al.*, 1993 ; Emery *et al.*, 2003) et dans de nombreuses espèces (chiens (Malik *et al.*, 1973), cochon (Sylvester *et al.*, 1980), rat (Emery *et al.*, 2003), souris (Weismann *et al.*, 2004)). Ainsi, en cas d'hypoxie sévère globale ($P_{O_2} < 30$ mmHg), la phase 1 après avoir atteint son maximum en 10-15 minutes, décline de 20 à 100% en 15 à 50 minutes, pour revenir à des valeurs proche d'une

situation en normoxie. La phase 2 variable selon les espèces, correspond en une augmentation de la contraction pour atteindre un niveau maximal en 30 à 180 minutes. La phase 3 consiste également en une augmentation soutenue de la contraction au-delà de 120 minutes. En cas d'hypoxie modérée locale, la phase 1 ne change pas, avec un maximum en 15-30 minutes, puis le niveau de contraction reste inchangé ou augmente très légèrement pendant les 30-225 minutes suivantes. A l'heure actuelle, les raisons de la différence entre les caractéristiques temporelles d'une hypoxie sévère globale ou locale sont inconnues. Une des hypothèses serait que la diminution de la contraction en cas d'hypoxie sévère globale serait due aux PaO₂ très basses non retrouvées en cas d'hypoxie sévère locale (Bjertnaes *et al.*, 1980; Clark *et al.*, 1993,).

En cas de vaisseaux pulmonaires isolés :

- Artères pulmonaires proximales : La réponse hypoxique des artères pulmonaires proximales a été étudiée sur un grand nombre d'espèces (chat (Madden *et al.*, 1985), porc (Feletou *et al.*, 1995), rat (Becker *et al.*, 2007), homme (Demiryurek *et al.*, 1993 ; Hoshino *et al.*, 1988), mouton, chien). On observe ainsi une grande variabilité des réponses des vaisseaux pulmonaires proximaux isolés à l'hypoxie. Ces réponses varient en fonction de l'espèce, du type de vaisseaux et des conditions expérimentales. L'origine de ces différences n'est pas encore très claire et est, sans doute multifactorielle. Quoi qu'il en soit, la majorité de ces études mettent en évidence la nécessité d'une precontraction des vaisseaux isolés afin de pouvoir observer une vasocontraction mesurable et reproductible. L'agent pré-contractionnant utilisé varie selon les études, allant de l'endothelin-1 (Demiryurek *et al.*, 1993), à l'analogue du thromboxane U46619 (Feletou *et al.*, 1995). Comme illustré dans le schéma de Sylvester, la vasocontraction hypoxique de vaisseaux isolés présente deux phases. Après la precontraction, la phase 1 commence quelques secondes après le début de l'hypoxie et atteint son pic en 5 minutes. Il existe là aussi une relation entre le degré d'hypoxie et l'amplitude de la contraction maximale. Relation qui dépend de nombreux facteurs dont l'espèce et le modèle expérimentale. Dans certaines études, la phase 1 est suivie d'une légère vasodilatation (Jones *et al.*, 2000). En contraste avec la phase 1, la phase 2 se développe progressivement pour atteindre un maximum en 30-60 minutes. Selon les études et les espèces, la phase 2 serait plus petite (Dipp *et al.*, 2001) ou égale ou plus grande (Bennie *et al.*, 1991) que la phase 1. En ce qui concerne notre modèle d'artères pulmonaires proximales de porc, alors que la phase 2 existe dans

les 1^{ère} et 3^{ème} branches de division, elle serait absente dans les 4^{ème} et 5^{ème} branches de division. Les raisons de cette différence sont inconnues à l'heure actuelle (Kovitz *et al.*, 1993). De même, en cas d'artères pulmonaires proximales de porc, la phase 2 est présente à 0% O₂ mais absente à 4 à 10 % O₂ (Kovitz *et al.*, 1993).

- Artères pulmonaires distales : La réponse hypoxique des artères pulmonaires distales semble plus soutenue (7^{ème} et plus branches de division) et a été étudié dans de nombreuses espèces. Cependant, alors que la réponse à l'hypoxie semble plus importante donc plus intéressant à étudier, les différentes études semblent moins formelles : la précontraction ne serait pas toujours indispensable à l'observation de la contraction hypoxique (précontraction non nécessaire (Bonnet *et al.*, 1991), précontraction nécessaire (Kovitz *et al.*, 1993)) et la morphologie de la courbe ne serait pas forcément biphasique (Bonnet *et al.*, 1991).

Afin de mieux comprendre le mécanisme d'action de la VHP, les phases 1 et 2 ont été le plus étudiées. La différence qui existe entre une réponse probablement tri phasique en cas de poumons isolés et plutôt bi phasique en cas de vaisseaux isolés n'est pas élucidée et nécessiterait des explorations supplémentaires. De même, il n'existe actuellement aucune étude mécanistique expliquant la phase 3.

2.2.Mécanisme d'action

A l'heure actuelle, le mécanisme d'action de la VHP n'est pas complètement élucidé. Il reste de nombreuses questions non résolues et de nombreuses controverses. Cela peut s'expliquer d'une part, par la multitude de modèles expérimentaux existants et donc de réponses différentes à l'hypoxie et, d'autre part, par un mécanisme d'action complexe.

Il y a une 20^{ème} d'année, deux hypothèses étaient proposées pour expliquer la VHP : celle de l'existence d'un médiateur avec la production locale d'un vasoconstricteur ou la suppression d'une production locale d'un vasodilatateur, et celle d'un effet direct de l'hypoxie sur le tonus du muscle lisse vasculaire. Dans le cadre de la recherche d'un médiateur, de nombreuses substances vasoactives ont été étudiées mais aucun médiateur n'a été mis en évidence de manière formelle. A l'heure actuelle, la majorité des arguments soulignent l'importance de la cellule musculaire lisse vasculaire comme principal effecteur du stimulus hypoxique mais

l'effet direct de l'hypoxie sur l'endothélium dans la modulation de la vasoconstriction hypoxique doit être pris en compte.

Quoi qu'il en soit, la vasoconstriction hypoxique se décompose en plusieurs étapes sur lesquels les différents auteurs semblent d'accord : la détection de l'hypoxie ou stimulus hypoxique, la transmission de la réponse hypoxique à la cellule musculaire lisse et la modulation de cette réponse.

2.2.1. *Stimulus hypoxique*

L'identification des acteurs impliqués dans la détection de l'hypoxie est difficile et compliquée car les candidats sont nombreux et qu'ils existent de nombreuses conditions expérimentales (Figure 12). L'oxygène peut influencer le système biologique de différentes manières : en se liant de manière réversible à des molécules, en induisant une modification de leur structure (hémoglobine) ou en participant à des réactions biochimiques (production d'énergie). Les stimuli hypoxiques potentiellement impliqués dans le VHP sont les suivants :

- Modification des canaux K^+ : l'oxygène peut se lier de manière réversible au résidu sulfure de la protéine, altérant ainsi sa fonction.
- Balance anti-oxydante/ pro-oxydante : la balance anti-oxydante/ pro-oxydante cytoplasmique dépend de la disponibilité de l'oxygène et du rapport du couple oxydoréducteur, glutathion et nicotinamide adenine dinucléotide (NAD). Il est probable qu'en normoxie, l'état d'oxydoréduction de la cellule maintient les canaux potassiques voltages dépendants (Kv) en position ouverte permettant ainsi d'établir le potentiel de membrane de repos (MacCurty *et al.*, 1976). La recherche par identification moléculaire des canaux Kv impliqués dans la VHP a permis de mettre en évidence le rôle central de Kv1.5, un canal de type Shaker, et Kv2.1 (Archer *et al.*, 1998 ; Guzy *et al.*, 2005). Pour preuve, des souris knock-out pour Kv1.5 montre une réduction marquée de la VHP (Archer *et al.*, 2001). En hypoxie, le canal Kv se fermerait entraînant un changement du potentiel de membrane puis une activation d'un canal calcique voltage dépendant. Cet état d'oxydoréduction pourrait également entraîner une contraction des cellules musculaires lisses via un effet par le relargage de calcium à partir du réticulum sarcoplasmique.

- La production d'espèces réactives de l'oxygène mitochondriales. Dans les mitochondries en condition normoxique, environ 3% des flux d'électrons résultent de la formation d'espèces réactives de l'oxygène. En condition hypoxique, la production d'espèces réactives de l'oxygène augmente ou diminue selon la disponibilité de l'oxygène et des donneurs d'électrons dans la cellule. Des controverses existent à ce sujet entre les différents auteurs (Ward *et al.*, 2006 ; Chandel *et al.*, 2000). Quoiqu'il en soit, l'hypoxie entraînerait le plus souvent une augmentation de la production d'espèces réactives de l'oxygène, signal moléculaire qui semblerait jouer un rôle important dans le VHP (Schumacker *et al.*, 2011).
- Statut énergétique de la cellule : le statut énergétique de la cellule est maintenu par la production de molécules de haute énergie telle que l'adénosine tri-phosphate (ATP) par la glycolyse. Dans une cellule musculaire lisse en hypoxie, on observe une augmentation de l'entrée de glucose dans la cellule et une augmentation de la glycolyse. L'adenylate kinase activée transforme alors l'adénosine tri-phosphate en adénosine monophosphate cyclique (AMPc), messenger secondaire déclenchant la libération du calcium de ses points de stockage intracellulaire (Kamenetsky *et al.*, 2006). Cependant, un niveau excessif d'AMPc active une adenosine monophosphatase kinase sensible à l'oxygène qui réduit la consommation d'ATP (Lumb *et al.*, 2015).
- Les facteurs induits par l'hypoxie sont des protéines agissant comme facteurs de transcription dans tous les tissus et régulé par l'absence d'oxygène. D'un point de vue physiologique, l'hypoxie tissulaire est traitée en stimulant la sécrétion de l'hormone érythropoïétine (EPO) qui engendre la production de globules rouges, et, par conséquent, améliore le transport d'oxygène aux tissus cibles. Au niveau moléculaire, ce travail est majoritairement assuré par HIF-1, soit le complexe le plus actif de la famille des HIFs. HIF-1 possède deux sous-unités : une sous-unité α sensible à l'oxygène et une sous-unité β constitutive. En normoxie, la sous-unité alpha, très instable, subit une hydroxylation par des prolyl-hydroxylases (PHD), dès sa sortie du noyau, puis est liée par la protéine pVHL (von Hippel Lindau protein), une protéine suppresseuse de tumeur, ce qui mène à la dégradation de cette sous-unité alpha par le protéasome cytoplasmique. Cette étape se produit assez rapidement, puisque HIF- α possède une demi-vie de seulement 5 minutes dans le cytoplasme. De plus, la normoxie cellulaire entraîne aussi l'activation de la

protéine factor inhibiting HIF-1 (FIH-1) qui agit au niveau du noyau en bloquant la transcription de gènes cibles comme l'EPO. De son côté, la sous-unité bêta est toujours active, sous l'influence du facteur de transcription sp1. En situation d'hypoxie, la sous-unité alpha devient stable, car elle n'est plus hydroxylée par les PHD (son substrat étant l'oxygène), donc elle ne lie plus la protéine pVHL. Elle est alors transportée dans le noyau par translocation nucléaire où elle se liera à la sous-unité bêta. Le complexe HIF-1 ainsi formé permettra la transcription des gènes cibles, comme par exemple l'EPO. Finalement, l'hypoxie agit aussi en bloquant l'activité de FIH-1. Lors d'un retour aux conditions normales d'oxygène, les protéines HIF- α se trouvant dans le noyau seront dégradées par le protéasome nucléaire. La principale maladie qui occasionne des problèmes au niveau de HIF-1 est causée par la maladie de von Hippel Lindau qui se définit par une mutation dans le gène de la protéine pVHL. Les personnes atteintes seront hétérozygotes pour l'allèle muté et des tumeurs apparaîtront au niveau de la rétine, des reins ou du système nerveux central. La protéine pVHL n'étant plus là pour inhiber la surexpression de HIF-1 α , les tumeurs présentent alors une grande vascularisation et une forte tendance à créer des métastases (Lumb *et al.*, 2015).

- Cyclooxygénase et lipooxygénase : Ces deux enzymes utilisent l'oxygène comme substrat et sont donc de fait sensible à l'hypoxie. Classiquement, ils entraînent la formation de composés vasoactifs, les prostanoïdes et leucotriènes, qui ont des effets sur les vaisseaux pulmonaires. Des études récentes montrent que ces 2 enzymes ne joueraient pas un rôle dans le déclenchement de la VHP mais auraient plutôt un rôle de modulateur (Lumb *et al.*, 2015).

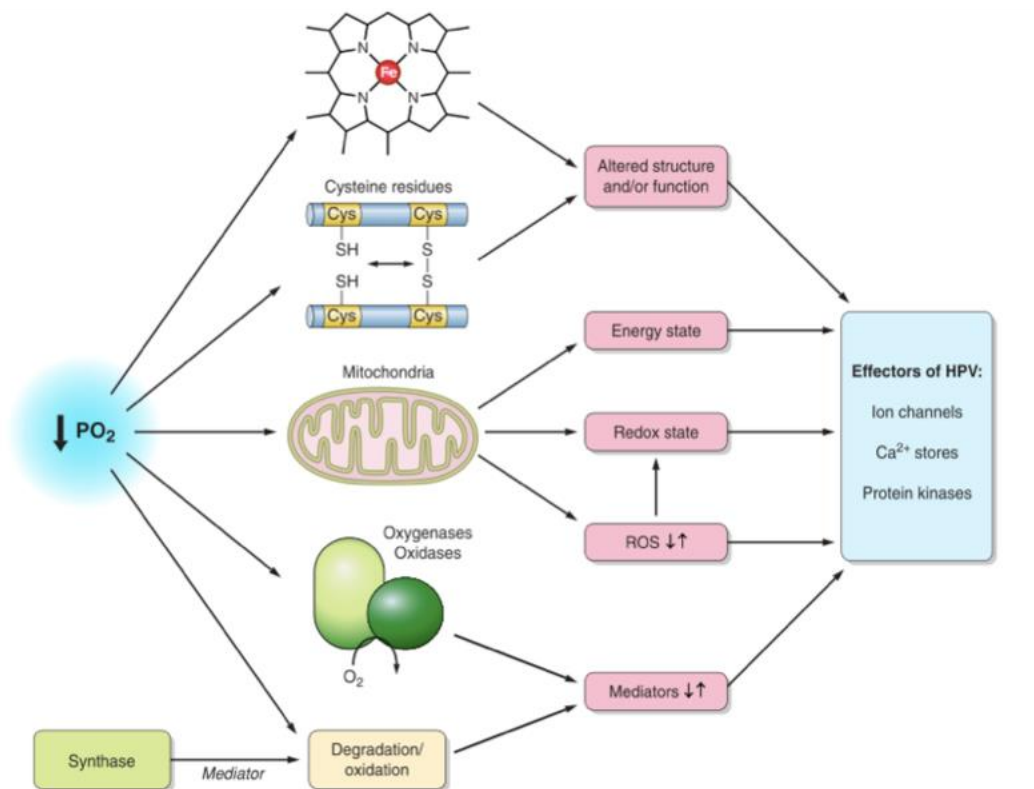


Figure 12 : Les différents acteurs impliqués dans la détection de l'hypoxie
D'après [Sylvester et al., 2012](#).

Avec autant de candidats pour le rôle de « détecteur » d'hypoxie, il n'est pas surprenant qu'aucun consensus n'ait été trouvé à l'heure actuelle. Les différents mécanismes décrits doivent probablement coexister en fonction de la phase de la VHP, du degré d'hypoxie ou de l'espèce.

2.2.2. Transmission du message: de l'hypoxie à la cellule musculaire lisse

La cellule musculaire lisse semble être le lieu principal de la réponse cellulaire à l'hypoxie et la mitochondrie un des acteurs essentiels.

Comme dans d'autres tissus, la contraction d'une cellule musculaire lisse pulmonaire nécessite l'entrée de calcium dans la cellule par des canaux calciques voltage-dépendants. Le calcium peut provenir soit de l'extérieur de la cellule soit du réticulum sarcoplasmique, ces deux mécanismes pouvant être impliqués dans la VHP. L'augmentation de la concentration en calcium intracellulaire ($[Ca^{2+}]_i$) entraîne une contraction de la cellule musculaire lisse par une

chaîne de réactions : liaison du calcium à la calmoduline, activation de la protéine kinase de la chaîne légère de la myosine, modification de la myosine par phosphorylation et enfin contraction (Figure 13).

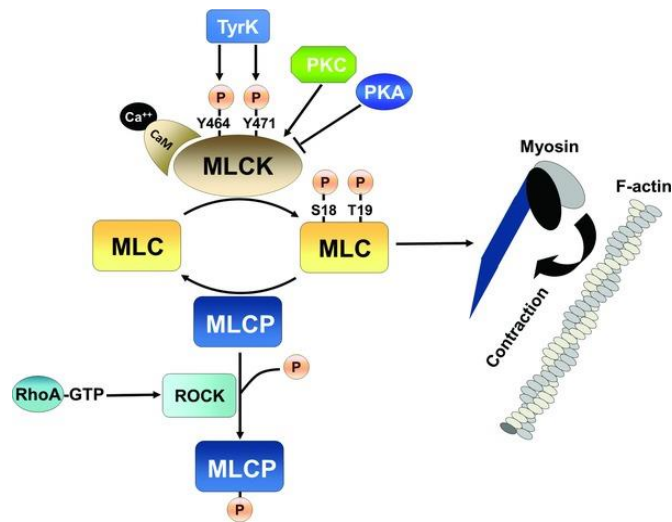


Figure 13 : Contraction de la cellule musculaire lisse : activation de la protéine kinase de la chaîne légère de la myosine, modification de la myosine et enfin contraction (D'après Rigor et al ., 2013).

Cette chaîne de réaction qui aboutit du calcium à la contraction de la cellule musculaire lisse été largement étudiée dans de nombreux tissus et semble bien connue de nos jours. Par contre, le lien entre hypoxie et augmentation de calcium intracellulaire semble moins clair.

Que savons-nous à l'heure actuelle ? A l'état basal, les canaux potassiques voltages dépendants (K_v) maintiennent un potentiel de membrane de repos au environ de -60 mV en jouant sur le flux sortant des ions K^+ . Ce potentiel de membrane négatif maintient ainsi les canaux calciques voltage dépendants de type L, fermés, inhibant l'entrée des ions calciques dans la cellule.

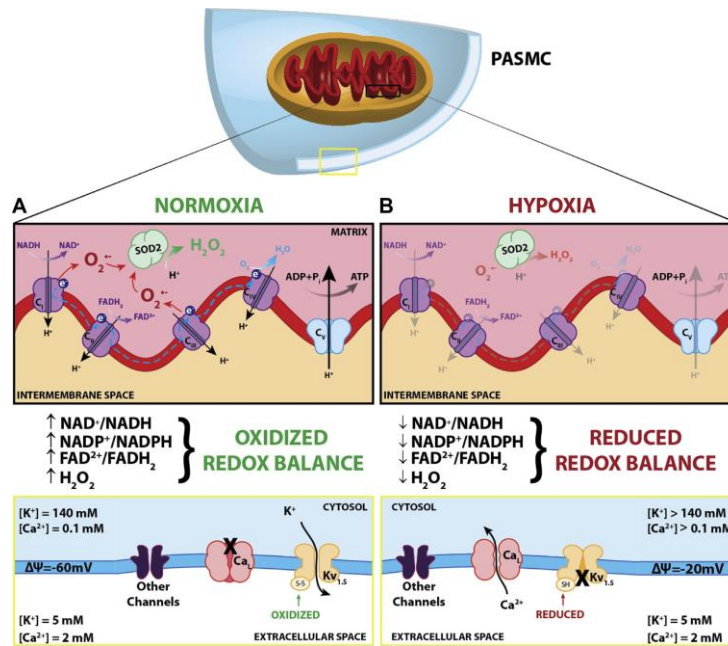


Figure 14 : Rôle de la balance d'oxydoréduction dans le déclenchement de la VHP
 (D'après Dunham *et al.*, 2016).

L'une des hypothèses actuelle suggère qu'en hypoxie, la diminution de l'oxygène empêche la formation de peroxyde d'hydrogène, diminue la balance d'oxydo-réduction et surtout diminue les groupements sulfhydryles des canaux potassiques Kv1,5 entrainant leur fermeture (Dunham *et al.*, 2016). Ainsi, le potassium s'accumule à l'intérieur de le cellule entrainant une augmentation du potentiel de membrane à -20 mV ce qui déclenche l'ouverture des canaux calciques voltages dépendant et ainsi l'afflux de calcium en intracellulaire. Cette augmentation en calcium cytosolique aboutit, comme nous l'avons vu plus haut, à la contraction de la cellule musculaire lisse (Figure 14).

La réalité est plus complexe puisqu'il existe une grande hétérogénéité des canaux ioniques potentiellement impliqués dans le phénomène de VHP en fonction des modèles, de l'espèce, de la localisation anatomique et de l'âge. Pour simple exemple, les canaux Kv différent chez le fœtus et l'adulte (Gnanayem *et al.*, 2001).

Ainsi ces dernières années, de nombreuses études se sont intéressées aux différents canaux ioniques impliqués dans la VHP. Des études pharmacologiques et électrophysiologiques, utilisant des techniques de patch-clamp ont permis d'identifier les canaux Kv et les canaux calciques voltages dépendants (Ca_L) comme étant les principaux effecteurs impliqués dans la VHP. En effet, le 4-aminopyridine, un inhibiteur des canaux potassiques Kv, provoque une vasoconstriction hypoxique dans un modèle de poumons perfusées de rat (Hasunuma *et al.*,

1991). De manière similaire, la nifédipine et le vérapamil, inhibiteurs classiques des canaux calciques Ca_L inhibent la VHP tandis que le BAY K8644, un agoniste des canaux calciques renforce la réponse vasoconstrictrice à l'hypoxie (McCurty *et al.*, 1985). Pour aller plus loin, des méthodes d'identification moléculaire ont permis de mettre en évidence le rôle central joué par les canaux potassiques Kv1.5, un canal-Shaker, et Kv2.1 (Archer *et al.*, 1998 ; Firth *et al.*, 2011). Toutefois, d'autres classes de canaux potassiques et calciques s'avèrent être impliquées dans le mécanisme de VHP. En particulier un canal potassique à deux pores, actif en cas de potentiel de membrane très négatif, semble jouer un rôle important lors de l'initiation de la VHP, bien que son inhibition ne provoque pas une vasocontraction pulmonaire (Duprat *et al.*, 1995 ; Gardener *et al.*, 2004). De même, en plus des canaux calciques de type L (Ca_L) classiquement impliqués, le calcium contribuant à la VHP, peut résulter du mécanisme biologique de « libération de calcium induit par le calcium (LCIC) » (Ward *et al.*, 2009). Ainsi, la VHP dépend de la sensibilité des myofilaments de la cellule musculaire lisse au calcium. Des facteurs intrinsèques comme la phosphorylation par la protéine kinase C ou des facteurs extrinsèques comme la libération de NO ou la stimulation par l'endothéline peuvent accroître la sensibilité de calcium à l'hypoxie.

2.2.3. Modulation du mécanisme

Les systèmes de modulation permettent de renforcer ou bien d'inhiber le mécanisme de VHP (Sylvester *et al.*, 2012). Même si des facteurs comme le pH intracellulaire peuvent moduler la VHP par un effet direct sur la cellule musculaire lisse, les principaux modulateurs de la VHP se situent à proximité de la cellule musculaire lisse et en particulier la cellule endothéliale.

2.2.3.1. Rôle de la cellule endothéliale pulmonaire

L'endothélium vasculaire pulmonaire se situe à l'interface entre le milieu sanguin et les alvéoles (Figure 15). Le rôle exact joué par l'endothélium dans le VHP reste à définir. Ces controverses peuvent s'expliquer en partie par la difficulté d'étudier les effets de l'ablation de l'endothélium. En effet, le retrait de l'endothélium d'un poumon intact crée une lésion majeure de cet endothélium entraînant presque toujours un œdème pulmonaire important. Sur vaisseaux isolés, l'ablation de l'endothélium est de réalisation technique aisée sur des artères

pulmonaires proximales (Rodman et al, 1990) mais plus difficile sur des artères distales (Leach et al, 1994).

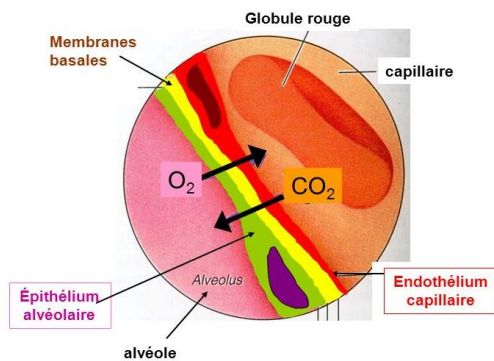


Figure 15 : Cellules endothéliales pulmonaires et alvéole.
Source : <http://www.reannecy.org>

Malgré ces difficultés techniques, de nombreuses études se sont intéressées et s'intéressent à la fonction de l'endothélium dans la VHP. Les résultats restent cependant contradictoires. Pour certains, la dénudation endothéliale inhiberait la contraction à l'hypoxie d'anneaux vasculaires isolés d'artères pulmonaires de rat (Bennie *et al.*, 1991; Liu *et al.*, 2001) ou humaines (Demiryureket *et al.*). A l'inverse pour d'autres, l'endothélium ne jouerait pas un rôle majeur (Rodman *et al.*, 1990). En 1990, Rodman montre que l'hypoxie induit une vasoconstriction d'artères pulmonaires désendothélialisées, suggérant ainsi que la cellule musculaire lisse est l'effecteur principal (Rodman *et al.*, 1990). Dans la même idée, Murray met en évidence une contraction hypoxique de cellules musculaires lisses en culture (Murray *et al.*, 1990). Pour Leach, la dénudation endothéliale de vaisseaux isolés proximaux ou distaux, aurait peu d'effet sur la contraction transitoire initiale mais empêcherait le développement de l'augmentation secondaire (Leach *et al.*, 1994). Ces résultats peuvent s'expliquer en partie au moins par l'intensité du stimulus hypoxique. Le retrait de l'endothélium inhiberait la contraction des cellules musculaires lisses en cas d'anoxie ou d'hypoxie majeure mais potentialiserait la réponse si le stimulus hypoxique est moins important (Rodmann et al, 1990). D'autre part, d'autres éléments pouvant varier suivant les expériences et les laboratoires comme des lésions des cellules musculaires lisses faites lors de la dénudation endothéliale doivent être prises en compte.

A l'heure actuelle, les différents auteurs s'accordent pour dire que la cellule musculaire lisse artérielle pulmonaire est le principal effecteur de la VHP, et à la propriété de se contracter seule en réponse à l'hypoxie mais que sa réponse est modulée par l'endothélium.

L'endothélium semble ainsi jouer un rôle important de modulateur par l'intermédiaire des facteurs vasoactifs qu'elle libère en hypoxie et en particulier : le NO, la prostacycline et l'endothéline-1.

Le NO :

Le NO est une molécule endogène libéré en partie par les cellules endothéliales et synthétisé à partir de la L-Arginine et de l'oxygène par plusieurs enzymes dites NOS synthases (NOS).

Le NO produit par la cellule endothéliale, diffuse à travers la membrane plasmique vers les cellules musculaires lisses voisines. Dans la cellule musculaire lisse, le NO stimule la Guanylyl Cyclase (GC), enzyme qui synthétise le Guanosine monophosphate cyclique (GMPc). Le GMPc s'unit ensuite à une protéine kinase GMPc dépendante, une PKG, qui phosphoryle des substrats, diminuant ainsi la concentration de calcium intracellulaire et la sensibilité des myofilaments au calcium entraînant une vasorelaxation. Ainsi, la production basale de NO par la NOS endothéliale maintient le tonus basal de la circulation pulmonaire dans un état vasodilaté (Figure 16).

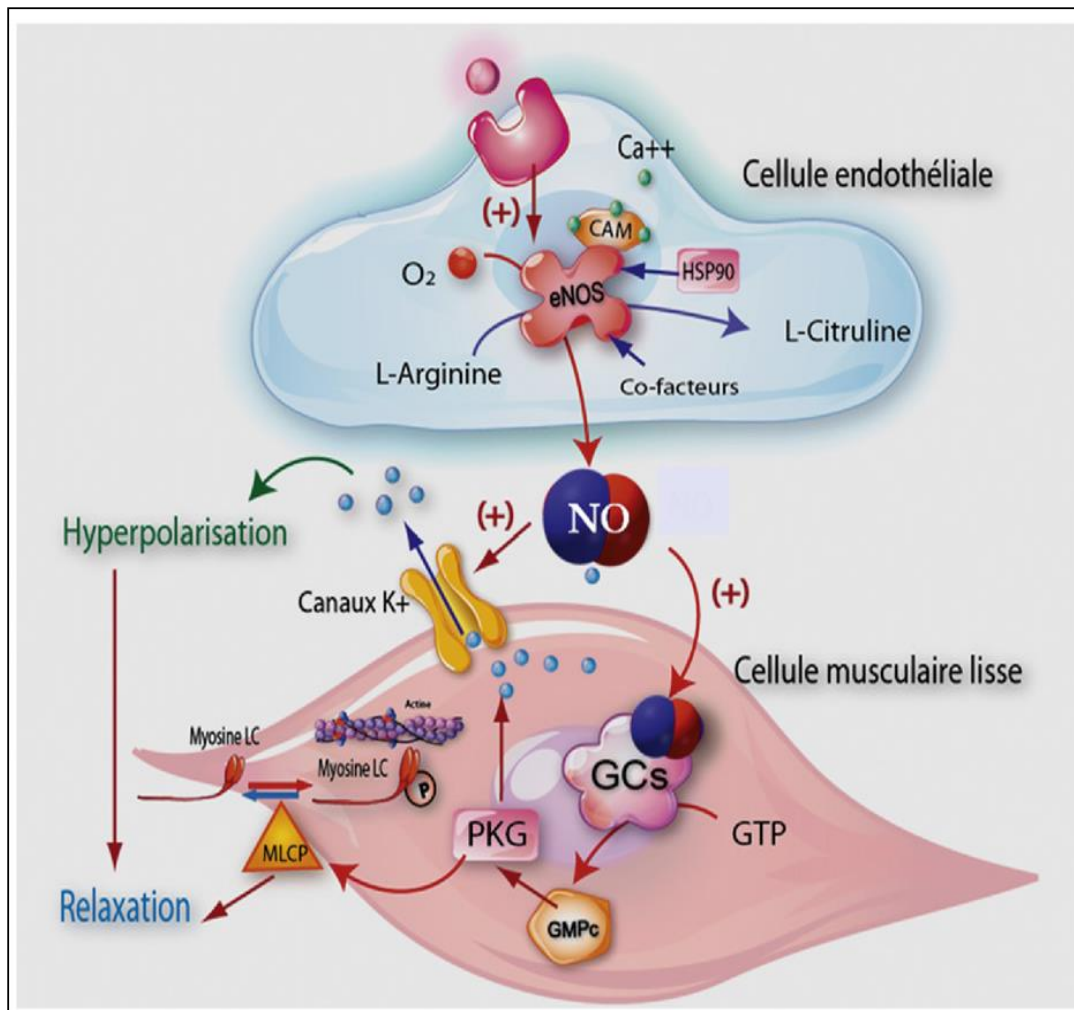


Figure 16 : Rôle du monoxyde d'azote dans la vasodilatation de l'artère pulmonaire. Abréviations: Ca^{++} : calcium ; CaM : calmoduline ; eNOS : NO synthase endothéliale ; NO : monoxyde d'azote ; K^+ : potassium ; GCs : guanylyl cyclase soluble ; GTP : guanosine triphosphate ; GMPc : guanosine monophosphate cyclique ; PKG : protéines kinases dépendante du GMPc ; P : phosphate ; MLCP : phosphatase des chaînes légères de la myosine (Duong-Quy *et al.*, 2012).

Le rôle du NO au cours de l'hypoxie fait lui aussi l'objet de discussion.

Une des premières hypothèses avancée suggère tout simplement qu'en l'absence d'oxygène, la diminution de la production de NO contribue à la VHP, par la simple suppression du tonus basal pulmonaire ou par l'augmentation de la sensibilité des cellules musculaires lisses au calcium. Pour ce faire, différents inactivateurs du NO ou inhibiteurs de la NOS ont été étudiés. Archer et al montre en 1989, que le L-NMMA, un analogue de la L-arginine qui inhibe la synthèse de NO, double l'intensité de la vasoconstriction hypoxique dans un modèle de poumon perfusé isolé de rat adulte (Archer et al 1989). Cette potentialisation de la vasoconstriction hypoxique par une inhibition sélective de la synthèse du NO a été confirmée

par d'autres études utilisant divers inhibiteurs de la NOS, L-NMMA, L-NA et L-NAME dans des préparations de lapins anesthésiés (Persson *et al.*, 1990), des poumons de rats isolés perfusés (Liu *et al.*, 1991 ; Isaacson *et al.*, 1994) et des artères intrapulmonaires de porcs isolés (Ogata *et al.*, 1992).

Cependant, d'autres études suggèrent quant à elles, que la vasoconstriction hypoxique provoquerait plutôt une libération de NO. Pour Leach *et al.*, en 1994, la contraction hypoxique de petites et grosses artères pulmonaires de rat n'est pas modifiée par le L-NA (Leach *et al.*, 1994). Les effets directs de l'hypoxie sur la synthèse de NO par l'endothélium pulmonaire ont été également mesurés. Dans des cultures de cellules endothéliales pulmonaires, la production de facteurs vasorelaxants dépendants de l'endothélium est réduite par une hypoxie sévère ($P_{O_2} = 15$ mmHg) mais non modifiée par une hypoxie modérée ($P_{O_2} = 42$ mmHg) (Warren *et al.*, 1989). De plus, la production de NO est plus élevée dans les cellules endothéliales artérielles pulmonaires exposées à 10 minutes d'hypoxie ($P_{O_2} = 37$ mmHg) que dans des cellules normoxiques (Hampl *et al.*, 1995). Une hypoxie aiguë ($P_{O_2} = 23$ mmHg) ne modifie pas l'accumulation de nitrites et de nitrates, dérivés métaboliques du NO, dans le perfusât de poumon isolé de lapin (Grimminger *et al.*, 1995). Pour certains auteurs, il apparaît donc qu'une hypoxie modérée ne réduit pas et peut même au contraire augmenter la production de NO endothélial dans la circulation pulmonaire.

Pour comprendre le rôle de la voie du NO dans la VHP, de nombreuses études se sont intéressées à la production du GMPc, second messenger synthétisé par la GC, elle-même activée par le NO. Après de nombreuses controverses à ce sujet, l'équipe de Vanhoutte démontre que l'hypoxie n'a pas d'effet sur la production de GMPc dans un modèle d'artère isolée de coronaire de porc (Chen *et al.*, 2014; Chan *et al.*, 2011). Vanhoutte s'interroge alors sur le fait qu'une contraction hypoxique requiert la présence de l'endothélium, du NO, et de la GCs mais curieusement pas du GMPc (De Mey *et al.*, 1983; Chan *et al.*, 2011). En 2014, il propose une nouvelle hypothèse : l'inosine 3',5'- cyclique monophosphate (IMPC) serait produite par la GC et cette production serait stimulée par le NO en condition hypoxique. Plusieurs évidences confirment le rôle joué par l'IMPC : le taux d'IMPC est élevé en présence de NO dans des artères sans endothélium ou en condition hypoxique chez de artères pourvues d'endothélium. Ces effets sont inhibés par l'ODQ, un inhibiteur sélectif de la GCs. La concentration d'IMPC augmente également dans des artères sans endothélium soumis à l'hypoxie en présence du composé BAY 58-2667, un activateur de la GC. L'IMPC semble

ainsi jouer un rôle majeur. Des questions restent en suspens. Pourquoi en condition hypoxique, la GC change de substrat et choisit la formation d'IMPc et non de GMPc ? La disponibilité plus importante d'ITP en hypoxie ou l'inhibition de l'ITPase en condition hypoxique peuvent peut être constituer le début d'une hypothèse (Chen *et al.*, 2011). Le rôle de l'IMPc comme médiateur dans la VHP a été étudié : quelle est la cible de l'IMPc ? La PKA et PKG ne semblent pas être les cibles classiques. L'IMPc, sur des artères coronaires de porc, active ROCK, ce qui entraîne une diminution de l'activité de la phosphatase de la chaîne légère de la myosine (MLCP) et donc une augmentation de la vasoconstriction (Gao *et al.*, 2007). Rho-kinase semble être une cible pour l'IMPc. Pour l'équipe de Vanhoutte, la formation d'IMPc par la GC est stimulée par le NO en condition hypoxique. Ce changement est associé à l'activation de ROCK kinase qui entraîne une vasoconstriction hypoxique. Des études supplémentaires sont nécessaires afin de confirmer cette hypothèse (figure 17).

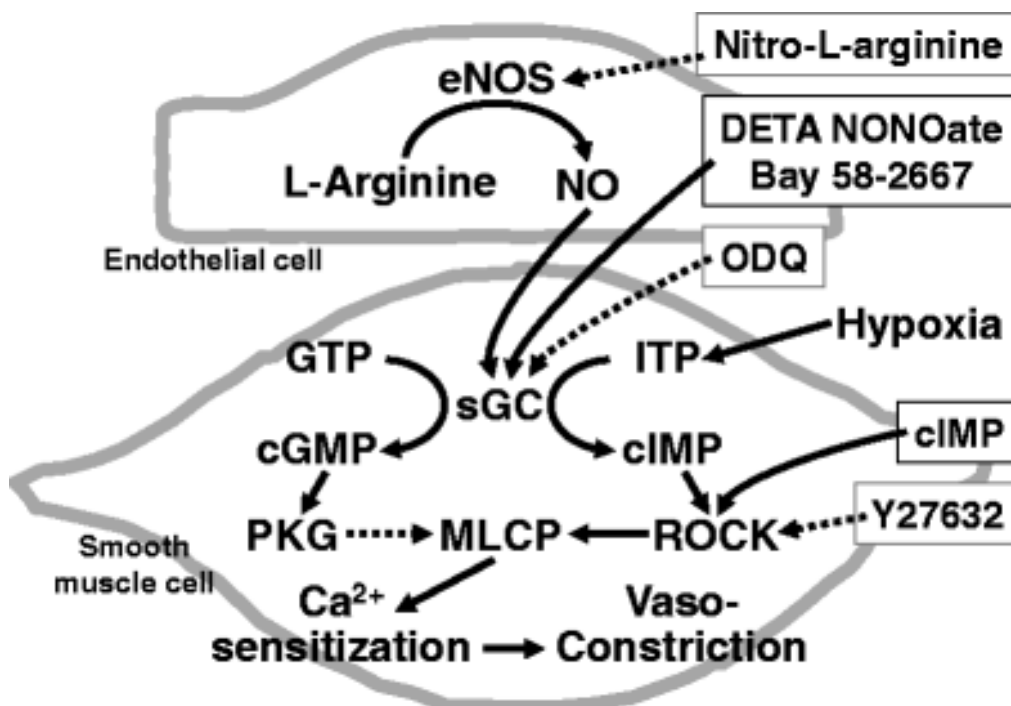


Figure 17 : Rôle de l'IMPc comme médiateur dans le VHP.

Abréviation : Ca^{2+} : calcium ; eNOS : NO synthase endothéliale ; NO : monoxyde d'azote ; GCs : guanylyl cyclase soluble ; GTP : guanosine triphosphate ; GMPc : guanosine monophosphate cyclique ; PKG : protéine kinase dépendante du GMPc ; P : phosphate ; ITP : inosine triphosphate ; IMPc : inosine monophosphate cyclique ; MLCP : phosphatase des chaînes légères de la myosine ; ROCK : kinase associée à Rho ; ODQ : inhibiteur de la soluble GC ; Y27632 : inhibiteur de ROCK ; BAY 58-2667 : activateur de la GCs indépendant du NO, DETA NONOate : donneur de NO exogène (Chen *et al.*, 2014).

D'autres facteurs endothéliaux semblent jouer un rôle dans la modulation de la vasoconstriction hypoxique.

La Prostacycline

La prostacycline (PGI_2) est un agent vasodilatateur produit par les cellules endothéliales au niveau de la circulation systémique et pulmonaire. Elle agit en activant l'adénylyl cyclase ce qui aboutit à l'augmentation de la production d'AMPc. En condition hypoxique, la production de prostacycline par les cellules endothéliales pulmonaires augmente atténuant ainsi la VHP (Lumb *et al.*, 2015) (Figure 18).

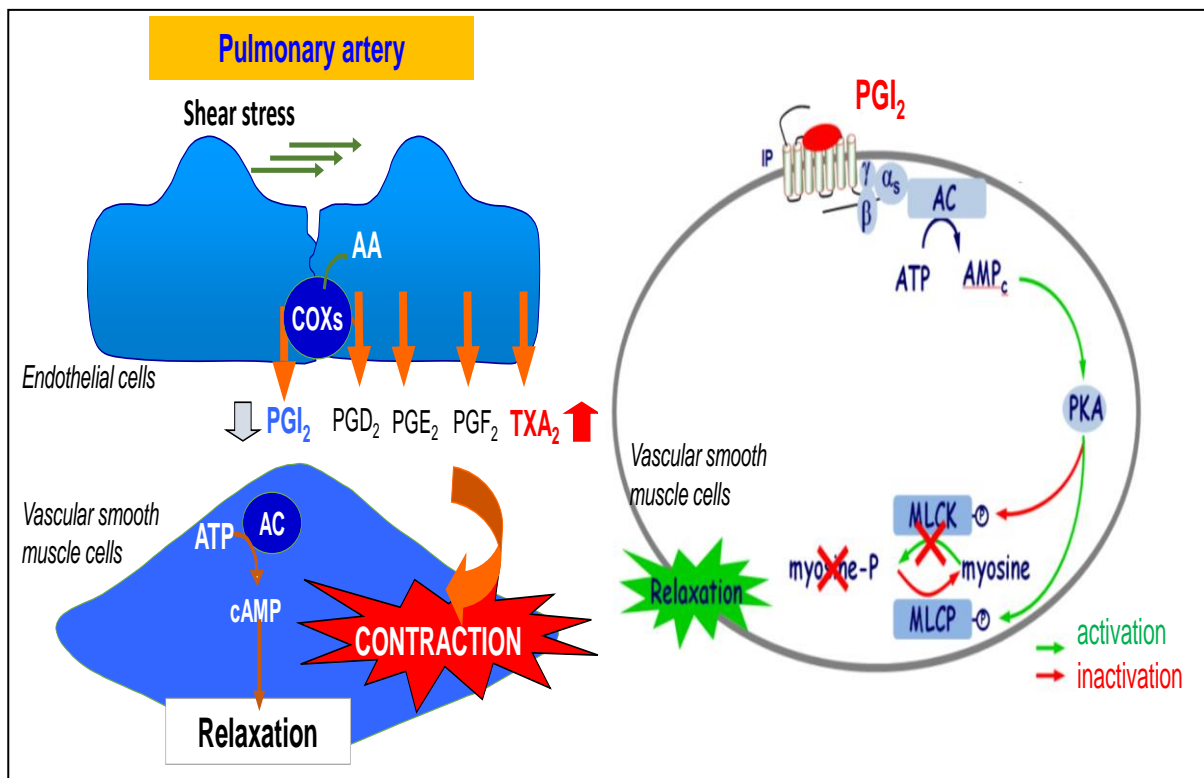


Figure 18 : Synthèse des prostaglandines (PG) et thromboxane A2 (TXA_2) à partir de l'acide arachidonique (AA) par l'action de la cyclooxygénase-1. La PGI_2 agit sur son récepteur IP et permet l'augmentation d'AMPc grâce à l'activation de l'adénylyl cyclase. L'AMPc va activer la PKA qui va phosphoryler la MLCP. La chaîne légère de la myosine n'étant plus phosphorylée, elle ne peut plus se lier à l'actine ce qui conduit à une relaxation des cellules musculaires lisses vasculaires. Abréviations : IP : récepteur de la PGI_2 ; AC : adénylyl cyclase ; ATP : adénosine triphosphate ; AMPc : adénosine monophosphate cyclique ; PKA : protéine kinase A ; MLCK : kinase des chaînes légères de la myosine ; MLCP : phosphatase des chaînes légères de la myosine ; P : phosphorylation (D'après Amissi *et al.*, 2016).

Endothéline-1

L'endothéline-1 est un peptide de 21 acides aminés secrété pour l'essentiel par l'endothélium vasculaire dans l'espace interstitiel et ayant un effet vasoconstricteur puissant sur les cellules musculaires lisses. ET₁ est le vasoconstricteur le plus puissant connu (Figure 19). Agissant par l'intermédiaire de récepteurs couplés à des protéines G, les récepteurs ET_A et ET_B, situés sur les cellules musculaires lisses, l'endothéline-1 possède de nombreux effets qui potentialisent la vasoconstriction hypoxique pulmonaire. Le plus important semble être sa capacité en condition hypoxique à augmenter la sensibilité des canaux calciques responsables d'une entrée de calcium dans la cellule. L'endothéline est également impliquée dans le remodelage vasculaire que l'on peut constater après une hypoxie de longue durée. De ce fait, les antagonistes de l'endothéline sont utilisées actuellement dans le traitement de l'hypertension artérielle pulmonaire chronique (Dupuis *et al.*, 2008). La cinétique de l'endothéline semble plutôt longue dans certain modèle comme le cochon (Mathew *et al.*, 1997) et ce qui pose la question de son implication dans la phase initiale rapide de la VHP.

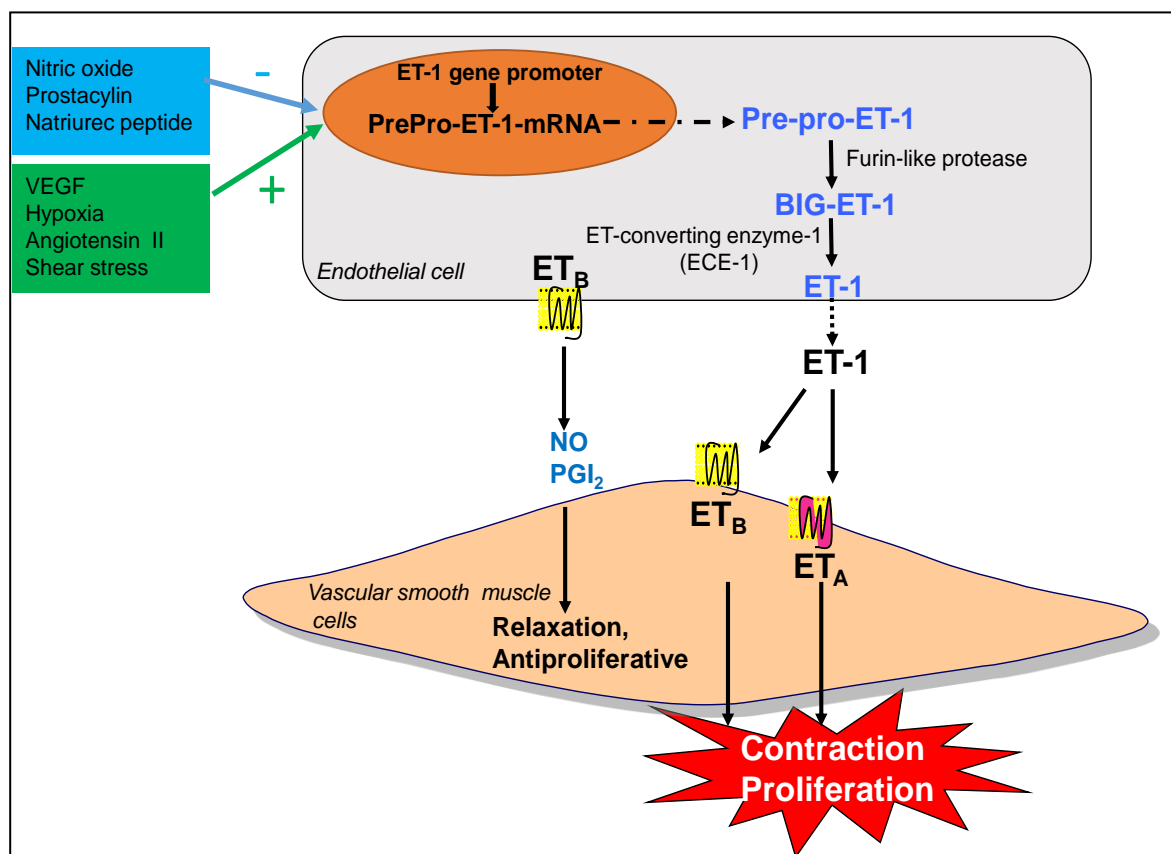


Figure 19 : Régulation de la synthèse de l'ET-1 : les voies de production, les récepteurs ainsi que l'effet sur les cellules musculaires lisses vasculaires pulmonaires. La synthèse d'ET-1 débute avec la transcription de préproET-1 qui est clivée par une endopéptidase pour former le précurseur proET-1(Big ET-1). Big ET-1 est ensuite transformé en peptide mature par la métalloprotéinase endothéline-converting enzyme-1 (ECE-1). Deux récepteurs d'ET ont été identifiés, ET_A que l'on retrouve sur les cellules musculaires lisses vasculaires pulmonaires, son activation permet une vasoconstriction et prolifération cellulaire, alors que les récepteurs ET_B se situent sur les cellules endothéliales et les cellules musculaires lisses vasculaires pulmonaires et conduisent principalement à une vasodilatation (Remuzzi *et al.*, 2002).

2.2.3.2. Modulation humorale

Des modulateurs humoraux de la réponse vasculaire à l'hypoxie ont été mis en évidence chez l'animal, tel que l'adénosine, l'histamine ou le 5-hydroxytryptamine. Aucun ne paraît jouer un rôle important chez l'homme (Sylvester *et al.*, 2012). L'angiotensine II a un effet plutôt vasoconstricteur sur les cellules musculaires lisses du poumon sain humain et potentialise le VHP dans de nombreuses espèces dont l'homme (Cargill *et al.*, 1994).

2.2.3.3. Rôle du système nerveux

Le système sympathique est responsable de l'innervation des artères pulmonaires d'environ 60 µm de diamètre mais ne joue aucun rôle dans le maintien du tonus vasculaire pulmonaire basal. Il ne semble pas non plus être impliquée dans la modulation de la VHP. Il est par contre impliqué dans le développement de certains œdèmes pulmonaires dont les œdèmes pulmonaires de la haute altitude. Le système parasympathique, quand à lui, ne semble pas moduler la VHP.

Ainsi le mécanisme exact impliqué dans la VHP n'est pas complètement élucidé et les différentes hypothèses émises doivent sans doute coexister à des degrés variables en fonction de l'espèce, du degré d'hypoxie et du protocole expérimental. Sylvester dans sa revue de littérature nous offre une belle synthèse (Sylvester *et al.*, 2012).

2.3. Facteurs affectant la VHP

En plus des facteurs physiologiques comme l'âge ou la température, certains médicaments peuvent interférer avec la VHP. Ils existent également une grande hétérogénéité de la réponse à la VHP.

2.3.1. Médicaments interférant avec la VHP

Tableau 4 : Médicaments interférant avec la VHP

Augmentation de la VHP	Diminution de le VHP
Catécholamines Almitrine	Acetazolamide NO inhalé Inhibiteurs des phosphodiesterases Donneurs de NO Prostacycline Antagonistes de l'endothéline Inhibiteurs calciques Inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine Stéroïdes

Concernant les catécholamines, les vaisseaux pulmonaires présentent des récepteurs adrénergiques α_1 et β_2 et des récepteurs dopaminergiques DA. Des études sur l'animal montrent que l'adrénaline, la dopamine, la dobutamine, et l'isoprénaline atténuent la VHP (Piercy *et al.*, 1990, Lejeune *et al.*, 1987). Il existe cependant une grande variabilité des effets des catécholamines sur la VHP vraisemblablement en raison de la multitude de récepteurs adrénergiques et d'effets différents entre la circulation pulmonaire et systémique.

Classiquement, l'utilisation d'agonistes des récepteurs α_1 adrénergiques, comme la noradrénaline ou la néosynéphrine qui entraînent une vasoconstriction pulmonaire devraient augmenter la VHP. Cependant, *in vivo*, ces substances ne provoquent pas exclusivement une vasoconstriction pulmonaire mais également une vasoconstriction au niveau de la circulation systémique. Ainsi leur capacité à améliorer l'oxygénation dans des situations cliniques est plus mitigée. Dans une étude chez des patients avec une atteinte pulmonaire aigüe, la noradrénaline n'a pas montré une amélioration de l'hématose (Papazian *et al.*, 1999). Cet effet est sans doute le fait de la vasoconstriction généralisée induite par la noradrénaline (Papazian *et al.*, 1999). A l'inverse, on retrouve dans une étude similaire, une amélioration de l'oxygénation chez 50% des patients avec une atteinte pulmonaire aigüe après administration de phényléphrine (Doering *et al.*, 1997).

L'almitrine à faible dose augmente la VHP chez le chien anesthésié par un effet vasoconstricteur spécifique des artères pulmonaires (Chen *et al.*, 1990). En France l'almitrine est commercialisée depuis 1982 dans l'indication d'insuffisance respiratoire avec hypoxémie en rapport avec une bronchopneumopathie chronique obstructive (Bury *et al.*, 1989). En administration chronique, l'almitrine a été impliquée dans la survenue de neuropathie périphérique (Gherardi *et al.*, 1985). Ainsi en 2013, l'Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM), en France, considère que « l'efficacité des médicaments contenant de l'almitrine s'avère insuffisante alors que persistent des préoccupations en matière de sécurité d'emploi principalement neuropathies périphériques et perte de poids.

2.3.2. Hétérogénéité de la réponse à la VHP

Visser en 1962, suggère que la vasoconstriction pulmonaire est inégale et hétérogène ; seules quelques zones pulmonaires bénéficieraient de la vasoconstriction « protectrice » tandis que les autres zones pulmonaires recevant elles un flux plus important de sang seraient soumises à des dommages capillaires (Visser *et al.*, 1962). En 1985, une étude chez le porc utilisant des microsphères a mis en évidence la distribution spatiale hétérogène de la VHP (Hlastala *et al.*, 2004). Chez l'homme, c'est le développement de l'IRM qui a permis de démontrer le caractère hétérogène de la VHP et en particulier en cas d'œdème du à la haute altitude (Dehnert *et al.*, 2006) (Figure 20).

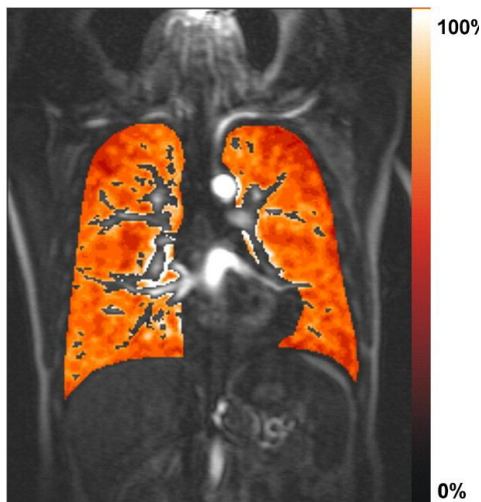


Figure 20 : Hétérogénéité de la réponse à la VHP chez l'homme. Réalisation d'imagerie par résonance magnétique chez des sujets sains respirant un mélange à 12% oxygène (Sa_{O_2} 73%-77%). La couleur indique l'intensité du signal qui représente la perfusion du parenchyme pulmonaire (De 0 en noir au maximum en blanc).

D'après Dehnert *et al.*, 2006

2.4. Les différents Modèles expérimentaux étudiant la VHP

2.4.1. Les différents modèles

Différents modèles expérimentaux existent pour étudier le phénomène de VHP : des vaisseaux isolés à l'animal entier. Comme tous modèles expérimentaux, ceux-ci présentent des limites et possèdent des contraintes. L'hypoxie a été étudié dans différents modèles (vaisseaux pulmonaires isolés, poumon isolé *ex vivo*, ou l'animal entier) et dans de nombreuses espèces (chien, porc, chat, rat, souris). Nous avons utilisé dans nos recherches le modèle d'anneaux vasculaires pulmonaires isolés d'artères pulmonaires proximales et distales de porc. C'est pourquoi nous détaillerons plus particulièrement ce modèle.

2.4.1.1. Modèle des vaisseaux pulmonaires isolés

Les artères pulmonaires de porcs sont issues du bloc cœur-poumon provenant de l'abattoir de Strasbourg. La dissection des artères pulmonaires est réalisée au laboratoire et les premières branches de bifurcation sont prélevées. Les artères sont ensuite disséquées sous loupe binoculaire (grossissement x20) afin de les individualiser et d'enlever les tissus conjonctifs et adipeux qui les enveloppent. Ces tissus peuvent produire des interférences lors de l'expérimentation. Les vaisseaux sanguins sont découpés en anneaux d'une longueur de 2-3 mm pour les artères pulmonaires porcines. Pour certains anneaux, la préparation est complétée par le retrait mécanique de leur endothélium (introduction d'une pince dans la lumière qui frotte sur la surface de l'intima à raison de 20 rotations de la pince).

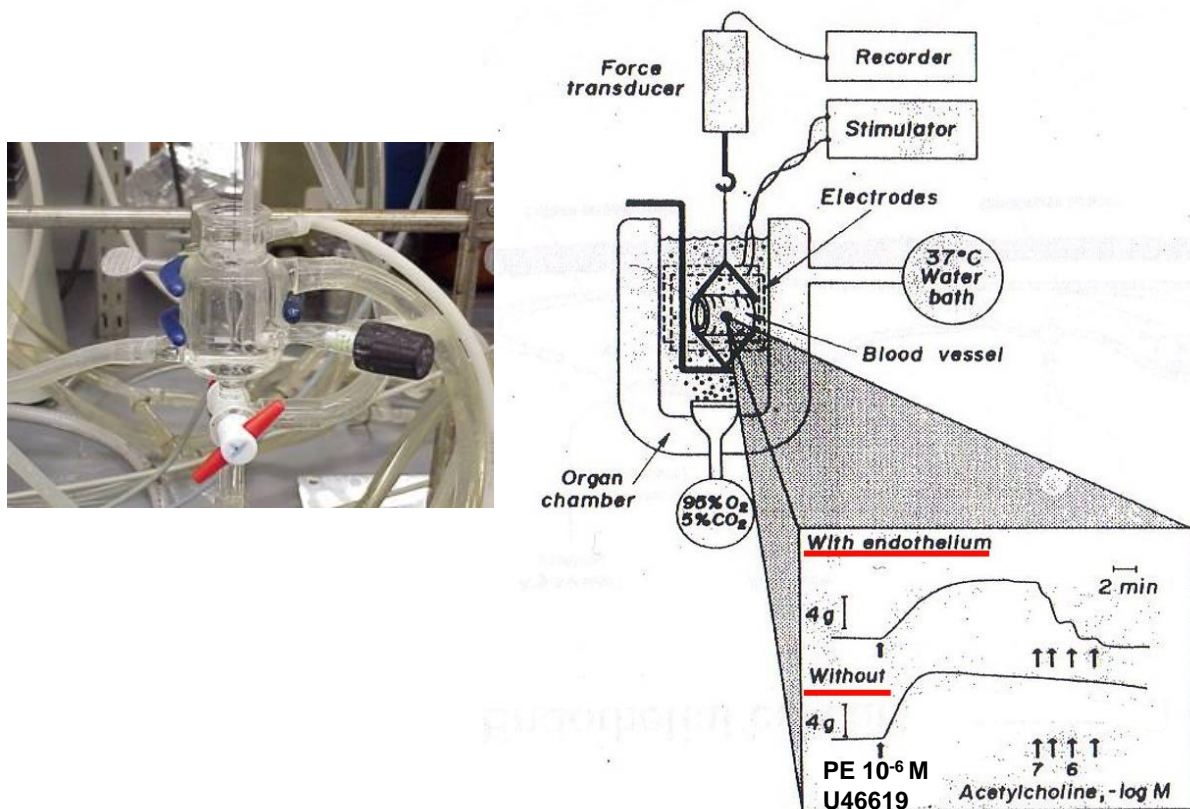


Figure 21 : Représentation et fonctionnement des chambres à organes isolés (Lüscher and Vanhoutte, CRC Press, 1990)

Montage dans les chambres à organes isolés

Les anneaux sont montés entre deux crochets puis plongés dans les cuves à organe isolé contenant une solution physiologique de Krebs oxygénée par du carbogène (95% O₂ + 5% CO₂) et maintenue à 37°C. Les crochets sont reliés à un capteur de tension isométrique qui est relié à un amplificateur et à un ordinateur (Figure 21).

Une fois le montage effectué, les anneaux sont placés sous une tension de 2 g pour les artères pulmonaires proximales de porc et 1,5 g pour les artères distales de porc. Ces tensions représentent respectivement pour chaque vaisseau la tension optimale reproduisant les conditions physiologiques et permettant d'avoir une réponse contractile maximale. La détermination de cette tension optimale est établie d'après les données de la littérature et les expériences préliminaires déjà réalisées au sein du laboratoire. Pour chaque préparation, les anneaux sont tendus à leur tension optimale pendant 30 min : on parle de phase d'équilibration. Vient ensuite la phase de sensibilisation permettant d'évaluer la contraction maximale du vaisseau. En premier lieu les anneaux sont exposés à une solution dépolarisante de KCl (80 mM) pour déterminer la capacité maximale de contraction et la vitalité du vaisseau. Les vaisseaux sont ensuite lavés à trois reprises avec de la solution de Krebs puis équilibrés durant une période de 30 min. Les vaisseaux sont ensuite exposés à un agent contracturant spécifique à chaque type d'anneau : la phényléphrine pour les artères proximales de porc et le U46619, analogue du thromboxane A₂ pour les artères pulmonaires plutôt distales de porc (Glusa *et al.*, 2000). L'emploi de cet agoniste permet d'évaluer si la préparation est utilisable. Ainsi, seuls les vaisseaux qui répondent par une élévation de tension d'au moins 60% après l'exposition à l'U46619 seront considérés comme exploitables.

La présence d'un endothélium fonctionnel est ensuite vérifiée par l'exposition du vaisseau à une dose de bradykinine (10⁻⁷ M) (Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA). Respectivement, sont classés dans le groupe des vaisseaux avec endothélium fonctionnel (E+) les vaisseaux qui exhibent plus de 60% de relaxation et dans le groupe sans endothélium (E-) ceux qui exhibent une relaxation inférieure à 15% de la tension de base définie.

Mise en condition hypoxique

Afin d'exposer les anneaux à des conditions hypoxiques, le mélange du gaz est modifié : arrêt du carbogène (95% O₂ + 5% CO₂) et mise en place d'un mélange contenant 95 %N₂ et 5%, de CO₂. Le degré d'hypoxie effectif dans la cuve est mesuré par une sonde de type électrode. (Microélectrode Licox). La majorité des études mettent en évidence la

nécessité d'une precontraction des vaisseaux isolés afin de pouvoir observer une vasocontraction mesurable et reproductible (Sylvester *et al.*, 2012). Ainsi les anneaux sont pré contractés avec du U46619 afin d'obtenir une contraction correspondant à 20% de la contraction maximale. L'hypoxie peut ensuite commencer.

2.4.1.2. Modèle de perfusion ventilation pulmonaire *ex vivo*

Le modèle de perfusion ventilation pulmonaire *ex vivo* consiste à ventiler et perfuser des poumons en dehors de l'organisme dans une enceinte fermée, en contrôlant le débit, la température de perfusion, les paramètres de ventilation, la température et l'hygrométrie de l'enceinte, et l'asepsie des poumons (Figure 22). Le circuit se compose essentiellement, outre d'une enceinte dans laquelle sont déposés les poumons, d'une pompe centrifuge de circulation, d'un échangeur thermique et d'un respirateur connecté à la trachée *via* une sonde d'intubation ou une trachéotomie. Certaines équipes utilisent une pompe centrifuge de circulation extracorporelle (CEC), un oxygénateur membranaire, un filtre anti-leucocytes, et un échangeur. La solution de perfusion (ou perfusat) entre dans le poumon *via* une canule connectée à l'artère pulmonaire. Le retour veineux est généralement passif, des veines pulmonaires jusque dans un réservoir contenu ou non dans l'enceinte. Ce type de modèle peut être réalisé chez le petit rongeur comme le rat ou le porc. Dans ce modèle, il est aisé d'appliquer un milieu hypoxique par la ventilation en utilisant un mélange hypoxique.

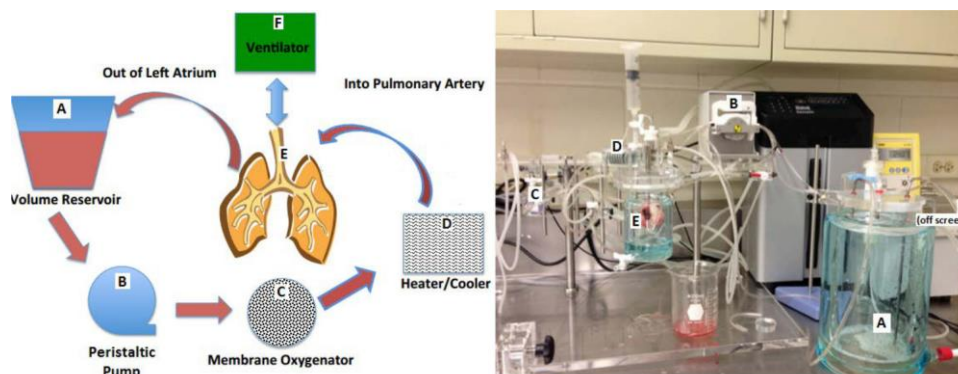


Figure 22 : Modèle perfusion ventilation pulmonaire *ex vivo*
(D'après Nelson *et al.*, 2015)

2.4.1.3. Modèle d'hypoxie chez l'animal entier

Le modèle classique d'exposition d'un animal entier à une hypoxie induit une vasoconstriction pulmonaire, suivie d'un remodelage artériolaire aboutissant à ce qu'on appelle l'hypertension artérielle pulmonaire (HTAP). Les données expérimentales animales confirment que le remodelage artériolaire fait rapidement suite à la constriction hypoxique initiale. La vasoconstriction hypoxique est rapide, puisqu'elle résulte essentiellement d'une inhibition de canaux potassium voltage-dépendants des cellules musculaires lisses avec une modulation endothéliale. La séquence temporelle du remodelage hypoxique est moins bien connue. Le modèle expérimental d'hypertension pulmonaire hypoxique le plus souvent utilisé recourt au petit rongeur, rat ou souris, soumis à une hypoxie normobare ou hypobare pendant deux à trois semaines, parfois davantage. Ce type de modèle est intéressant pour étudier le mécanisme de l'HTAP et beaucoup moins pour étudier le phénomène de vasoconstriction hypoxique. D'autres modèles comme l'hypoxie localisée chez l'animal entier sont sans doute plus intéressants pour notre problématique.

2.4.2. Les limites des modèles et difficulté d'étude

La majorité des études ont été réalisées à partir de cellules provenant d'artères pulmonaires proximales ou d'anneaux vasculaires isolés. Nous savons maintenant qu'ils existent des différences régionales dans la réactivité vasculaire pulmonaire, entre espèce mais aussi interindividuelle.

Pour exemple, la structure et la composition des cellules musculaires lisses sont hétérogènes et quatre phénotypes ont été identifiés au niveau des artères pulmonaires, à différents stades du développement (Frid *et al.*, 1994). Trois types de cellules musculaires lisses dans l'artère pulmonaire peuvent être distingués d'un point de vue pharmacologique, morphologique et électrophysiologique (Albarwani *et al.*, 1995). Ces cellules sont caractérisées par des critères électrophysiologiques et leur type de canal potassique dominant. Les cellules K_{Ca} ont une prédominance de canaux K_{Ca} , les cellules K_{DR} de canaux K_{DR} et les cellules mixtes sont caractérisées par la présence des deux types de canaux potassiques K_{Ca} et K_{DR} . La répartition de ces cellules est différente selon leur localisation proximale ou distale dans l'artère pulmonaire (Archer *et al.*, 1996). Les artères proximales contiennent de

nombreuses cellules musculaires lisses K_{Ca} ; les artères de résistance ont une majorité de cellules K_{DR} et peu de cellules K_{Ca} .

L'hypoxie dépolarise les cellules K_{DR} par une inhibition réversible et rapide des canaux K_{DR} qui contrôlent le potentiel de membrane au repos. Le NO hyperpolarise les cellules K_{Ca} par une ouverture des canaux K_{Ca} (Archer *et al.*, 1996). Le corollaire fonctionnel de cette diversité électrophysiologique est la contraction en hypoxie des vaisseaux résistifs riches en cellules K_{DR} et la réponse plutôt bi phasique avec une relaxation prédominante en hypoxie des vaisseaux proximaux.

La réactivité vasculaire pulmonaire à l'hypoxie est variable, en outre, selon les espèces et dans une même espèce selon les individus. Cette variabilité interindividuelle résulte de l'influence plus ou moins marquée de certains systèmes de régulation dépendant des conditions physiologiques propres à chaque individu. La complexité des mécanismes de la vasoconstriction hypoxique et la variabilité régionale de la réactivité vasculaire pulmonaire rendent particulièrement difficile l'interprétation des résultats des études portant sur les effets pharmacologiques des différentes substances.

Il nous a donc paru utile d'étudier la VHP et de tester nos hypothèses dans un modèle d'hypoxie sur des vaisseaux isolés d'artères pulmonaires de porc. Nous avons choisi le porc, parce que le phénomène de VHP y est particulièrement important (De Cannière *et al.*, 1992) et que le poumon de porc est assez grand pour permettre une dissection précautionneuse des artères pulmonaires distales. Après avoir testé notre hypothèse sur des artères pulmonaires proximales, nous nous sommes intéressées aux 7^{èmes} branches de division, car c'est à ce niveau que le phénomène de VHP serait le plus soutenu. Nous avons ainsi mesuré les variations de tension isométrique d'anneaux vasculaires isolés, la VHP semblant plutôt être un phénomène local.

3. Les Implications cliniques de la VHP : de la physiologie à la pathologie

Dans de nombreux cas, la VHP doit être considérée comme un mécanisme physiologique : l'organisme s'adaptant ainsi de manière bénéfique à une situation. Dans d'autres cas au contraire, la VHP est plutôt délétère pour l'organisme et doit être reconnue puis traitée.

3.1. Circulation fœtale et *in vivo*

In utero, l'oxygénation du fœtus est assurée par le placenta et non par les poumons. La circulation fœtale est organisée pour privilégier la circulation systémique à la circulation pulmonaire en assurant un maximum de débit au niveau du placenta (Figure 23). Ainsi les résistances vasculaires pulmonaires sont élevées et la circulation pulmonaire ne représente que 10 % du débit cardiaque total. Le niveau élevé des résistances vasculaires pulmonaires résultent de plusieurs mécanismes : l'immatunité des vaisseaux pulmonaires aux parois épaissies, la présence d'eau dans les alvéoles et surtout la VHP. Dès l'instant que la circulation pulmonaire se développe chez le fœtus, la VHP est présente et active. La balance vasoconstricteur–vasodilatateur est franchement en faveur des vasoconstricteurs chez le fœtus. Le mécanisme d'action de la VHP chez le fœtus est différent de celui de l'adulte (Gnanayem *et al.*, 2001). Les canaux potassiques jouent comme chez l'adulte un rôle central, mais c'est le sous-type qui diffère : alors que les canaux K_v sont impliqués chez l'adulte, ce seraient des canaux potassiques calciques dépendant BK_{Ca} qui seraient impliqués chez le fœtus (Gnanayem *et al.*, 2001). L'endothéline semble également jouer un rôle dans le maintien des résistances vasculaires pulmonaires chez le fœtus (Ivy *et al.*, 2000).

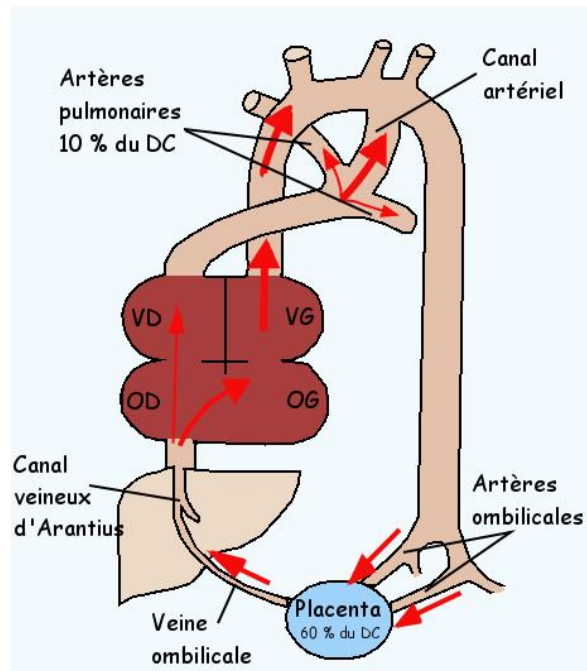


Figure 23 : Circulation fœtale in-utero
Source : UNF3S

A la naissance avec le premier cri, les résistances vasculaires pulmonaires s'effondrent et la circulation pulmonaire se met en place. Au cours des premières semaines de vie, les RVP vont continuer à diminuer progressivement rendant sensible le nouveau-né à toute variation hémodynamique. Hypoxie comme acidose peuvent entraîner une vasoconstriction pulmonaire qui conduirait à un retour à une circulation sanguine de type fœtale à faible débit pulmonaire. Cette absence d'adaptation des résistances vasculaires pulmonaires peut favoriser l'apparition d'une hypertension artérielle pulmonaire (Lumb *et al.*, 2015).

Ainsi, la situation du nouveau-né à la naissance est fragile, et le phénomène de VHP joue un rôle plus ou moins important dans cette instabilité.

3.2. Régulation du rapport ventilation/perfusion et VHP

3.2.1. VHP et poumon sain

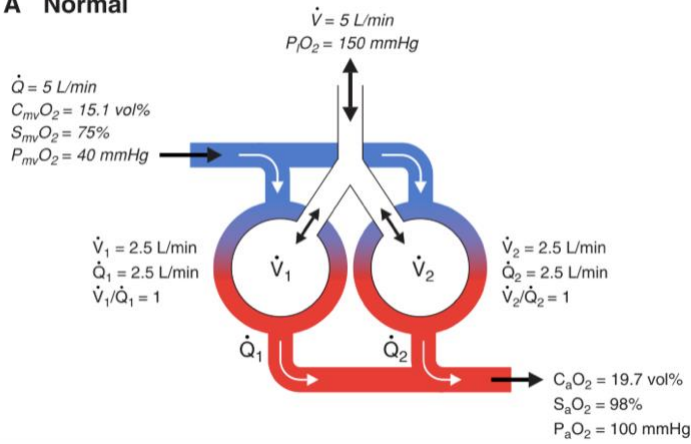
Chez l'adulte, l'adéquation entre le rapport ventilation alvéolaire (V) et perfusion (P) est primordiale pour optimiser les échanges gazeux et en particulier assurer une bonne oxygénation. La ventilation alvéolaire globale et le débit sanguin pulmonaire étant à peu près similaires de l'ordre de 5 l/min, le ratio V/P global est de l'ordre de 1. Ceci n'est cependant pas le cas quand on regarde les débits régionaux. Prenons le cas extrême où toute la ventilation alvéolaire pulmonaire se dirigerait vers un seul poumon et le débit sanguin pulmonaire vers l'autre, le ratio V/Q resterait égal à 1 mais aucun échange gazeux ne pourrait se faire (Figure 24).

La VHP est un mécanisme d'adaptation qui permet de réduire le flux sanguin dans les zones pulmonaires où la P_{O_2} est basse. De ce fait, la VHP semble jouer un rôle dans la régulation du rapport ventilation sur perfusion.

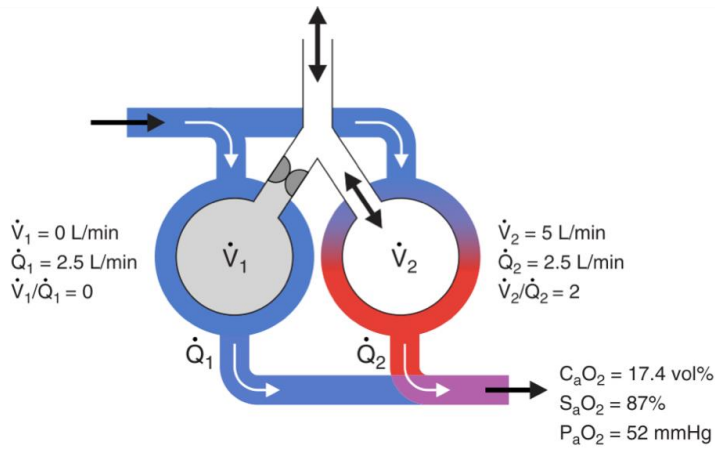
3.2.2. VHP et poumon pathologique

Des études chez l'homme ont permis de montrer que l'obstruction au niveau d'une voie aérienne entraîne rapidement la diminution d'environ 50% du débit sanguin dans cette zone mal ventilée (Morell *et al.*, 1995). Des études similaires sur l'animal mettent en évidence les mêmes faits en cas de zone pulmonaire collabée (Domino *et al.*, 1983). Pouvons-nous dire alors, que les changements dus à la VHP peuvent être bénéfiques pour les patients atteints de maladies respiratoires tels que l'asthme, la BPCO ou les lésions pulmonaires aiguës ? La réponse semble être oui (Sylvester *et al.*, 2012) (Figure 24).

A Normal



B. Rapport ventilation /perfusion sans VHP



C. Rapport ventilation /perfusion avec VHP

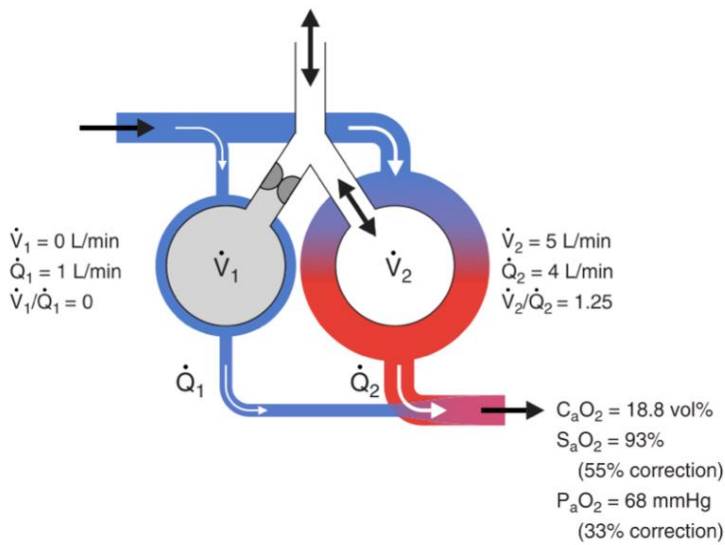


Figure 24 : Rapport ventilation /perfusion chez le patient. Intérêt de la VHP en situation pathologique.

D'après sylvester *et al.*, 2012.

- En cas d'asthme, la VHP permet de maintenir un rapport ventilation/ perfusion optimal au cours du traitement aigue par des bronchodilatateurs. A l'inverse, en cas d'asthme stable ou d'un asthme sous ventilation, respirer 100% d'oxygène aggrave le rapport ventilation sur perfusion et augmente le shunt.
- En cas de BPCO, la VHP est réduite mais permet tout de même d'optimiser le rapport ventilation/ perfusion, de diminuer le shunt et ainsi améliorer l'oxygénation. L'almitrine, en favorisant la VHP, permettait d'augmenter la Pao₂ de 52 à 59 mmHg chez le patient BPCO (Melot *et al.*, 1983). A l'inverse, l'inhibition de la VHP par des inhibiteurs calciques tels que la nifédipine (Kennedy *et al.*, 1984) ou par des inhibiteurs des phosphodiesterases (Sildenafil) (Blanco *et al.*, 2010) aggrave l'état respiratoire des patients BPCO.
- En cas de lésions pulmonaires aiguës, la VHP est réduite mais l'effet restant est suffisant pour équilibrer le rapport ventilation/ perfusion et réduire le shunt.
- En cas d'atélectasie ou de pneumopathies, la VHP permet de rediriger le sang des zones hypoxiques vers les zones bien ventilées, améliorant ainsi le statut respiratoire. Dans ces cas-là, la VHP est un phénomène rapidement réversible en cas de la levée de l'atélectasie ou de la guérison du foyer infectieux pulmonaire.
- En cas d'œdème pulmonaire de haute altitude, la VHP joue un rôle primordial. Les sujets susceptibles de développer un œdème pulmonaire de haute altitude présentent une réponse exagérée du phénomène de VHP ce qui les expose au risque de fuite capillaire et donc d'œdème pulmonaire. Il y a une « surperfusion » des zones non contractées. Certaines substances qui inhibent la VHP comme les inhibiteurs calciques (Bartsch *et al.*, 1991; Hackett *et al.*, 1980) réduisent l'incidence des œdème pulmonaire de haute altitude de 63 à 10 % et sont utilisées à l'heure actuelle pour prévenir et traiter l'œdème pulmonaire de haute altitude.

Ainsi dans certains cas, et en particulier chez les patients porteurs de pathologies respiratoires, la VHP a un rôle protecteur de l'hématose en optimisant le rapport ventilation/perfusion.

Hypothèses de travail

L'urapidil est un antihypertenseur d'action mixte centrale et périphérique. Cet effet antihypertenseur est la conséquence d'une action antagoniste sur les récepteurs alpha-1 adrénergiques post synaptiques périphériques et d'une baisse du tonus sympathique par action centrale qui pourrait impliquer à la fois un blocage des récepteurs alpha-1 et une activité agoniste sérotoninergique sur les récepteurs 5HT_{1A} qui limite la survenue d'une tachycardie réflexe. Cette Tachycardie réflexe, fréquemment retrouvée avec les inhibiteurs calciques, traitement classique de l'hypertension artérielle, peut être à la fois gênante pour le patient et délétère dans certaines situations (Hypertension artérielle du patient coronarien). Malgré cette meilleure tolérance, les indications de l'urapidil restaient limitées. A l'heure actuelle, l'urapidil présente pour de nombreuses équipes un intérêt grandissant dans certaines indications particulières telles que l'hypertension artérielle dans la pré-éclampsie, l'hypertension artérielle périopératoire, et l'hypertension artérielle chez le patient présentant une pathologie respiratoire.

L'objectif premier de ce travail a été de caractériser les effets périphériques vasculaires sérotoninergiques de l'urapidil sur différents lits artériels et dans différentes espèces, vu la diversité des effets médiés par les récepteurs sérotoninergiques, leurs nombreux types, et leurs localisations encore imparfaitement connues. En effet, alors que l'implication des récepteurs alpha-1 adrénergiques dans l'effet périphérique de l'urapidil a été largement étudiée, le rôle des récepteurs sérotoninergiques 5HT_{1A} est bien moins connu.

En 2012, Cotte et collègues, suggèrent à propos d'un cas clinique, d'éviter l'utilisation des inhibiteurs calciques classiques chez des patients présentant une atteinte respiratoire aiguë lorsque la VHP est essentielle pour prévenir une hypoxie aiguë. En effet, les inhibiteurs calciques en inhibant la VHP aggravent un état respiratoire déjà précaire. Ils proposent alors d'utiliser préférentiellement l'urapidil qui permet une meilleure oxygénation des tissus. **Le deuxième objectif** de ce travail a été de déterminer les effets de l'urapidil, de la nicardipine et de la clévidipine (un nouvel inhibiteur des canaux calciques voltage-dépendants d'action

rapide) sur la vasoconstriction hypoxique pulmonaire et de caractériser les mécanismes impliqués dans la vasoconstriction hypoxique et la modulation par les deux classes d'antihypertenseurs.

Cette démarche est rassemblée dans deux articles successifs :

Article 1 : Ce travail a étudié le rôle des récepteurs alpha-1 adrénergiques et des récepteurs sérotoninergique 5HT_{1A} dans l'effet périphérique de l'urapidil dans différents lits vasculaires et différentes espèces : artères pulmonaires et coronaires de porc, aorte de rat et artères pulmonaires humaines.

Article 2 : Ce travail a consisté à mettre en place le modèle de vasoconstriction hypoxique d'artères pulmonaires proximales et distales de porc dans le laboratoire et de comparer les effets de l'urapidil et des inhibiteurs calciques sur le phénomène de VHP.

Article 1

PREMIER ARTICLE

Introduction

L'urapidil, antihypertenseur vasodilatateur, a été commercialisé sous le nom d'Eupressyl® par le laboratoire Byk France en 1988. Depuis cette date, l'urapidil a conquis une place importante dans l'arsenal thérapeutique antihypertenseur, en raison d'une tolérance particulièrement satisfaisante. Ainsi, l'urapidil ne présente pas de tachycardie réflexe contrairement aux inhibiteurs calciques, antihypertenseurs classiquement proposés en première intention. Malgré cela, son indication reste limitée à l'hypertension accompagnée d'une atteinte viscérale menaçant le pronostic vital à très court terme. Cette restriction dans ses indications peut s'expliquer par un mécanisme d'action complexe et non complètement élucidé. Une meilleure compréhension du mécanisme d'action de cet antihypertenseur particulièrement bien toléré, en particulier en périphérie et dans le lit vasculaire pulmonaire, permettrait peut être d'élargir son intérêt à deux types d'hypertension secondaire : l'HTA de la femme enceinte et d'autre part et l'HTA du patient présentant une pathologie respiratoire.

L'urapidil (U), antihypertenseur vasodilatateur agit par deux mécanismes au moins: l'un périphérique par blocage des récepteurs alpha-1 adrénergiques et l'autre central par stimulation des récepteurs 5-HT_{1A} sérotoninergiques et sympathoinhibition (Frozard *et al.*, 1987; Saxena *et al.*, 1990). Par son action alpha-1 bloquante, l'urapidil est responsable d'une vasodilatation artérielle et veineuse dans les circulations systémique et pulmonaire, entraînant une baisse de la pression artérielle par diminution des résistances vasculaires systémiques et artérielles pulmonaires (Valenta *et al.*, 1990). Son action sur les récepteurs alpha-1 adrénergiques est bien connue et serait responsable de la majeure partie de son action (Saxena *et al.*, 1990; Van Zwieten *et al.*, 1990; Gross *et al.*, 1987; Grohs *et al.*, 1992). L'urapidil agit également par un mécanisme central par stimulation de récepteurs 5-HT_{1A} sérotoninergiques localisées au niveau de la région ventromédullaire du cerveau. Cependant, l'implication de récepteurs périphériques 5-HT_{1A} ne doit pas être exclue. En effet, la sérotonine induit une

relaxation endothélium dépendant dans de nombreux modèles de vaisseaux isolés : artères coronaires de porc (Vanhoutte *et al.*, 1998) , artères pulmonaires de porc (Glusa *et al.*, 1996) et artères pulmonaires humaines (Despoix *et al.*, 2009). Les récepteurs sérotoninergiques impliquées dans l'effet vasculaire vasodilatateur de la sérotonine sont de différents types et dépendent de nombreux facteurs dont l'espèce et le lit vasculaire. Ainsi l'effet vasodilatateur endothélium dépendant de la sérotonine serait médié par les récepteurs de type 5-HT_{1D} dans des artères coronaires de porc et de type 5-HT_{2B} pour les artères pulmonaires de porc. De plus, des récepteurs de type 5-HT_{1A} seraient impliqués dans la relaxation dans un modèle de vaisseaux isolés d'aorte de rat.

L'implication éventuelle des récepteurs 5-HT_{1A} sérotoninergiques périphériques dans l'action de l'U sont mal connus. Le but de cette étude expérimentale *in vitro* est de participer à la caractérisation des effets vasculaires sérotoninergiques de l'U sur différents lits artériels et dans différentes espèces, vu la diversité des effets médiés par les récepteurs sérotoninergiques, leurs nombreux types, et leurs localisations encore imparfaitement connue

Méthodes: En accord avec le Comité Régional d'Ethique en Matière d'expérimentation Animale (AL/01/09/09/05), les vaisseaux sanguins étudiés sont de 4 types: artères coronaires circonflexes (n=4) et pulmonaires (n=4) de porc issues de prélèvements cœur-poumons, aortes de rats Wistar males (n=4) et artères pulmonaires humaines (n=4) issues de tissu pulmonaire destiné à l'incinération (autorisation CPP n°5002). Ces vaisseaux sont découpés en anneaux de 2 à 4 mm de diamètre et montés sur des capteurs de tension dans des chambres à organes isolés contenant une solution physiologique de Krebs, afin d'évaluer leur réactivité *in vitro* à différents agents pharmacologiques. Les réponses à l'U, la sérotonine (ligand 5HT_{1A} physiologique) et l'OHDPAT (agoniste 5-HT_{1A} spécifique), ont été évaluées (10^{-5} à 10^{-9} M), en présence de kétanserine (antagoniste 5-HT₂), sur ces différents lits vasculaires. La comparaison des groupes est réalisée par analyse de variance pour mesures répétées (logiciel PC GraphPad Prismv5.0, La Jolla CA, USA).

Résultats :

Nos résultats expérimentaux montrent que l'urapidil n'entraîne pas de relaxation endothélium dépendante des artères coronaires et pulmonaires de porc, contrairement à la sérotonine, agoniste spécifique pris pour contrôle. Ces résultats impliquent soit l'absence de récepteurs périphériques 5HT_{1A} sur les artères coronaires et pulmonaires de porc soit l'absence d'action de l'urapidil sur ces récepteurs dans ces territoires.

Nous avons ensuite voulu étudier les effets de l'urapidil et du 8-OH-DPAT ((8-hydroxy-2-(di-n-propylamino) tetralin, Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA), agoniste avec une haute spécificité des récepteurs sérotoninergiques 5-HT_{1A}) sur l'aorte de rat. Nous n'avons retrouvé aucune réponse relaxante ni du 8-OH-DPAT ni de l'urapidil dans ce modèle d'aorte de rat. La présence de récepteurs 5HT_{1A} au niveau de l'aorte de rat reste donc à confirmer. En revanche, les effets antagonistes alpha 1 adrénergiques de l'urapidil sur l'aorte de rat sont évidents. Cet effet semble même plus important lorsque l'endothélium est absent ou dysfonctionnel, ce qui laisse penser que l'urapidil serait plus actif sur des vaisseaux lésés, en situation pathologique.

En conclusion, l'ensemble des données obtenues montrent que les récepteurs 5HT_{1A} périphériques ne semblent pas impliqués dans les effets vasculaires périphériques de l'Urapidil, qui seraient principalement le résultat du blocage des récepteurs alpha 1 adrénergiques. Les résultats préliminaires obtenus sur les artères pulmonaires humaines confirment ceux obtenus sur l'animal.

Discussion :

L'absence d'effet relaxant direct de l'urapidil sur les différents lits vasculaires étudiés indique l'absence de récepteurs 5-HT_{1A} sur ces vaisseaux. Ainsi, les récepteurs 5-HT_{1A} périphériques ne semblent pas impliqués dans l'action périphérique vasorelaxante de l'urapidil, résultant principalement du blocage des récepteurs alpha-1 adrénergiques.

La différence de décalage vers la droite de la courbe de contraction à la phényléphrine en présence ou en absence d'endothélium, laisse supposer que l'urapidil pourrait être plus efficace sur des vaisseaux pathologiques

Des études complémentaires sur d'autres lits vasculaires sont nécessaires afin de confirmer ces hypothèses.



ELSEVIER

Contents lists available at ScienceDirect

European Journal of Pharmacology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ejphar

Cardiovascular pharmacology

The effect of urapidil, an alpha-1 adrenoceptor antagonist and a 5-HT_{1A} agonist, on the vascular tone of the porcine coronary and pulmonary arteries, the rat aorta and the human pulmonary arteryClaire Bopp^{a,b}, Cyril Auger^a, Pierre Diemunsch^b, Valérie Schini-Kerth^{a,*}^a Laboratoire de Biophotonique et Pharmacologie, UMR CNRS 7213, Faculté de Pharmacie, Université de Strasbourg, Strasbourg, France^b Service d'Anesthésie-Réanimation Chirurgicale, Hôpitaux de Haute-pierre, Strasbourg, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 5 November 2015

Received in revised form

3 March 2016

Accepted 3 March 2016

Keywords:

Urapidil

Antihypertensive drug

Alpha-1 adrenoceptor antagonist

5-HT_{1A} agonist

Vascular reactivity

ABSTRACT

Urapidil (Eupressyl[®]) an antihypertensive drug acting as an α_1 antagonist and a 5-HT_{1A} agonist, may be of special interest in the treatment of hypertension associated with preeclamptic toxemia and hypoxia-induced pulmonary arterial vasoconstriction. However, the effect of urapidil on vascular tone has been poorly investigated. Vascular reactivity was evaluated using pulmonary and coronary arteries from 36 pigs, aortae from 22 rats and 9 human pulmonary artery samples suspended in organ chambers. Concentration-relaxation curves either to urapidil, 5-HT, or the 5-HT_{1A} receptor agonist 8-OH-DPAT were constructed after pre-contraction of rings. Pig pulmonary and coronary artery rings were contracted with U46619, a thromboxane mimetic, rat aortic rings with either endothelin-1 or phenylephrine, and human pulmonary artery rings with U46619 or phenylephrine. Urapidil markedly inhibited phenylephrine-induced contractions in rat aortic rings with and without endothelium with a more pronounced effect observed in rings without endothelium. Both 5-HT and 8-OH-DPAT failed to induce relaxation in rat aortic rings with an intact endothelium. 5-HT, but not urapidil and 8-OH-DPAT, induced a concentration-dependent relaxation in the porcine coronary and pulmonary artery rings with an intact endothelium ($P < 0.05$). 5-HT and phenylephrine but not urapidil caused concentration-dependent contractions in human pulmonary artery rings. The present findings, while confirming that urapidil is a potent inhibitor of α_1 -adrenoceptor-induced contraction, do not support the role of 5-HT_{1A} receptor activation in the control of the vascular tone of the different types of arteries tested in response to urapidil. In addition, they indicate that urapidil seems to preferentially target arteries with endothelial dysfunction.

© 2016 Published by Elsevier B.V.

1. Introduction

Urapidil, is a vasodilator which is currently used as an anti-hypertensive agent; it was initially commercialized in 1988 as Eupressyl[®] by Byk France Pharmaceuticals. Since its initial commercialization, urapidil is widely used in the treatment of hypertension mostly due to better patient tolerance. The treatment with urapidil is not associated with a reflex tachycardia in contrast to other antihypertensive vasodilators such as calcium channel blockers (Shebuski and Zimmermann, 1984). However, its approved indication remains limited to hypertensive patients with visceral complications and with an imminent life threatening situation [Eupressyl[®] SPC]. Such a restricted indication for urapidil is mostly due to the fact that its mechanism of action is complex and

still only partially understood. A better knowledge of the anti-hypertensive action of urapidil is needed since it is likely that such a well-tolerated antihypertensive agent might also be of interest in the treatment of several other types of secondary hypertension such as for example in pregnancy and in patients with respiratory disease (Cotte et al., 2012).

Urapidil has been shown to have a dual action: firstly it works as a selective α_1 -adrenoreceptor antagonist and secondly as an agonist of 5-HT_{1A} receptors in the central nervous system (Frozard et al., 1987; Saxena and Villalon, 1990). The α_1 -adrenergic receptor blocking action of urapidil causes a reduction of vascular tone, thus promoting both arterial and venous vasodilatation in the systemic and the pulmonary circulations leading to a reduced systemic and pulmonary arterial resistance, resulting ultimately in a decreased blood pressure (Valenta et al., 1990). The peripheral α_1 -adrenoreceptor blockade has been suggested as the major effect contributing to the antihypertensive action of urapidil (Saxena and Villalon, 1990; Van Zwieten et al., 1990; Gross et al., 1987; Grohs et al., 1992). In addition, urapidil has also been shown to reduce

* Correspondence to: UMR CNRS 7213, Faculty of Pharmacy, University of Strasbourg, 74, route du Rhin-BP 60024, 67401 Illkirch, France.

E-mail address: valerie.schini-kerth@unistra.fr (V. Schini-Kerth).

blood pressure by activating 5-HT_{1A} receptors in the ventromedullary region of the brain (Saxena and Villalon, 1990; Van Zwieten, 1994). However, the possibility that urapidil might also activate 5HT_{1A} receptors localized in peripheral blood vessels to reduce vascular tone remains to be assessed.

Serotonin has been shown to induce endothelium-dependent relaxation of several types of isolated blood vessels such as the porcine coronary artery (Vanhoutte, 1998), the porcine pulmonary artery (Glusa and Roos, 1996; Roos and Glusa, 1998), and the human pulmonary artery (Despoix et al., 2009). Serotonin-induced endothelium-dependent relaxation has been suggested to involve 5-HT receptors similar to the 5-HT_{1D} receptor subtype in the pig coronary artery (Schoeffter and Hoyer, 1990) and the 5-HT_{2B} receptor subtype in the pig pulmonary artery (Glusa and Pertz, 2000). Moreover, 5-HT_{1A} receptors have been involved in the 5-HT-induced relaxation in the rat aorta (Kozhevnikova and Avdonin, 2010). The aim of the present study is to determine the ability of urapidil to cause relaxation of different types of blood vessels including the pig coronary artery, the pig pulmonary artery, the rat aorta and the human pulmonary artery and, to determine the role of 5-HT_{1A} receptors.

2. Materials and methods

2.1. Vascular reactivity studies

2.1.1. Pig coronary and pulmonary arteries

The lungs and hearts from pigs were obtained from the local abattoir. The proximal branches of pulmonary arteries and the left anterior descending coronary arteries were dissected, cleaned of connective tissue and cut into rings (pulmonary arteries: 3–4 mm in length, coronary arteries: 4–5 mm in length). In some rings, the endothelium was removed by rubbing the intimal surface of rings with a pair of forceps. The rings were suspended in organ baths containing oxygenated (95% O₂ and 5% CO₂) Krebs bicarbonate solution (composition in mM: NaCl 119, KCl 4.7, MgSO₄, 1.17, KH₂PO₄, 1.18, NaHCO₃, 14.9, CaCl₂, 2.5, glucose, 5.5, pH 7.4 at 37 °C). Following equilibration for 90 min under an optimal resting tension of 5 g for pig coronary artery rings and 2 g for pulmonary artery rings, the rings were contracted with KCl (80 mM) to check their reactivity. After a 30-min washout period, rings were contracted with the thromboxane mimetic U46619 (10⁻⁸ M) to about 80% of the maximal contraction before the addition of bradykinin (3.10⁻⁷ M) to check for the presence of a functional endothelium. After washout and a 30-min equilibration period, the rings with endothelium were contracted again with U46619, before construction of a concentration-relaxation curve to either urapidil, serotonin or 8-OH-DPAT ((+/-)-8-Hydroxy-2-(di-*n*-propylamino) tetralin hydrobromide) a selective 5-HT_{1A} receptor antagonist) in the presence of ketanserin (10⁻⁶ M, a 5-HT₂ receptor antagonist) to prevent the 5-HT₂ receptor-mediated contractile response of the vascular smooth muscle. A concentration-contraction curve to urapidil and serotonin was also performed in endothelium-deprived rings to determine their direct action on the vascular smooth muscle.

2.1.2. Rat aorta

The study conforms to the guidance for the Care and Use of laboratory Animals published by the US National Institute of Health (NIH publication No. 85-23, revised 1996). The present protocol was approved by the local Ethics Committee (Comité Régional d'Éthique en Matière d'Expérimentation Animale, approval AL/01/09/09/05). Male Wistar rats (12–18 weeks-old) were euthanized with pentobarbital (50 mg kg⁻¹, i.p.). After dissection, the aorta was placed in Krebs solution and stripped of connective

tissue, then subsequently cut into rings (2–3 mm in length). As indicated, the endothelium was removed by rubbing the intimal surface of rings with a pair of forceps. The rings were suspended in organ baths containing oxygenated (95% O₂ and 5% CO₂) Krebs bicarbonate solution. Following equilibration for 90 min under a resting tension of 2 g, the rings were contracted with KCl (80 mM) to assess their reactivity. After a 30-min washout period, the rings were contracted with the α₁-adrenergic receptor agonist phenylephrine (10⁻⁶ M) to about 80% of the maximal contraction before addition of acetylcholine (10⁻⁶ M) to check for the presence of a functional endothelium. After washout and a 30-min equilibration period, the rings with endothelium were contracted with endothelin-1 (3.10⁻⁹ M), before the induction of a concentration-relaxation curve to either serotonin or 8-OH-DPAT in the presence of ketanserin (10⁻⁶ M). In some experiments, the rings with or without endothelium were exposed to urapidil (10⁻⁵ M) for 25 min before inducing a concentration-contraction curve to phenylephrine.

2.1.3. Human pulmonary artery

The samples of pulmonary tissue were obtained from the thoracic surgery operating theater from the Hôpital Universitaire de Strasbourg (France). The experimental protocol has received approval from the local Ethics Committee for the Protection of Individuals prior to the start of the study (File N°: CPP 11/25, PRI 2011 N° 5002).

Proximal branches of the pulmonary artery were stripped of connective tissue and cut into rings (3–4 mm in length). In some rings, the endothelium was removed by rubbing the intimal surface of rings with a pair of forceps. The rings were suspended in organ baths containing oxygenated (95% O₂ and 5% CO₂) Krebs bicarbonate solution. Following equilibration for 90 min under an optimal resting tension of 2 g, which was determined in preliminary experiments, the rings were contracted with KCl (80 mM). After a 30-min washout period, rings were contracted with serotonin (10⁻⁵ M) to about 80% of the maximal contraction before the addition of acetylcholine (10⁻⁶ M) to check for the presence of a functional endothelium. After washout and a 30-min equilibration period, a concentration-effect curve either to urapidil, serotonin or phenylephrine was performed.

2.2. Drugs

Urapidil (Eupressyl[®]) was obtained from Takeda SA (Paris, France) and all other products were from Sigma-Aldrich (St Louis, MO, USA).

2.3. Data analysis and statistics

The relaxation was expressed as percentage of the contraction. The contractile responses were expressed in g of tension. The data are shown as mean values ± S.E.M.. The analysis was performed using either Student's *t* test or an analysis of variance (ANOVA) followed by the Bonferroni post-hoc test as appropriate using GraphPad Prism (version 5 for Microsoft windows, GraphPad Software, Inc, San Diego, CA, USA). A *P* value less than 0.05 was considered to be statistically significant.

3. Results

3.1. Porcine coronary artery

3.1.1. Serotonin, but not urapidil and 8-OH-DPAT, induced relaxation

The addition of serotonin at the plateau of the U46619-induced submaximal contraction in the coronary artery rings with endothelium, caused concentration-dependent relaxations in the

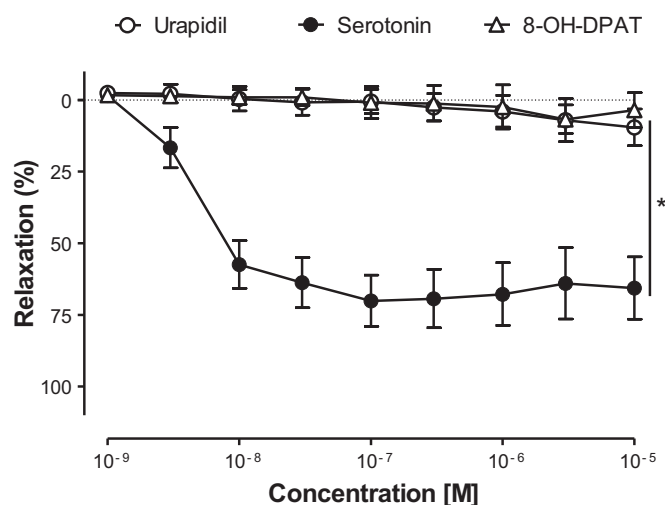


Fig. 1. Serotonin, but not urapidil and the 5-HT_{1A} receptor agonist 8-OH-DPAT causes a concentration-dependent relaxation in the porcine coronary artery rings with an intact endothelium. The rings were contracted submaximally with U46619 before the addition of increasing concentrations of an agonist. The experiments were performed in the presence of the 5-HT₂ receptor antagonist ketanserin (10⁻⁶ M). The data is shown as mean ± S.E.M. of 4 different experiments.**P* < 0.05.

presence of ketanserin (10⁻⁶ M, Fig. 1). The serotonin-induced relaxation achieved a maximal response of about 70.0 ± 8.9% at a concentration of 10⁻⁷ M (Fig. 1). In contrast, neither urapidil nor the 5-HT_{1A} agonist 8-OH-DPAT affected the vascular tone (Fig. 1).

3.1.2. Urapidil did not affect bradykinin-induced relaxation

Next, the possibility that urapidil affects the endothelium-dependent relaxation to bradykinin was assessed. As expected, bradykinin induced concentration-dependent relaxation in the U46619-precontracted coronary artery rings, which reached a plateau of 84 ± 8% at 3 × 10⁻⁷ M (Fig. 2). Urapidil at the contraction of 10⁻⁵ M did not affect the bradykinin-induced endothelium-dependent relaxation (Fig. 2).

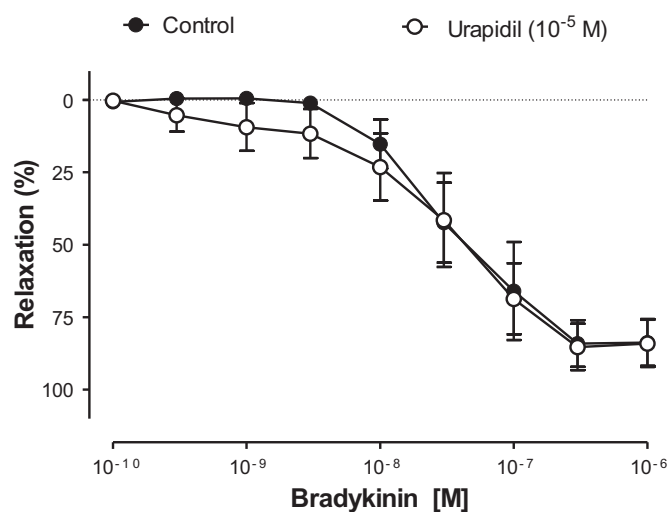


Fig. 2. Urapidil does not affect the endothelium-dependent relaxation to bradykinin in porcine coronary artery rings with endothelium. The rings were incubated with urapidil 30 min before the submaximal contraction to U46619. The data is shown as mean ± S.E.M. of 4 different experiments.

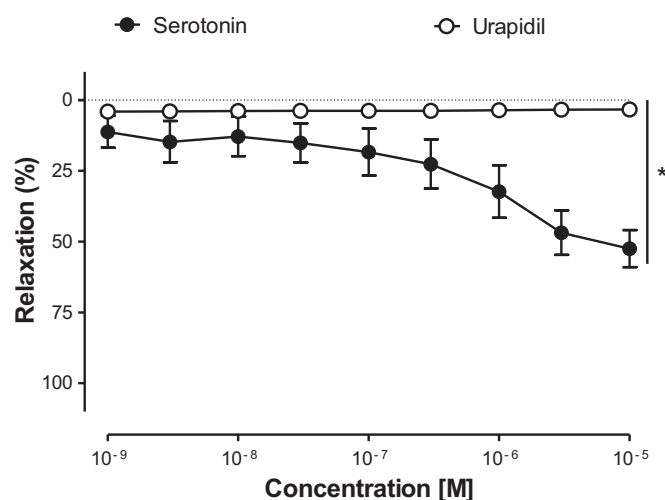


Fig. 3. Serotonin but not urapidil causes concentration-dependent relaxation in porcine pulmonary artery rings with endothelium. The rings were contracted submaximally with U46619 before the addition of increasing concentrations of an agonist. The experiments were performed in the presence of the 5-HT₂ receptor antagonist ketanserin (10⁻⁶ M). The data is shown as mean ± S.E.M. of 4 different experiments.**P* < 0.05.

3.2. Porcine pulmonary artery

3.2.1. Serotonin but not urapidil induced endothelium-dependent relaxation

The addition of serotonin to the U46619-induced submaximal contraction in porcine pulmonary artery rings with endothelium, induced concentration-dependent relaxations in the presence of ketanserin (10⁻⁶ M, Fig. 3). The serotonin-induced relaxation amounted to 52 ± 6.5% at 10⁻⁵ M (Fig. 3). In contrast, urapidil did not affect the U46619-induced contraction up to a concentration of 10⁻⁵ M (Fig. 3).

3.2.2. Serotonin but not urapidil induced contraction

Serotonin induced concentration-dependent contractions in pig pulmonary artery rings, which reached a plateau at

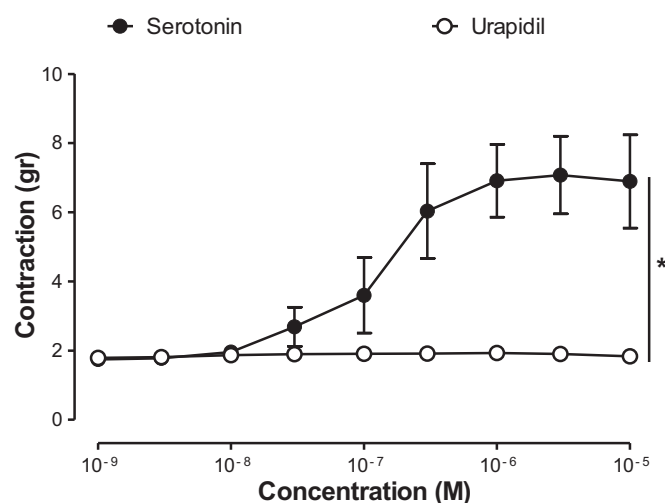


Fig. 4. Serotonin but not urapidil causes concentration-dependent contraction in porcine pulmonary artery rings without endothelium. The data is shown as mean ± S.E.M. of 4 different experiments.**P* < 0.05.

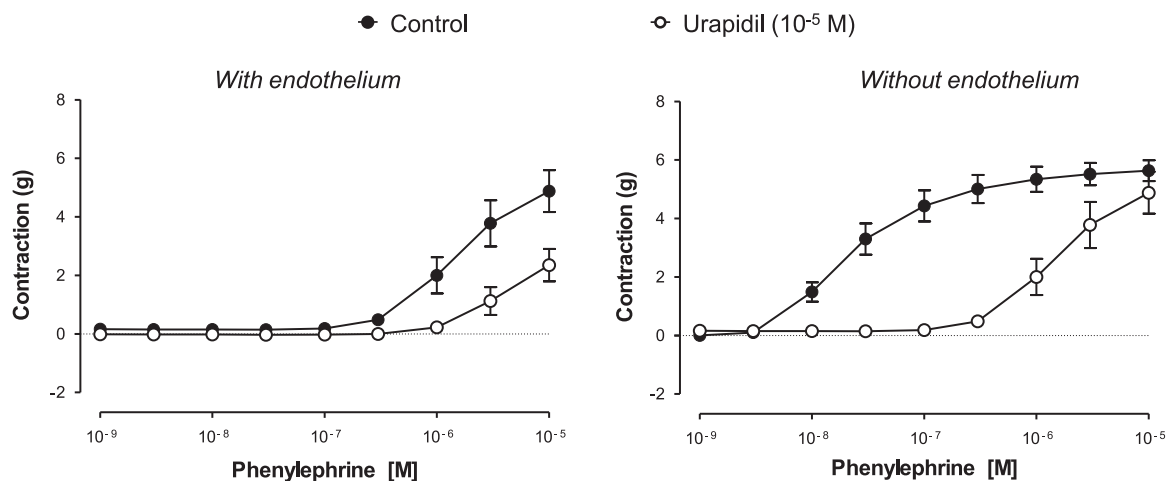


Fig. 5. Urapidil inhibits phenylephrine-induced contraction in rat aortic rings with and without endothelium. The rings were incubated with urapidil (10^{-5} M) for 30 min before the addition of increasing concentrations of phenylephrine. The data is shown as mean \pm S.E.M. of 4 different experiments.

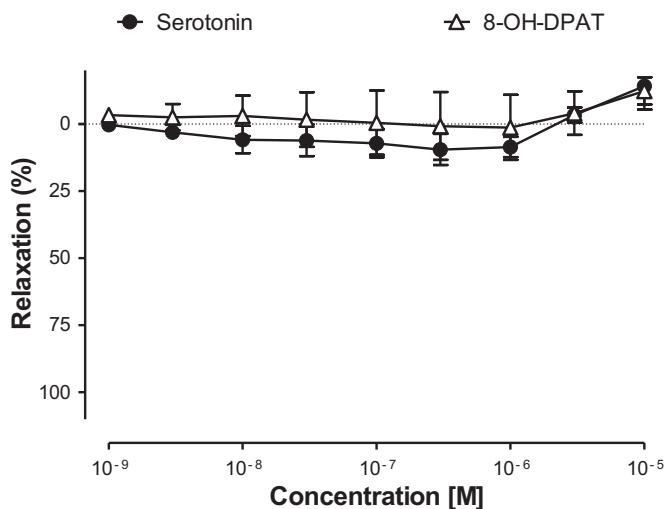


Fig. 6. Both serotonin and 8-OH-DPAT do not induce relaxation of rat aortic rings with endothelium. The rings were contracted submaximally with endothelin-1 (3.10^{-9} M) before the addition of increasing concentrations of an agonist. Experiments were performed in the presence of the 5-HT₂ receptor antagonist ketanserin (10^{-6} M). The data is shown as mean \pm S.E.M. of 3 different experiments.

concentrations greater than 10^{-6} M (Fig. 4). In contrast, urapidil did not affect vascular tone at concentrations up to 10^{-5} M (Fig. 4).

3.3. Rat aorta

Since Kozhevnikova and Avdonin (2010) observed that the selective 5-HT_{1A} agonist 8-OH-DPAT induced relaxations of norepinephrine-precontracted rat aortic rings, experiments were performed to determine the effect of urapidil. Since urapidil (10^{-5} M) markedly inhibited the alpha 1-adrenergic agonist (phenylephrine)-induced concentration-dependent contractions in aortic rings without endothelium and also to some extent in those with endothelium (Fig. 5), the effect of serotonin and 8-OH-DPAT was assessed in endothelin-1-contracted aortic rings. Neither 8-OH-DPAT nor serotonin affected endothelin-1-induced submaximal contraction in rat aortic rings with an intact endothelium (Fig. 6). Moreover, the inhibitory effect of urapidil is more pronounced in rings without endothelium than in those with endothelium (Fig. 5).

3.4. Human pulmonary artery

In order to determine the effect of urapidil and serotonin on the vascular tone of human arteries, proximal branches of 9 pulmonary arteries were dissected from human lung tissues (biological waste tissue from 15 different patients) and suspended in organ chambers. Only two out of these nine different human pulmonary artery rings developed a contractile response to KCl and phenylephrine.

As shown in the original recordings of vascular reactivity studies, phenylephrine and serotonin induced contractile responses (Fig. 7A). Moreover, the addition of acetylcholine (10^{-6} M) at the plateau of the 5-HT-induced contraction, induced up to 30% relaxation in the intact rings (Fig. 7B). Urapidil (10^{-5} M) affected neither the vascular tone nor the concentration-dependent contraction to serotonin (Fig. 7A).

4. Discussion

The present findings indicate that urapidil did not cause endothelium-dependent relaxation of porcine coronary and pulmonary artery rings in the presence of the 5-HT₂ receptor antagonist ketanserin. In contrast, serotonin induced pronounced relaxations of pre-contracted porcine coronary artery rings and also partial relaxations of porcine pulmonary artery rings. Previous studies have indicated that the serotonin-induced endothelium-dependent relaxation in porcine coronary and pulmonary arteries involves predominantly the endothelial formation of nitric oxide and also to some extent endothelium-dependent hyperpolarization (Glusa and Roos, 1996; Park et al., 1999; Cohen and Vanhoutte, 1995; Richard et al., 1990; Thollon et al., 1999). Also, the pharmacological characterization of the serotonin-induced relaxation has suggested the involvement of the 5-HT_{1D} receptor subtype in the pig coronary artery (Schoeffter and Hoyer, 1990), and 5-HT_{2B} receptor subtype in the pig pulmonary artery (Roos and Glusa, 1998; Glusa and Pertz, 2000). In the present study, urapidil was not able to mimic the serotonin-induced endothelium-dependent relaxation in both types of porcine arteries most likely due to its poor ability to interact with the 5-HT_{1D} and 5-HT_{2B} receptors. Indeed, urapidil has been shown to bind with nanomolar affinity to 5-HT_{1A} receptor sites, but not to other 5-HT₁ receptors and 5-HT₂ receptors (Gross et al., 1990). Such a conclusion is also supported by the fact that 5-HT_{1A} receptor agonists, including 8-OH-DPAT, were unable to provoke relaxation in porcine coronary artery rings

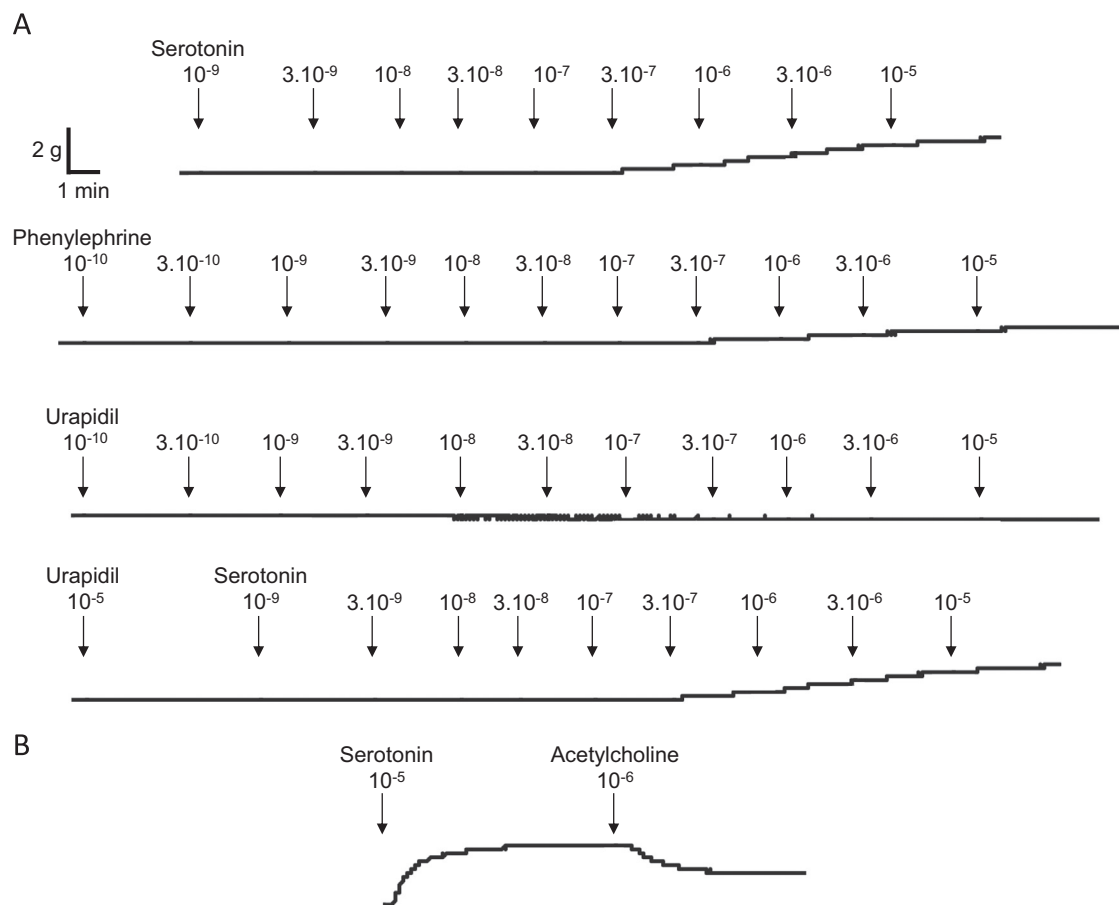


Fig. 7. Original recordings showing that serotonin and phenylephrine but not urapidil cause concentration-dependent contractions in human pulmonary artery rings. The fact that urapidil did not affect contractions to serotonin is also shown. The presence of a functional endothelium was tested by the addition of acetylcholine (10^{-6} M) at the plateau of the contraction to serotonin (10^{-5} M).

(Schoeffter and Hoyer, 1990).

Since Kozhevnikova and Advonin (2010) indicated that the 5-HT_{1A} agonist 8-OH-DPAT caused 70–80% of relaxation of noreadrenalin-precontracted rat aortic rings, the effect of urapidil was evaluated on rat aortic rings. The present findings indicate that urapidil is a potent inhibitor of phenylephrine-induced contractions due to its blockade of α_1 -adrenoceptors. Moreover, the inhibitory effect of urapidil is more pronounced in rings without endothelium than in those with endothelium suggesting that urapidil may target preferentially arteries with an endothelial dysfunction. To avoid an effect of urapidil on the level of pre-contraction, rat aortic rings were contracted submaximally with endothelin-1 before the addition of increasing concentrations of either urapidil or 8-OH-DPAT. Neither urapidil nor 8-OH-DPAT caused relaxation, and at concentrations greater than 3×10^{-6} M a small but significant contraction was observed. The absence of vasorelaxation to 8-OH-DPAT in the present study when compared to the previous one is unclear but may be related to the use of different vasoconstrictors (endothelin-1 vs noradrenalin), differences in the experimental rats (gender and/or age), and/or experimental protocol.

In conclusion, our data indicate that urapidil in contrast to serotonin failed to cause relaxation of porcine coronary and pulmonary artery rings, in the presence of ketanserin. In addition, the selective 5-HT_{1A} agonist 8-OH-DPAT was also unable to induce relaxation in the porcine pulmonary artery and the rat aorta. Thus, the present findings, while confirming that urapidil is a potent inhibitor of α_1 -adrenoceptor-induced contraction targeting preferentially arteries with an endothelial dysfunction, do not support

the role of 5-HT_{1A} receptor activation in the control of the vascular tone in response to urapidil in the three types of blood vessels studied. However, they do not rule out the possibility that urapidil might affect vascular tone of small resistance arteries, which contribute to the regulation of blood pressure.

References

- Cohen, R.A., Vanhoutte, P.M., 1995. Endothelium-dependent hyperpolarization. Beyond nitric oxide and cGMP. *Circulation* 92, 3337–3349.
- Cotte, J., Esnault, P., Bordes, J., Meaudre, E., 2012. Nicardipine induced hypoxia: role of hypoxic pulmonary vasoconstriction. *Rev. Pneumol. Clin.* 68, 221–224.
- Despoix, L., Aires, V., Ducret, T., Marthan, R., Savineau, J.P., Rousseau, E., Guibert, C., 2009. Signalling pathways involved in the contractile to 5-HT in the human pulmonary artery. *Eur. Respir. J.* 34, 1338–1347.
- Frozard, J.R., Mir, A.K., Middlemis, D.N., 1987. Cardiovascular response to 8-Hydroxy-2-(di-n-Propylamino) Tetralin (8-OH-DPAT) in the rat: site of action and pharmacological analysis. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 9, 328–347.
- Glusa, E., Roos, A., 1996. Endothelial 5-HT receptors mediate relaxation of porcine pulmonary arteries in response to ergotamine and dihydroergotamine. *Br. J. Pharmacol.* 119 (2), 330–334.
- Glusa, E., Pertz, H.H., 2000. Further evidence that 5-HT-induced relaxation of pig pulmonary artery is mediated by endothelium 5-HT_{2B} receptors. *Br. J. Pharmacol.* 130, 692–698.
- Grohs, J.G., Huber, S., Fischer, G., Raberger, G., 1992. Influence of α_1 -Adrenoceptor blockade and/or 5-HT_{1A} Agonism on blood pressure and heart rate at rest during exercise in hypertensive dogs. *J. Auton. Pharmacol.* 12 (3), 157–164.
- Gross, G., Hanft, G., Rugevics, C., 1987. 5-methyl-urapidil discriminates between subtypes of the α_1 -Adrenoceptor. *Eur. J. Pharmacol.* 151, 333.
- Gross, G., Shuttler, K., Xin, X., Hanft, G., 1990. Urapidil analogues are potent ligands of the 5-HT_{1A} receptor. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 15, 8–16.
- Kozhevnikova, L.M., Avdonin, P.V., 2010. Agonist 5HT_{1A} receptors of serotonin 8-OH-DPAT increase the power of collapse of aorta and mesenteric artery in rats in the presence of endothelin-1 or vasopressin and cause vessel relaxation

- precollapsing with noradrenaline. *Izv. Akad. Nauk. Ser. Biol.* 1, 44–53.
- Park, S.J., Nakashima, M., Nagao, T., Vanhoutte, P.M., 1999. Hyperpolarization caused by serotonin contributes to endothelium-dependent relaxations in the porcine coronary artery. *Acta Pharmacol. Sin.* 20 (2), 1093–1097.
- Roos, A., Glusa, E., 1998. 5-HT-induced relaxation of porcine pulmonary arteries is mediated through endothelial 5-HT_{2B} receptors. *Naunyn-Schmiede. Arch. Pharm.* 268, 30–37.
- Richard, V., Tanner, F.C., Tschudi, M., Luscher, T.F., 1990. Diferent activation of l-arginine pathway by bradykinin, serotonin and clonidine in coronary artery. *Heart Circ. Physiol.* 259, 1433–1439.
- Shebuski, R.J., Zimmermann, B.G., 1984. Suppression of reflex tachycardia following α -Adrenoreceptor blockade in Conscious dogs: comparison of Urapidil with Prazocin. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 6, 788–794.
- Saxena, P.R., Villalon, C.M., 1990. 5-HT_{1A} receptor Agonism: a novel mechanism for Antihypertensive action. *Trends Pharmacol. Sci.* 11, 95–96.
- Schoeffter, P., Hoyer, D., 1990. 5-Hydroxytryptamine (5-HT)-induced endothelium-dependent relaxation of pig coronary arteries is mediated by 5-HT receptors similar to the 5-HT_{1D} receptor subtype. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 252, 387–395.
- Thollon, C., Bidouard, J.P., Cambarat, C., Lelescluse, I., Villeneuve, N., Vanhoutte, P.M., Vilaine, J.P., 1999. Alteration of endothelium-dependent Hyperpolarization in porcine coronary arteries with regenerated endothelium. *Circ. Res.* 84 (4), 371–377.
- Valenta, B., Kotai, E., Weisz, E., Singer, E.A., 1990. Influence of urapidil and 8-OH-DPAT on brain 5-HT turnover and blood pressure in rats. *J. Cardiol. Pharm.* 15, S68–S74.
- Vanhoutte, P.M., 1998. Endothelium-dependent hyperpolarization in isolated arteries taken from animals treated with NO-synthase inhibitors. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 32, 944–950.
- Van Zwieten, P.A., Blauw, G.J., Van Brummelen, P., 1990. Pharmacological profile of antihypertensive drugs with serotonin receptor and α_1 -Adrenoceptor activity. *Drugs* 40, 1–8.
- Van Zwieten, P.A., 1994. Comparison of the hemodynamic effects of urapidil and flesinoxan in healthy volunteers. *Blood Press.* 3, 19–24.

Article 2

SECOND ARTICLE

Objectifs :

La seconde partie de notre travail aborde l'action de l'urapidil sur le lit vasculaire pulmonaire et en particulier sa capacité à ne pas inhiber la vasoconstriction hypoxique pulmonaire (VHP) reflexe protectrice. La vasoconstriction hypoxique est un mécanisme physiologique d'adaptation à l'hypoxémie. Elle fait intervenir une vasoconstriction de la vascularisation artérielle pulmonaire, notamment des artéioles. Cotte et collègues, suggèrent à propos d'un cas clinique publié en 2012, d'éviter l'utilisation des inhibiteurs calciques classiques lorsque la VHP est essentielle pour prévenir une hypoxie aiguë et d'utiliser préférentiellement l'urapidil si un traitement antihypertenseur est nécessaire chez ces patients. Le cas clinique de Cotte met en évidence le respect de la VHP par l'urapidil. Peu d'études expérimentales se sont intéressées à l'hypothèse mécanistique de ce phénomène. L'objectif de notre travail était de déterminer d'une part les effets de l'urapidil, de la nicardipine (antagoniste calcique couramment utilisé en clinique) et de la clévidipine sur la vasoconstriction hypoxique d'anneaux d'artères pulmonaires proximales et distales de porc et d'autre part, de caractériser les mécanismes impliqués dans la vasoconstriction hypoxique et la modulation par les deux classes d'antihypertenseurs.

Méthodes :

En accord avec le Comité Régional d'Ethique en Matière d'expérimentation Animale (AL/01/09/09/05), les artères pulmonaires proximales et distales de porc sont issues de prélèvements cœur-poumons provenant de l'abattoir local. Ces vaisseaux sont découpés en anneaux de 3 à 4 mm et de 1 à 2 mm de diamètre pour respectivement les artères pulmonaires proximales et distales. Ils sont ensuite montés sur des capteurs de tension dans des chambres à organes isolés contenant une solution physiologique de Krebs, afin d'évaluer leur réactivité *in vitro* à différents agents pharmacologiques. Après une précontraction, la réponse à l'hypoxie des différents anneaux a été évaluée en présence d'urapidil, de nicardipine, de clévidipine et de différents inhibiteurs (ODQ, inhibiteur de la soluble GC; carboxy-PTIO, un piègeur de NO; SOD, une superoxide dismutase; SOD + MnTMPyP, Catalase et PEG-catalase). La

comparaison des groupes est réalisée par analyse de variance pour mesures répétées (logiciel PC GraphPad Prismv5.0, La Jolla CA, USA).

Résultats et discussion

Nos résultats expérimentaux indiquent que l'urapidil préserve la VHP contrairement à la nicardipine et la clévidipine qui l'inhibent. Les mécanismes impliqués dans la VHP sont complexes et incomplètement élucidés. L'ensemble des données de notre étude mettent en évidence l'implication des dérivés réactifs de l'oxygène, de la voie du monoxyde d'azote via la guanylate cyclase (GC) et l'inosine monophosphate (IMPC) et bien entendu le rôle central joué par le calcium. Nos données expérimentales semblent indiquer que sur des anneaux d'artères pulmonaires isolés l'urapidil préserve la VHP contrairement à la nicardipine et à la clévidipine qui l'inhibent. Ces résultats nécessitent d'être confirmés chez l'homme dans une étude contrôlée randomisée afin de corroborer de façon indiscutable les intéressantes observations de Cotte. Les implications thérapeutiques potentielles des résultats d'une telle étude contrôlée randomisée sont réelles.

Urapidil but not calcium channel inhibitors, preserves the hypoxic pulmonary vasoconstriction: An experimental study in pigs

Claire Bopp (MD)^{a,b}, Cyril Auger (PhD)^a, Alexandre Mebazza (MD, PhD)^c, Girish P. Joshi (MD)^d, Valérie B. Schini-Kerth (PhD, PharmD)^a, Pierre Diemunsch (MD, PhD)^b

^a *UMR CNRS 7213, Laboratoire de Biophotonique et Pharmacologie, Faculté de Pharmacie, Université de Strasbourg, Strasbourg, France*

^b *Service d'Anesthésie-Réanimation Chirurgicale, Hôpitaux de Hautepierre, Strasbourg, France*

^c *Service d'Anesthésie-Réanimation Chirurgicale, Hôpital Lariboisière, Paris, France*

^d *Department of Anesthesiology and Pain Management, University of Texas Southwestern Medical School, Dallas, Texas, USA*

*** Corresponding author:**

Valérie B. Schini-Kerth, PhD

UMR CNRS 7213, Faculty of Pharmacy, University of Strasbourg, Illkirch, France

74, route du Rhin - BP 60024

67401 Illkirch - France

Tel: 0(+033) 3-68-85-41-27

Fax: 0(+033) 3-68-85-43-13

E-Mail: valerie.schini-kerth@unistra.fr

Pierre Diemunsch, MD, PhD

Service d'Anesthésie - Réanimation Chirurgicale

Hôpital de Hautepierre - 1 avenue de Molière

67098 Strasbourg cedex – France

Tel : 0(+033) 3-88-12-70-73

Fax : 0(+033) 3-88-12-70-74

E-Mail : Pierre.Diemunsch@chru-strasbourg.fr

Funding disclosure: No external funding

Number of words in abstract:

Number of word in introduction:

Number of words in discussion:

Area: critical care medicine

Abbreviated title: Urapidil and hypoxic pulmonary vasoconstriction

Conflict of interest: The authors have no conflict of interest to report

Keywords: Urapidil; Antihypertensive drug; Hypoxic vasoconstriction; Vascular reactivity

1. Introduction:

Hypoxic pulmonary vasoconstriction (HPV) is a reflex contraction of the vascular smooth muscle in the pulmonary circulation in response to a low local partial pressure of oxygen (pO_2).¹ HPV is a protective mechanism since the reflex vasoconstriction helps to maintain oxygenation of target tissues by redirecting blood flow from poorly ventilated to well-ventilated areas of the lung.²

HPV has been studied in isolated pulmonary arteries on the pig³, and on perfused isolated rat lungs.⁴ The molecular mechanisms underlying HPV are complex and remain only partially understood. Potential mechanisms involved in HPV include membrane depolarization, and Ca^{2+} influx involving voltage-operated Ca^{2+} channels⁵, store-operated Ca^{2+} channels⁶, and sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} release channels.⁷ Moreover, HPV is dependent on the presence of the endothelium, the formation of NO and activation of guanylyl cyclase, and the subsequent formation of inosine 3',5'-cyclic monophosphate (cyclic IMP) but not of cyclic GMP.^{8,9} On the other hand, evidence suggests also that reactive oxygen species (ROS), in particular superoxide anions and hydrogen peroxide, may be key mediators in HPV.²

A case study report has indicated that antihypertensive therapy can have severe consequence for patients with HPV. Indeed, in 2012 Cotte *et al.* observed that the use of nicardipine, a Ca^{2+} channel blocker, in a patient with acute respiratory distress syndrome, was associated with an acute reduction in PaO_2 from 111 to 60 mmHg, and a reduction in PaO_2/FiO_2 ratio from 245 to 134 mmHg, after 30 minutes.¹⁰ The authors attributed this observation to inhibition of HPV by nicardipine. Replacement of nicardipine with urapidil, an α_1 -adrenoreceptor antagonist and activator of central 5-HT_{1A} receptors, resulted in prompt improvement in the hypoxic episode and the PaO_2/FiO_2 ratio increased to 280 mmHg after 6 hours, while treating hypertension. Interestingly, 7 days later a similar hypoxic response was observed in response to nicardipine but not to urapidil used to treat high blood pressure. The authors hypothesized that nicardipine but not urapidil might possibly inhibit HPV. However, the underlying mechanism has not been elucidated.

Therefore, the aim of the present study was to evaluate the effects of calcium antagonists including nicardipine and the new generation calcium antagonist clevidipine and urapidil on HPV in porcine proximal and distal pulmonary artery rings, and to characterize the underlying molecular mechanism.

2. Materials and methods:

2.1 Vascular reactivity studies

2.1.1 Preparation of isolated arteries

The lungs and hearts from pigs were obtained from the local slaughterhouse. The proximal and the distal branches (seventh-generation branches in the left upper lobe) of pulmonary arteries were dissected, cleaned of connective tissue and cut into rings (proximal pulmonary arteries: 3-4 mm in length, distal pulmonary arteries: 1-2 mm in length). In some rings, the endothelium was removed by rubbing the intimal surface of rings with a pair of forceps. The rings were suspended in organ baths containing oxygenated (95% O₂ and 5% CO₂) Krebs bicarbonate solution (composition in mM: NaCl 119, KCl 4.7, MgSO₄, 1.17, KH₂PO₄, 1.18, NaHCO₃, 14.9, CaCl₂, 2.5, glucose, 5.5, pH 7.4 at 37°C).

Following equilibration for 90 min under an optimal resting tension of 2 g for proximal pulmonary artery rings, and 1.5 g for distal pulmonary artery rings, rings were contracted with KCl (80 mM) to check their reactivity. After a 30-min washout period, rings were contracted with α 1-adrenergic agonist, phenylephrine (10⁻⁶ M) for the proximal pulmonary artery and with thromboxane A₂ mimetic, U46619 (10⁻⁸ M) for the distal pulmonary artery to about 80% of the maximal contraction before the addition of bradykinin (3.10⁻⁷ M) to check for the presence of a functional endothelium. After washout and a 30 min equilibration period, rings with endothelium were exposed to individually to urapidil, nicardipine and clevidipine for 25 min each before induction of a concentration-contraction curve to either phenylephrine, U46619 or KCl.

2.2.2. Experimental protocols

To expose pulmonary artery rings to hypoxia, the O₂ concentrations of the gas mixture bubbling through the reservoir was changed from 95% O₂-5% CO₂ to a 95% N₂-5% CO₂. To determine the degree of hypoxia the blood vessel was exposed to, O₂ tension was measured using an electrode (Microelectrode Licox) positioned at the level of the ring in the organ bath. The partial pressure of oxygen (PO₂) of the bath solution decreased rapidly from 250 mmHg (95% O₂) to 20 mmHg (5% O₂) within 5 min. The 5% CO₂ content in the gas mixture maintained the pH of the control solution at 7.4.

Before hypoxia, rings were exposed to urapidil, nicardipine, clevidipine or different inhibitors (ODQ, a soluble GC inhibitor; carboxy-PTIO, a NO scavenger; SOD, a native superoxide dismutase; SOD + MnTMPyP (a membrane permanent SOD analogue), Catalase and PEG-catalase (a membrane permanent catalase)). After 20 min, rings were contracted with U46619 ($3 \cdot 10^{-9}$ M) to about 20% of the maximal contraction before induction of a hypoxia-induced contractile response.

To evaluate the role of the endothelium, the response to hypoxia was determined in proximal pulmonary artery rings without endothelium (n=4).

2.2. Drugs

Urapidil (Eupressyl[®]) was obtained from Takeda SA (Paris, France), clevidipine (Cleviprex[®]) from The Medicines Company (London, UK) and all other products were from Sigma-Aldrich (St Louis, MO, USA).

2.3. Data analysis and statistics

The relaxation was expressed as a percentage of the contractile level. The contractile responses were expressed in g of tension. The data are shown as mean values \pm SEM. The analysis was performed using either Student's *t* test or an analysis of variance (ANOVA) followed by the Bonferroni post-hoc test as appropriate using GraphPad Prism (version 5 for Microsoft windows, GraphPad Software, Inc, san Diego, CA, USA). A *P* value less than 0.05 was considered to be statistically significant.

3. Results

3.1 Effect of urapidil, nicardipine and clevidipine on contractile responses in pulmonary artery rings

As expected urapidil (10^{-5} M) markedly inhibited the α 1-adrenergic agonist phenylephrine induced concentration-dependent contractions in porcine pulmonary artery rings with endothelium but not those to KCl and to the thromboxane A_2 mimetic U46619 (Figure 1). Moreover, the inhibitory effect of Urapidil on phenylephrine induced contractile responses was concentration-dependent (Figure 1A). The contraction to phenylephrine was abolished with urapidil 10^{-5} M (Figure 1A).

Nicardipine markedly inhibited the KCl-induced concentration-dependent contractions in porcine pulmonary artery rings but only slightly the α 1-adrenergic agonist (phenylephrine)- and U46619-induced-concentration-dependent contractions (Figure 2). Moreover, the inhibitory effect of Nicardipine is concentration-dependent (Figure 2B)

The new channel antagonist clevidipine also inhibited the KCl-induced concentration-dependent contractions in porcine pulmonary artery rings with endothelium but only slightly those to phenylephrine and U46619 (Figure 3). Moreover, at a concentration of 10^{-7} M, clevidipine inhibited the contractile response to KCl to almost 90% (Figure 3B).

3.2 Nicardipine and clevidipine but not urapidil inhibit the hypoxic vasoconstriction

In contrast to rings with endothelium, only minor contractile responses were observed in response to hypoxia in pulmonary artery rings without endothelium (Figure 4A). Nicardipine (10^{-5} M) but not urapidil (10^{-5} M) inhibited hypoxic vasoconstriction of porcine proximal pulmonary artery rings with endothelium ($P < 0.001$, $n=5$, Figure 4B). Similarly in distal pulmonary artery rings with endothelium, nicardipine (10^{-5} M) and clevidipine (10^{-5} M) but not urapidil (10^{-5} M) inhibited hypoxic vasoconstriction ($P < 0.001$, $n=5$, Figure 4C).

3.3 Role of the NO-soluble guanylyl cyclase pathway oxidative stress and in hypoxia-induced proximal pulmonary artery contraction

To evaluate the role of the NO and the soluble guanylate cyclase (GC) pathway, the effect of the ODQ (10^{-5} M) a soluble GC inhibitor and carboxy-PTIO, a NO scavenger (10^{-5}

M), on hypoxia-induced contraction was determined on proximal pulmonary artery rings with endothelium. The contractile response to hypoxia was abolished by ODQ and significantly reduced by carboxy-PTIO ($P < 0.001$, $n=4$, Figure 5).

To evaluate the role of ROS, the effect of several modulators of superoxide anions and of hydrogen peroxide on hypoxia-induced contraction was determined on proximal pulmonary artery rings with endothelium. The contractile response to hypoxia was decreased by native SOD and by the combination of SOD + a membrane permanent analogue of SOD, MnTMPyP but these effects did not reach statistical significance ($n=5$, Figure 6). In contrast, native Catalase and the combination of catalase plus a membrane permanent catalase, PEG, abolished the contraction to hypoxia ($P < 0.001$, $n=5$, Figure 6).

4. Discussion

The present findings indicate that nicardipine inhibits HPV since the vasoconstriction response to hypoxia was significantly reduced in its presence. These results are in agreement with other studies on porcine distal pulmonary arteries³ and perfused isolated mouse lungs⁴ evaluating the role of Ca²⁺ in the induction of HPV. Liu *et al.* found that exposure to Ca²⁺-free conditions, nifedipine (L-type Ca²⁺ channel antagonist) or ryanodine (a sarcoplasmic reticulum (SR) Ca²⁺ channel agonist) eliminated the vasoconstrictor responses to 4% O₂.³ Indeed, these studies show the pivotal role of calcium entry via voltage-operated calcium channels in the regulation of the HPV. Our experimental observations indicate that clevidipine^{11,12} also inhibits HPV, consistent with the effects of nicardipine. The fact that clevidipine behaved like nicardipine in the same experimental modal of HPV suggests that the inhibition of this reflex is a class effect shared by the calcium channel inhibitors. As a consequence, in the clinical settings, it may be wise to avoid calcium channel inhibitors if the HPV is considered beneficial.

Our findings show that urapidil preserves HPV. Urapidil was initially commercialized in 1988 as Eupressyl[®] by Byk Deutschland Pharmaceuticals. Urapidil has dual action: first it works as a selective α_1 -adrenoreceptor antagonist and second as an of 5-HT_{1A} receptors agonist in the central nervous system.^{13,14} The α_1 -adrenergic receptor blocking effects of urapidil reduces vascular tone, thus promoting both arterial and venous vasodilatation leading to decreased blood pressure.¹⁵ The peripheral α_1 -adrenoceptor blockade has been suggested as the major effect contributing to the antihypertensive action of urapidil.^{14,16-19} In addition, urapidil has also been shown to reduce blood pressure by activating 5-HT_{1A} receptors in the ventromedullary region of the brain resulting in a lower sympathetic tone.^{14,16} Therefore, treatment with urapidil is not associated with a reflex tachycardia in contrast to other antihypertensive vasodilators such as calcium channel blockers.²⁰ However, the approved indications for IV urapidil are limited to hypertensive patients with visceral complications and with an imminent life-threatening situation. These restrictions are most likely due to the fact that its mechanism of action is complex and still only partially understood, especially its effects on HPV. A better understanding of the antihypertensive action of urapidil is needed since it is likely that such a well-tolerated antihypertensive agent might also be of interest in

the treatment of several other types of secondary hypertension such as pregnancy-induced hypertension and in patients with respiratory diseases. In these circumstances, urapidil may be a better choice, should an antihypertensive treatment be needed.

Over the past decade, two fundamental hypotheses about the mechanism have emerged. According to one, HPV is mediated by a direct contractile effect on the pulmonary vascular smooth muscle (PASMC). Thus, HPV is triggered by mitochondrial redox-signal that involves the coordinated response of voltage- and redox-sensitive potassium and calcium channels in PASMC.^{21,22} During hypoxia, the limited presence of oxygen prevents generation of hydrogen peroxide, decreases the ratio of oxidized/reduced redox couple and reduced sulfhydryl groups on Kv_{1.5} channels, causing them to close. This leads to membrane depolarization, Ca²⁺ influx through voltage-dependent Ca²⁺ channels, Rho-kinase mediated calcium sensitization and vasoconstriction.²³ Significant evidence suggests that ROS, specifically superoxide anion and hydrogen peroxide, may be key mediators in HPV. However, there is considerable controversy concerning the sources and targets of ROS, and whether they are increased, decreased or involved at all.² In the present study, ROS in particular H₂O₂ appears to be important signaling molecules in HPV since catalase and PEG-catalase decrease HPV.

In the present study endothelium and NO pathway play a key role in HPV. Indeed, both carboxy-PTIO and ODQ inhibited the HPV indicating an endothelium dependent vasoconstriction. According to others, hypoxia causes pulmonary vasoconstriction indirectly by activating a vaso-constrictor^{3,24} and most likely by inactivating an endothelium-derived relaxing factor produced in the lung, which in turn, increases the pulmonary vascular smooth muscle tone. Although, early work suggested that a variety of endogenous substances may be involved in pulmonary vasoconstrictor tone. None of these has emerged as a major mediator of HPV.² However, in a recent study, Vanhoute and colleague suggested that HPV requires the presence of endothelium, the formation of NO and the subsequent activation of sGC leading to the generation of a messenger cIMP, instead of cGMP.^{8,9,25,26} In their study, formation of cIMP by sGC was stimulated by NO under hypoxic conditions. These changes were associated with the activation of ROCK and hypoxic vasocontraction.

Although, it is accepted that vasoconstriction is calcium dependent, the source of

calcium remains unclear. Hypoxia-induced vasoconstriction has been suggested to involve calcium entry subsequent to membrane depolarization and Ca^{2+} influx via voltage-operated Ca^{2+} channels, but also via store-operated Ca^{2+} channels, and calcium release from sarcoplasmic reticulum.²⁷ The key role of calcium entry via VOCC is suggested by the inhibitory effects of calcium channel inhibitor on HPV.

In conclusion, this trial showed that in our experimental setting, urapidil preserved the hypoxia triggered vasoconstriction in isolated pulmonary vessels. Conversely, both calcium channel inhibitors nifedipine and clevidipine blunted the vasoconstrictor reaction to hypoxia. These findings may have important clinical consequences that deserve further evaluation.

References

1. Lumb AB, Slinger P: Hypoxic pulmonary vasoconstriction: physiology and anesthetic implications. *Anesthesiology* 2015; 122: 932-46
2. Sylvester JT, Shimoda LA, Aaronson PI, Ward JP: Hypoxic pulmonary vasoconstriction. *Physiol Rev* 2012; 92: 367-520
3. Liu Q, Sham JS, Shimoda LA, Sylvester JT: Hypoxic constriction of porcine distal pulmonary arteries: endothelium and endothelin dependence. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2001; 280: L856-65
4. Yoo HY, Zeifman A, Ko EA, Smith KA, Chen J, Machado RF, Zhao YY, Minshall RD, Yuan JX: Optimization of isolated perfused/ventilated mouse lung to study hypoxic pulmonary vasoconstriction. *Pulm Circ* 2013; 3: 396-405
5. Wang J, Shimoda LA, Weigand L, Wang W, Sun D, Sylvester JT: Acute hypoxia increases intracellular [Ca²⁺] in pulmonary arterial smooth muscle by enhancing capacitative Ca²⁺ entry. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2005; 288: L1059-69
6. Wang J, Shimoda LA, Sylvester JT: Capacitative calcium entry and TRPC channel proteins are expressed in rat distal pulmonary arterial smooth muscle. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2004; 286: L848-58
7. Morio Y, McMurtry IF: Ca(2+) release from ryanodine-sensitive store contributes to mechanism of hypoxic vasoconstriction in rat lungs. *J Appl Physiol (1985)* 2002; 92: 527-34
8. De Mey JG, Vanhoutte PM: Anoxia and endothelium-dependent reactivity of the canine femoral artery. *J Physiol* 1983; 335: 65-74
9. Gao Y, Vanhoutte PM: Tissues cIMPLY do not lie. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2014; 387: 901-3
10. Cotte J, D'Aranda E, Esnault P, Bordes J, Meaudre E: [Nicardipine induced hypoxia: role of hypoxic pulmonary vasoconstriction]. *Rev Pneumol Clin* 2012; 68: 221-4
11. Huraux C, Makita T, Szlam F, Nordlander M, Levy JH: The vasodilator effects of clevidipine on human internal mammary artery. *Anesth Analg* 1997; 85: 1000-4
12. Nordlander M, Sjoquist PO, Ericsson H, Ryden L: Pharmacodynamic, pharmacokinetic and clinical effects of clevidipine, an ultrashort-acting calcium antagonist for rapid blood pressure control. *Cardiovasc Drug Rev* 2004; 22: 227-50
13. Fozard JR, Mir AK, Middlemiss DN: Cardiovascular response to 8-hydroxy-2-(di-n-propylamino) tetralin (8-OH-DPAT) in the rat: site of action and pharmacological analysis. *J Cardiovasc Pharmacol* 1987; 9: 328-47
14. Saxena PR, Villalon CM: Brain 5-HT_{1A} receptor agonism: a novel mechanism for antihypertensive action. *Trends Pharmacol Sci* 1990; 11: 95-6
15. Valenta B, Kotai E, Weisz E, Singer EA: Influence of urapidil and 8-OH-DPAT on brain 5-HT turnover and blood pressure in rats. *J Cardiovasc Pharmacol* 1990; 15 Suppl 7: S68-74
16. van Zwieten PA, Blauw GJ, van Brummelen P: Pharmacological profile of antihypertensive drugs with serotonin receptor and alpha-adrenoceptor activity. *Drugs* 1990; 40 Suppl 4: 1-8; discussion 28-30
17. Gross G, Hanft G, Rugevics C: 5-Methyl-urapidil discriminates between subtypes of the alpha 1-adrenoceptor. *Eur J Pharmacol* 1988; 151: 333-5
18. Grohs JG, Huber S, Fischer G, Raberger G: Influence of alpha 1-adrenoceptor blockade and/or 5-HT_{1A} agonism on blood pressure and heart rate at rest and during exercise in hypertensive dogs. *J Auton Pharmacol* 1992; 12: 157-64

19. Bopp C, Auger C, Diemunsch P, Schini-Kerth V: The effect of urapidil, an alpha-1 adrenoceptor antagonist and a 5-HT_{1A} agonist, on the vascular tone of the porcine coronary and pulmonary arteries, the rat aorta and the human pulmonary artery. *Eur J Pharmacol* 2016; 779: 53-8
20. Shebuski RJ, Zimmerman BG: Suppression of reflex tachycardia following alpha-adrenoceptor blockade in conscious dogs: comparison of urapidil with prazosin. *J Cardiovasc Pharmacol* 1984; 6: 788-94
21. Michelakis ED, Thebaud B, Weir EK, Archer SL: Hypoxic pulmonary vasoconstriction: redox regulation of O₂-sensitive K⁺ channels by a mitochondrial O₂-sensor in resistance artery smooth muscle cells. *J Mol Cell Cardiol* 2004; 37: 1119-36
22. Weir EK, Lopez-Barneo J, Buckler KJ, Archer SL: Acute oxygen-sensing mechanisms. *N Engl J Med* 2005; 353: 2042-55
23. Dunham-Snary KJ, Wu D, Sykes EA, Thakrar A, Parlow LR, Mewburn JD, Parlow JL, Archer SL: Hypoxic Pulmonary Vasoconstriction: From Molecular Mechanisms to Medicine. *Chest* 2017; 151: 181-192
24. Rubanyi GM, Vanhoutte PM: Hypoxia releases a vasoconstrictor substance from the canine vascular endothelium. *J Physiol* 1985; 364: 45-56
25. Chen Z, Zhang X, Ying L, Dou D, Li Y, Bai Y, Liu J, Liu L, Feng H, Yu X, Leung SW, Vanhoutte PM, Gao Y: cIMP synthesized by sGC as a mediator of hypoxic contraction of coronary arteries. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2014; 307: H328-36
26. Pearson PJ, Lin PJ, Schaff HV, Vanhoutte PM: Augmented endothelium-dependent constriction to hypoxia early and late following reperfusion of the canine coronary artery. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1996; 23: 634-41
27. Goldenberg NM, Wang L, Ranke H, Liedtke W, Tabuchi A, Kuebler WM: TRPV4 Is Required for Hypoxic Pulmonary Vasoconstriction. *Anesthesiology* 2015; 122: 1338-48

Figure legends

Figure 1. Urapidil inhibits phenylephrine, but not KCl and thromboxane A mimetic U46619 induced concentration-dependent contractions in porcine proximal pulmonary artery rings with endothelium. Rings were incubated with urapidil (10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} M) for 30 min before the addition of increasing concentrations of either phenylephrine, KCl or U46619. The data are shown as mean \pm SEM of 8 different experiments. * $P < 0.05$.

Figure 2. Nicardipine inhibits KCl but not phenylephrine and U46619 induced concentration-dependent contractions in proximal pulmonary artery rings with endothelium. Rings were incubated with nicardipine (10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} M) for 30 min before the addition of increasing concentrations of phenylephrine, KCl or U46619. The data are shown as mean \pm SEM of 4 different experiments. * $P < 0.05$.

Figure 3. Clevidipine inhibits KCl, but not phenylephrine and U46619 induced concentration-dependent contractions in proximal pulmonary artery rings with endothelium. Rings were incubated with clevidipine (10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} M) for 30 min before the addition of increasing concentrations of either phenylephrine, KCl or U46619. The data are shown as mean \pm SEM of 8 different experiments. * $P < 0.05$.

Figure 4.A. Role of endothelium on hypoxia-induced contractile responses in pulmonary artery rings. Rings with or without endothelium were pre-contracted to about 20% of the maximal response with U46619 ($3 \cdot 10^{-9}$ M) before the induction of hypoxia. The data are shown as mean \pm SEM of 3 different experiments. * $P < 0.05$.

B.C. Nicardipine and clevidipine, but not urapidil inhibit the hypoxic vasoconstriction in proximal pulmonary artery rings with endothelium. Rings were pre-contracted to about 20% of the maximal response with U46619 ($3 \cdot 10^{-9}$ M) before the induction of hypoxia. In some experiments, rings were exposed to a calcium channel inhibitor or urapidil for 30 min before the addition of U46619. The Data are shown as mean \pm SEM of 8 different experiments. * $P < 0.05$.

Figure 5. Role of the NO-soluble guanylyl cyclase pathway in the hypoxic vasoconstriction in proximal pulmonary artery rings with endothelium. Rings were incubated with either ODQ (10^{-6} M, a soluble GC inhibitor) or carboxy-PTIO ($3 \cdot 10^{-4}$ M, a

NO scavenger) for 30 min before precontraction to about 20% of the maximal response with U46619 ($3 \cdot 10^{-9}$ M) and the induction of hypoxia. Data are shown as mean \pm SEM of 8 different experiments. $*P < 0.05$.

Figure 6. Role of oxidative stress on hypoxic vasoconstriction in proximal pulmonary artery rings with endothelium. Rings were incubated with native superoxide dismutase (SOD), a SOD plus membrane permanent analogue of SOD (MnTMPyP), native catalase (Catalase), or catalase plus a membrane permanent catalase (PEG-catalase) for 30 min before precontraction to about 20% of the maximal response with U46619 ($3 \cdot 10^{-9}$ M) and the induction of hypoxia. Data are shown as mean \pm SEM of 8 different experiments. $*P < 0.05$.

Figure 1

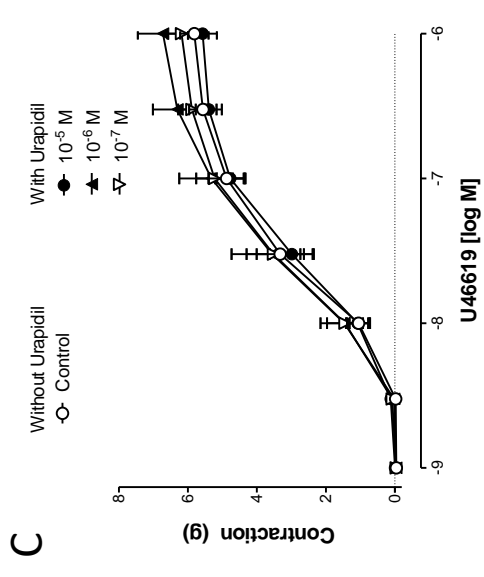
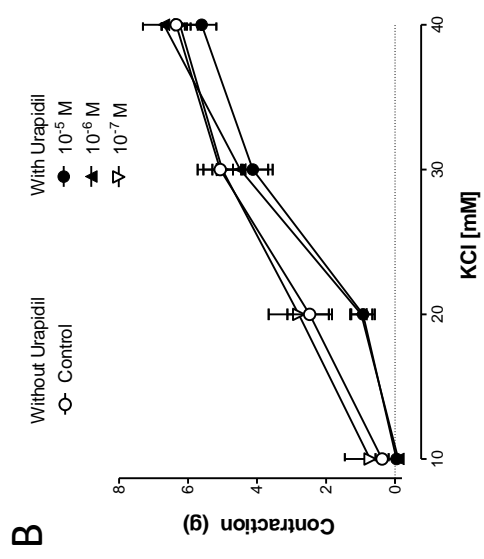
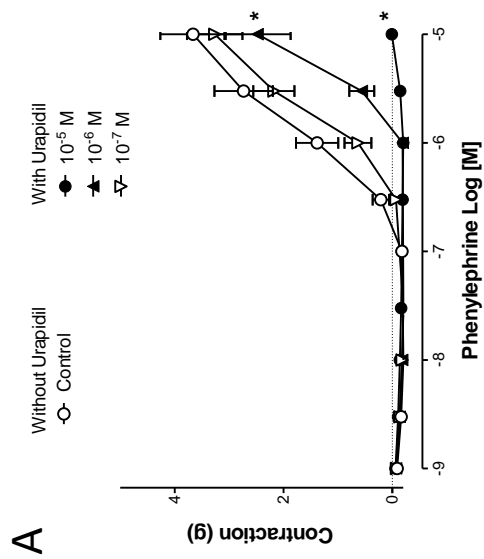


Figure 2

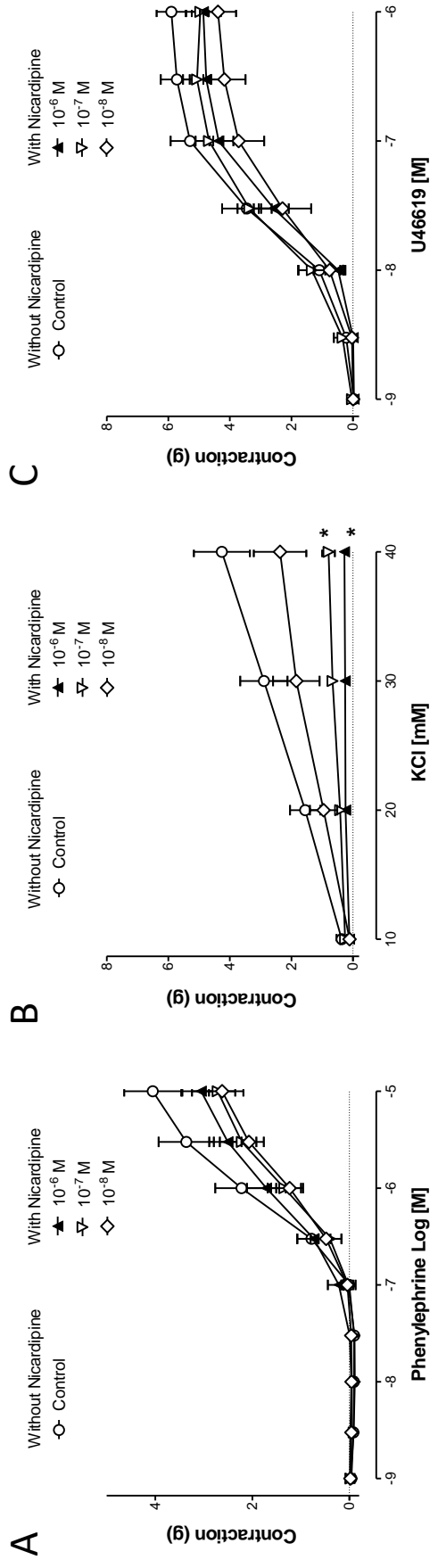


Figure 3

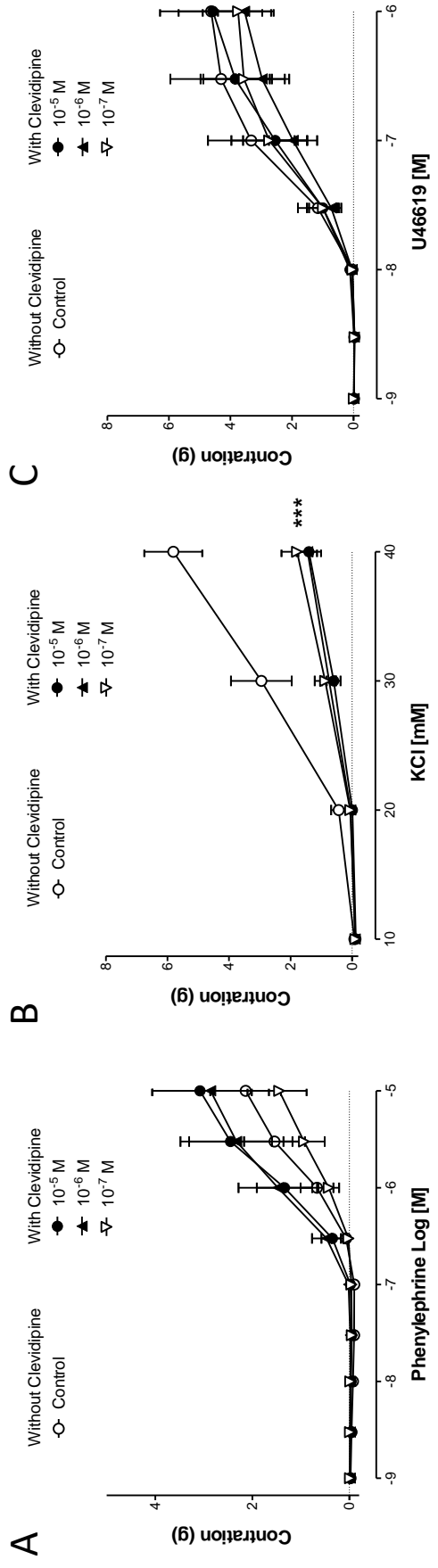


Figure 4

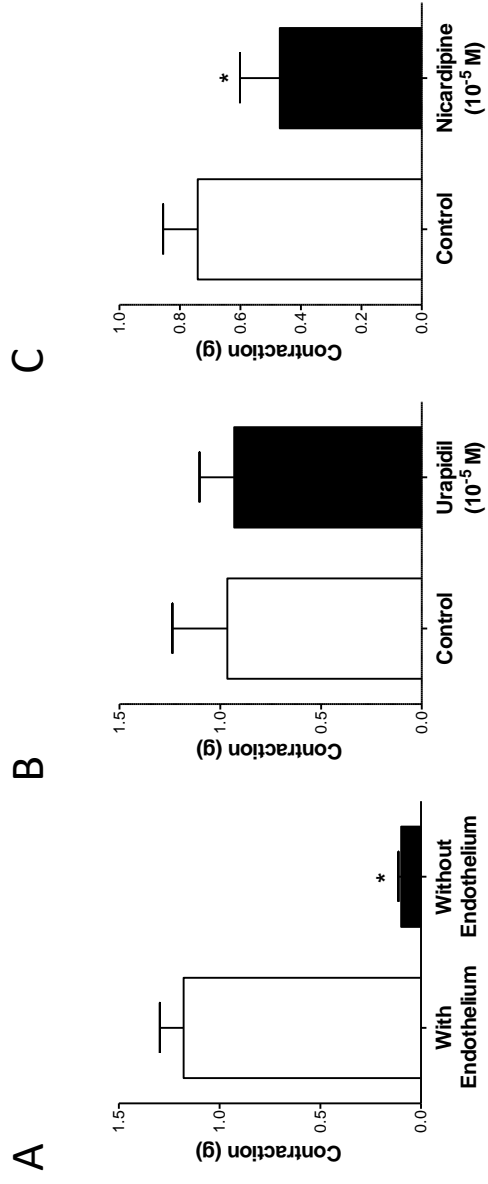


Figure 5

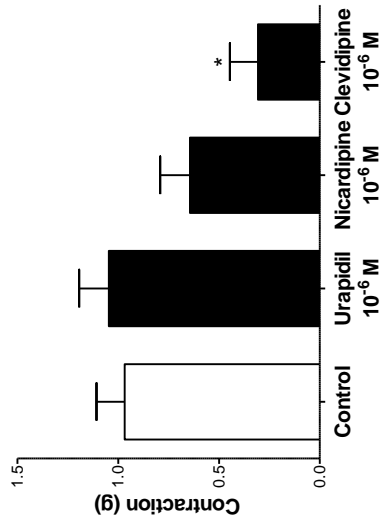


Figure 6

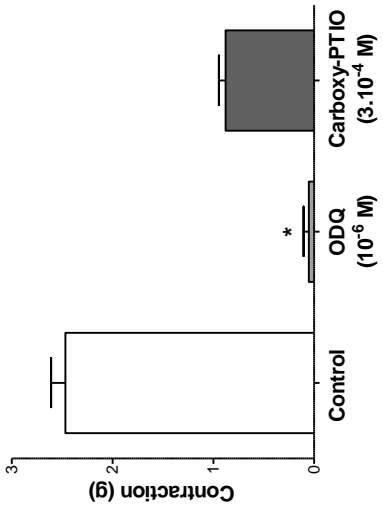
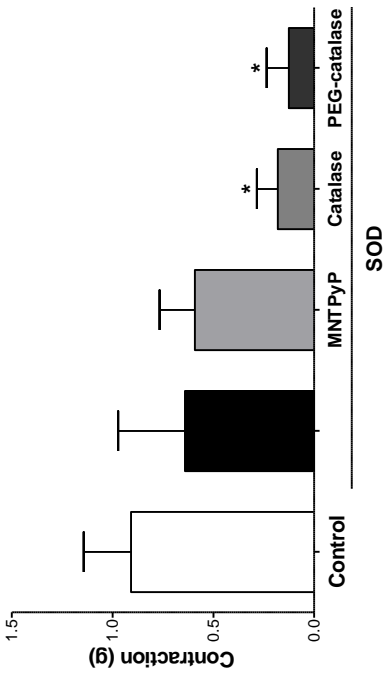


Figure 7



Discussion

DISCUSSION GENERALE

La prise en charge d'une hypertension artérielle est un enjeu majeur dans certaines situations critiques telles que la pré-éclampsie ou chez les patients instables en réanimation atteints de pathologie respiratoire pour lesquels la VHP est bénéfique. L'urapidil, antihypertenseur d'action complexe mixte centrale et périphérique ne présente pas de tachycardie réflexe grâce à son action centrale sur les récepteurs 5HT_{1A}, contrairement aux inhibiteurs calciques classiques. Depuis les années 2000, des études ont précisé les effets de cet antihypertenseur dans différentes situations cliniques. En cardiovasculaire, il a été montré que l'urapidil pouvait être utilisé dans les urgences hypertensives, en préhospitalier comme en périopératoire, et que son effet vasodilatateur associé à l'absence de tachycardie était particulièrement bénéfique chez les patients coronariens. Les périodes pré- et peropératoires de la chirurgie du phéochromocytome semblent également une indication privilégiée de l'urapidil. Ainsi l'urapidil a démontré son intérêt dans de nombreux domaines dont deux particulièrement intéressants : le traitement de l'hypertension artérielle des patientes pré-éclamptiques et des patients présentant une pathologie respiratoire aiguë. De grandes avancées ont été faites ces dernières années, de nombreuses restent à faire.

Article 1 : Urapidil et dysfonction endothéliale

Urapidil et récepteurs 5-HT_{1A} périphériques

Malgré son efficacité et son excellente tolérance, les indications de l'urapidil restent en France, limitées à l'hypertension accompagnée d'une atteinte viscérale menaçant le pronostic vital à très court terme. Cette restriction dans ses indications pouvant s'expliquer par un mécanisme d'action complexe et non complètement élucidé.

Depuis les premiers travaux de Shoentasak sur l'urapidil publiés en 1983, l'affinité de cet agent pharmacologique au mécanisme d'action complexe pour de nombreux récepteurs, a été étudiée (Shoentasak *et al.*, 1983 ; Kellar *et al.*, 1984). Certaines de ses affinités sont bien établies et documentées comme pour les récepteurs alpha-1 adrénergiques périphériques et

les récepteurs 5HT_{1A} centraux (Van Zwieten *et al.*, 1985 ; Kellar *et al.*, 1984). D'autres, le sont bien moins, comme pour les récepteurs alpha-2 adrénergiques ou les récepteurs 5HT_{1A} périphériques. Tous ces récepteurs doivent vraisemblablement jouer un rôle plus ou moins important dans l'effet antihypertenseur de l'urapidil.

L'ensemble de nos données *ex vivo* montrent que les récepteurs sérotoninergiques 5HT_{1A} périphériques ne semblent pas impliqués dans les effets vasculaires antihypertenseurs périphériques de l'urapidil sur des anneaux d'artères pulmonaires et coronaires de porc et des anneaux d'aorte de rat. L'effet vasculaire antihypertenseur périphérique de l'urapidil serait principalement le résultat du blocage des récepteurs alpha-1 adrénergiques. Ainsi, soit l'urapidil n'agit pas sur les récepteurs sérotoninergiques 5HT_{1A} périphériques soit il n'existe pas de récepteurs sérotoninergiques 5HT_{1A} sur les artères coronaires de porc, les artères pulmonaires de porc et l'aorte de rat. Nos résultats ne semblent pas en adéquation avec ceux de l'équipe russe, qui retrouvait une relaxation de l'ordre de 70-80% avec le 8-OH-DPAT (agoniste des récepteurs sérotoninergiques 5HT_{1A}) sur des aortes de rat pré-contractées avec de la noradrénaline (Kozhznikova *et al.*, 2010). Cette différence pourrait s'expliquer en partie par des conditions et des protocoles expérimentaux différents.

Pour étudier le rôle potentiel des récepteurs sérotoninergiques 5HT_{1A} périphériques dans l'effet périphérique de l'urapidil, il serait peut être intéressant de travailler sur des rats décérébré. En effet, pour comprendre l'implication des récepteurs alpha-1 adrénergiques périphériques dans l'effet antihypertenseur de l'urapidil, Van Zwieten et son équipe ont mis au point un modèle des rats décérébrés. Ils ont étudié ainsi, la courbe dose-réponse de la pression diastolique des rats décérébrés en fonction de l'administration de cirazoline, un agoniste spécifique des récepteurs alpha-1 adrénergiques, et après un traitement par des doses variées d'urapidil. Ce modèle serait particulièrement intéressant pour nous, puisque qu'en s'affranchissant de l'effet antihypertenseur central de l'urapidil, nous pourrions étudier exclusivement les effets périphériques de l'urapidil sur l'animal entier.

Chez l'homme, nos résultats préliminaires *ex vivo* sur des artères pulmonaires humaines, confirment ceux sur vaisseaux isolés chez l'animal : l'effet périphérique de l'urapidil serait principalement le résultat du blocage des récepteurs alpha-1 adrénergiques périphériques sans implication des récepteurs sérotoninergiques 5HT_{1A} périphériques. Dans le même sens, chez l'homme, Van Zwieten et al. ont conclu après une étude sur des volontaires sains, que les récepteurs sérotoninergiques 5-HT_{1A} périphériques n'étaient pas impliqués dans l'effet vasodilatateur de l'urapidil au niveau de lit vasculaire de l'avant-bras (Van Zwieten *et al.*,

1994). En effet, ils ont montré que le flesinoxan, un agoniste sélectif des récepteurs 5-HT_{1A}, entraîne une vasodilatation dans l'avant bras des volontaires sains mais uniquement à forte dose. A ces fortes doses, le flesinoxan ne peut plus être considéré comme un agoniste sélectif des récepteurs 5-HT_{1A}, car il possède également un effet alpha-1 bloquant (Van Zwieten *et al.*, 1994). L'ensemble de ces données ainsi que nos résultats suggèrent fortement que l'effet périphérique de l'urapidil serait principalement le résultat du blocage des récepteurs alpha-1 adrénergiques périphériques sans implication des récepteurs sérotoninergiques 5HT_{1A} périphériques.

Urapidil et dysfonction endothéliale

Une constatation surprenante a été faite au décours de l'étude des effets alpha-bloquants de l'urapidil sur des anneaux d'aorte de rat. Nous nous sommes intéressés à l'effet de l'urapidil sur la contraction induite par la phényléphrine sur des anneaux d'aortes de rat avec ou sans endothélium fonctionnel. Comme attendu, l'adjonction d'urapidil décale vers la droite la courbe de contraction à la phényléphrine d'anneaux d'aorte de rat, confirmant ainsi l'effet antagoniste de l'urapidil sur les récepteurs alpha-1 adrénergiques. Par contre et de façon plus surprenante, l'adjonction d'urapidil décale vers la droite la courbe de contractions à la phényléphrine d'environ un log pour des anneaux avec un endothélium fonctionnel et de plus de deux log pour des anneaux sans endothélium fonctionnel. Ce décalage vers la droite est donc plus important sur les vaisseaux sans endothélium que sur ceux avec un endothélium fonctionnel. Cette différence laisse supposer que l'urapidil pourrait être plus efficace sur des vaisseaux pathologiques ou avec un endothélium dysfonctionnel.

Des études récentes chez l'homme montrent que l'urapidil serait particulièrement intéressant dans le traitement de la pré-éclampsie, pathologie hypertensive dans laquelle la dysfonction endothéliale joue justement un rôle majeur. La pré-éclampsie reste une pathologie grave. En France, l'incidence de la pré-éclampsie est estimée entre 1 à 3 pour les nullipares et entre 0,5 et 1,5% pour les multipares (Garcia *et al.*, 2010). La pathologie hypertensive de la grossesse est ainsi la première cause de morbidité et de mortalité materno-fœtale dans le monde et la deuxième cause de mortalité maternelle au cours de la grossesse en France. Ainsi, le traitement de la pré-éclampsie reste un enjeu majeur de santé publique qui nécessite le développement de nouvelles thérapeutiques. Ainsi, le lien entre nos constatations sur l'animal et l'intérêt grandissant de l'urapidil dans la pré-éclampsie, nous apparaît être un champ d'investigation intéressant, tant chez l'animal que chez l'homme.

Malgré des progrès dans la compréhension de ses manifestations, la physiopathologie de la pré-éclampsie reste encore un domaine débattu. L'atteinte vasculaire généralisée, notamment au niveau de l'endothélium mais aussi de la cellule musculaire lisse, semble être responsable des manifestations cardiovasculaires telle que l'hypertension artérielle. Cette maladie ne peut se développer sans la présence d'un placenta, qui constitue pour l'embryon et puis le fœtus le lien avec le milieu maternel. Les réactions inflammatoires et immunitaires qui s'y développent sont harmonieuses et limitées pendant la grossesse normale. Un déséquilibre, d'origine multifactorielle, peut conduire à un développement insuffisant des artères spiralées nécessaires à la croissance fœtale. Il apparaît alors une hypoxie locale et un stress oxydant qui vont générer une inflammation accrue, d'abord locale, puis, généralisée au niveau systémique chez la mère. Des cellules activées, comme les leucocytes et les plaquettes, ainsi que des espèces réactives de l'oxygène vont provoquer une dysfonction endothéliale. L'atteinte vasculaire est aussi la conséquence des effets des protéines placentaires anti-angiogéniques en excès qui inhibent primitivement la croissance placentaire. L'activation cellulaire vasculaire ainsi généralisée constitue un cercle vicieux à la source de microparticules circulantes de phénotypes différents, qui contribuent à potentialiser la réaction systémique et l'inflammation vasculaire (Meziani *et al.*, 2007). Ainsi, la toxémie gravidique est une maladie vasculaire multifactorielle ayant pour origine une placentation inefficace. Elle est caractérisée par une inflammation systémique exagérée, source d'une activation cellulaire donnant lieu à une atteinte vasculaire endothéliale qui est potentialisée par des facteurs anti-angiogéniques et des microparticules ayant une activité anormalement procoagulante et proinflammatoire (Meziani *et al.*, 2007). La dysfonction endothéliale dans la pré-éclampsie est un sujet d'actualité car de nouvelles cibles thérapeutiques semblent se dessiner avec l'espoir d'une amélioration de la prise en charge de la pré-éclampsie.

C'est dans ce contexte de pré-éclampsie et de dysfonction endothéliale, que nos résultats sur l'aorte de rat et plus particulièrement la possibilité que l'urapidil soit plus actif sur des vaisseaux dysfonctionnels nous sont apparus intéressants.

Nous avons donc souhaité étudier chez l'homme cette hypothèse : l'urapidil est-il plus actif sur des vaisseaux dysfonctionnels ? Dans cet objectif, nous nous sommes intéressés dans un premier temps, aux microparticules circulantes comme marqueurs de la dysfonction endothéliale chez la femme pré-éclamptique. En effet, les microparticules sont des microvésicules membranaires libérées par des cellules activées ou apoptotiques, détectables dans le sang en dehors de toutes situations pathologiques, mais dont l'altération du taux et du

phénotype semble très souvent corrélé à la sévérité d'une pathologie. Longtemps considérées comme des débris cellulaires, il est reconnu maintenant que les microparticules constituent des effecteurs cellulaires susceptibles de moduler de nombreuses fonctions biologiques. En effet, c'est dans le cadre de leurs diverses interactions que les microparticules provoquent des modifications phénotypiques et fonctionnelles, physiologiques ou pathologiques, notamment au niveau de la paroi vasculaire et en particulier de l'endothélium pouvant ainsi participer à la dysfonction endothéliale. La dysfonction endothéliale, caractérisée par une altération de la production, de la biodisponibilité et de la signalisation de médiateurs sécrétés et/ou régulés par l'endothélium vasculaire, constitue un phénotype complexe observé très précocement, avant même l'apparition des manifestations cliniques des pathologies cardio-vasculaires. Les microparticules pourraient alors être des marqueurs précoces de l'atteinte endothéliale de nombreuses pathologies dont la pré-éclampsie. *In vivo*, les fonctions des microparticules ne sont pas clairement définies actuellement, mais, *in vitro*, il a été montré que des microparticules issues de femmes pré-éclamptiques ont un tropisme vasculaire, laissant entrevoir leur rôle pro-inflammatoire, qui se traduit essentiellement par une production accrue de NO et d'au moins un facteur vasoconstricteur COX-2-dépendant, la 8-iso-prostaglandine F2alpha. L'élévation des microparticules participerait à la fois aux modifications du système de coagulation et aux mécanismes de la réaction inflammatoire (Mezziani *et al.*, 2006).

Une étude actuellement en cours à l'Hôpital de Hautepierre compare l'efficacité de la nicardipine à l'urapidil dans le traitement de la pré-éclampsie (Etude URANIC – PRI 2014-HUS N°5866). C'est une étude randomisée monocentrique de non infériorité. L'objectif principal de cette étude est de démontrer que l'urapidil n'est pas inférieur à la nicardipine (seuil de non infériorité de 10% sur le taux de succès) dans le traitement de l'hypertension artérielle de la pré-éclampsie, avec comme critère principal la diminution de la pression artérielle moyenne entre 100 et 120 mmHg sur une période de 2 heures, conformément aux recommandations sur la gestion de l'hypertension artérielle dans la pré-éclampsie. Le groupe nicardipine, reçoit dès l'inclusion, une dose continue de nicardipine (1 à 5 mg/h en intra-veineux continu) suivi par des modifications des doses par palier de 0,5 mg/h toutes les 5 minutes avec comme objectif le maintien de la pression artérielle moyenne entre 100 et 120 mmHg ou la pression artérielle systolique entre 140 et 160 mmHg. Le groupe urapidil, reçoit quant à lui, un bolus initial de 12,5 mg en intra-veineuse lente, puis toutes les 5 minutes, un ou plusieurs bolus de 6,25 mg jusqu'à l'obtention d'une pression artérielle diastolique inférieure ou égale à 100 mmHg puis en relai une administration en intra-veineuse continue à

4 mg/h avec pour objectif le maintien de la pression artérielle moyenne entre 100 et 120 mmHg ou la pression artérielle systolique entre 140 et 160 mmHg. Concernant, l'arrêt du traitement, il est laissé à l'appréciation du clinicien. Dans cette étude, un bilan biologique sanguin standard est prélevé avec le consentement éclairé de la patient, au moins une fois par jour, au cours duquel un échantillon de sang est prélevé pour doser les microparticules circulantes. Dans un premier temps nous dosons le nombre total de microparticules et en fonction des résultats préliminaires nous réaliserons un phénotypage de ces microparticules. Nous souhaitons ainsi comparer le taux de microparticules circulantes, reflet de la dysfonction endothéliale, entre le groupe nicardipine et urapidil. Cette étude est actuellement en cours. Une piste intéressante serait de tester également l'effet de ces microparticules circulantes en réactivité vasculaire sur des artères omentales de femme normotendu bénéficiant d'une césarienne. Mezziani et son équipe, ont ainsi étudié les effets des microparticules circulantes de femmes pré-éclamptiques sur des artères omentales de femme normotendu prélevées au cours d'une césarienne. Ils montrent que les microparticules circulantes de femmes pré-éclamptiques induisent une inflammation (surexpression de la NO synthase inductible, de la cyclooxygénase 2 (COX-2) et du facteur nucléaire kappa B, (NF-KB)) et favorisent le stress oxydant (augmentation du niveau des anions superoxydes) indiquant le rôle des microparticules dans la dysfonction endothéliale de la pré-éclampsie (Boisramé-Helms *et al.*, 2015). Dans la même idée, il serait intéressant de pouvoir compléter l'étude URANIC en comparant le niveau de dysfonction endothéliale par l'étude de la réactivité vasculaire d'artères placentaires ou omentales des patientes présentant une pré-éclampsie traitées par nicardipine ou urapidil et ayant bénéficié d'une césarienne.

Ainsi, si l'urapidil agit effectivement de façon plus active sur des vaisseaux avec une dysfonction endothéliale, cela pourrait avoir des implications thérapeutiques majeures : l'urapidil devenant le traitement de choix des hypertensions artérielles associées à une dysfonction endothéliale.

Article 2 : Vasoconstriction hypoxique et urapidil

Cotte suggère, à propos d'un cas clinique publié en 2012, d'éviter l'utilisation des inhibiteurs calciques classiques, comme la nifédipine, lorsque la VHP est essentielle pour prévenir une hypoxie aiguë et d'utiliser préférentiellement l'urapidil si un traitement antihypertenseur est nécessaire chez ces patients. Les inhibiteurs des canaux calciques voltage-dépendants, en particulier ceux du groupe des dihydropyridines, nifédipine et nifédipine, occupent une place importante comme traitement de première intention des accès hypertensifs (Coriat *et al.*, 2004). Leur administration a cependant été l'objet de restrictions de la part des autorités sanitaires françaises. La clévidipine est un nouvel inhibiteur calcique utilisé principalement aux Etats-Unis et qui a un délai d'action court.

Notre démarche a consisté, à partir d'une constatation clinique, à conceptualiser une étude chez l'animal afin de pouvoir travailler sur cette hypothèse. L'urapidil préserve-t-il réellement la VHP tandis que les inhibiteurs calciques l'inhibent et, si oui, pourquoi ?

Nous nous sommes donc intéressés au modèle d'hypoxie sur des vaisseaux isolés d'artères pulmonaires de porc. Nous avons choisi le porc, parce que le phénomène de VHP y est particulièrement important (De Cannière *et al.*, 1992) et que le poumon de porc est assez grand pour permettre une dissection précautionneuse des artères pulmonaires distales. Après avoir testé notre hypothèse sur des artères pulmonaires proximales (2^{ème} à 3^{ème} branche de division), nous avons travaillé sur les 7^{ème} branches de division des artères pulmonaires (diamètre 150-200 μm) de porc. En effet, c'est au niveau des branches de division distales que le phénomène de VHP serait le plus soutenu (Al-Tinawi *et al.*, 1994). Même si le site anatomique précis de la VHP reste imprécis, il apparaît clairement que le phénomène de VHP intéresse principalement les artères de petits calibres (Sylvester *et al.*, 2012).

Nous avons ensuite développé dans le laboratoire un modèle de vasoconstriction hypoxique en réactivité vasculaire sur des artères pulmonaires proximales et distales de porc. Ce modèle vasoconstriction hypoxique sur vaisseau isolé a été largement utilisé par l'équipe de Vanhoutte sur des artères coronaires de porc pour étudier la VHP (Chan *et al.*, 2011). Ainsi, en accord avec le Comité Régional d'Ethique en Matière d'Expérimentation Animale (AL/01/09/09/05), les artères pulmonaires proximales et distales de porc, issues de prélèvements cœur-poumon provenant de l'abattoir local, sont découpées en anneaux de 3 à 4

mm avec 0,5 à 1 mm de diamètre pour respectivement les artères pulmonaires proximales et distales. Ils sont ensuite montés sur crochets reliés à des capteurs de tension dans des chambres à organes isolés contenant une solution physiologique de Krebs. La viabilité des vaisseaux est testée puis une pré-contraction des artères par ajouts successifs d'U46619 (analogue du thromboxane A₂, 10⁻⁸ M), de façon à obtenir une pré-contraction correspondant à environ 20% de la contraction maximale préalablement déterminée. Cette pré-contraction est indispensable pour optimiser la VHP et obtenir une vasoconstriction hypoxique mesurable et reproductible lors de l'exposition au mélange de gaz hypoxémiant (95% N₂ + 5% CO₂). Cette pré-contraction a été déterminée à l'aide des données de la littérature (Sylvester *et al.*, 2012). Les différents anneaux sont mis en contact avec les différents agents pharmacologiques à étudier (urapidil, nicardipine, lévidipine et de différents inhibiteurs (ODQ, inhibiteur de la GC soluble; carboxy-PTIO, un piègeur de NO; SOD, superoxide dismutase; SOD + MnTMPyP, Catalase et PEG-catalase)) puis soumis à un gaz hypoxémiant (95% N₂ + 5% CO₂). La pression partielle en oxygène diminuant rapidement de 250 mmHg (95% O₂) à 20 mmHg (5% O₂).

Nos résultats expérimentaux dans l'artère pulmonaire de porc indiquent que l'urapidil préserve la VHP contrairement à la nicardipine et la lévidipine qui inhibent la VHP de manière significative. Ces résultats sont intéressants puisqu'ils sont en accord avec ceux faits chez l'homme par Cotte. L'effet inhibiteur des inhibiteurs calciques sur la VHP a été étudié chez l'animal et en particulier dans un modèle d'artères pulmonaires distales de porc (Liu *et al.*, 2001) et un modèle de poumon perfusé-ventilé de souris (Yoo *et al.*, 2013). Par contre, aucune étude chez l'animal ne s'est intéressée à l'effet de l'urapidil sur la VHP dans un modèle de vaisseaux isolés et en cela nos résultats sont novateurs.

L'urapidil n'affecte pas la VHP

L'urapidil, de par son action mixte, périphérique par blocage des récepteurs alpha-1 adrénergiques et centrale par stimulation des récepteurs 5-HT_{1A} sérotoninergiques, ne semble pas interagir avec le mécanisme de la VHP. Le respect de la VHP par l'urapidil pourrait s'expliquer par la non interaction entre les mécanismes impliqués dans la VHP et l'urapidil. En effet, même si le mécanisme d'action de la VHP reste complexe et non complètement élucidé, des pistes existent. L'hypothèse la plus répandue présente la cellule musculaire lisse artérielle pulmonaire comme le principal effecteur de la VHP. Ainsi, la cellule musculaire

lisse a la propriété de se contracter en réponse à l'hypoxie mais cette réponse est modulée par des facteurs produits par l'endothélium. Au niveau de la cellule musculaire lisse, la diminution d'oxygène modifie la balance d'oxydo-réduction entraînant la fermeture des canaux potassiques Kv1,5, l'augmentation du potentiel de membrane, l'ouverture des canaux calciques voltage dépendant et enfin l'afflux de calcium extracellulaire vers le cytosol (Dunham *et al.*, 2017). Cette augmentation en calcium libre cytosolique aboutissant à la contraction de la cellule musculaire lisse. Le calcium extracellulaire joue ainsi un rôle essentiel dans la VHP. Il apparaît évident alors que les inhibiteurs calciques, inhibant l'entrée de calcium, empêche le déroulement de la VHP, contrairement à l'urapidil qui n'interfère pas sur les mécanismes calciques.

Rôle central du calcium dans la VHP et inhibiteurs calciques

Le rôle central joué par le calcium dans la VHP a été pour la première fois mis en évidence dans des études pionnières datant des années 1970 (Mc Murty *et al.*, 1976 ; Mc Murty *et al.*, 1982). Depuis, les différentes études s'intéressant aux mécanismes d'action de la VHP, utilisent les inhibiteurs calciques pour étudier le rôle central du calcium dans la VHP. Classiquement la VHP présente deux phases bien décrites par Sylvester (Sylvester *et al.*, 2012) : une phase 1 qui commence quelques secondes après l'exposition à l'hypoxie suivie d'une phase 2 variable en fonction du type de vaisseau (présente pour les branches de division 1-3 et absente pour les branches de division 4-5 et plus), du degré d'hypoxie (présente à 0 % d'oxygène et absente à 10-40% d'oxygène) et de l'espèce (Sylvester *et al.*, 2012).

Ainsi, Connolly et son équipe montre sur des artères intrapulmonaires de rat que la nifédipine inhibe la phase 1 de la contraction hypoxique (Connolly *et al.*, 2013). Dans la même idée, une étude sur des artères pulmonaires distales de porc montre que la nifédipine ainsi que l'exposition à un milieu dépourvu de calcium altèrent le phénomène de VHP (Liu *et al.*, 2001, 2003). Tous ces résultats vont dans le sens d'une implication du calcium dans le mécanisme sous-jacent à la VHP.

Ainsi, les deux phases de la VHP seraient médiées par le calcium, chaque phase faisant intervenir un type de réservoir de calcium intracellulaire différent (Connolly *et al.*, 2013 ; Chan *et al.*, 2011). Pour Connolly, la VHP dépend essentiellement du relargage de calcium par le réticulum sarcoplasmique avec une petite participation de l'influx de calcium induit par les réserves (SOCE). Il suggère que le relargage de calcium médié par le lysosome

(Evans *et al.*, 2010), par le cyclique ADP ribose (cADPR, Dipp *et al.*, 2001) ou par les récepteurs sensibles au calcium (CaSR, Zhang *et al.*, 2012) ne sont pas impliqués dans le flux du calcium induit par l'hypoxie. Il va plus loin en proposant un modèle de relargage du calcium par deux compartiments distincts géographiquement et fonctionnellement du réticulum sarcoplasmique et en fonction de la phase de la VHP. Le réticulum sarcoplasmique possède deux compartiments ayant une fonction différente. En phase 1, le calcium proviendrait principalement de la partie A du réticulum sarcoplasmique, localisée à la surface de la cellule musculaire lisse, et inhibé par l'acide cyclopiazonique (inhibiteur de la pompe à Ca^{2+} du réticulum sarcoplasmique). Cette sortie de calcium activerait l'afflux de calcium des réserves (SOCE) responsable de la phase 2. Le deuxième compartiment (SR_B), localisée plus profondément dans le réticulum sarcoplasmique, entrainerait la sortie des réserves de calcium par l'intermédiaire du récepteurs à la ryanodine, qui compterait pour les 2/3 de l'amplitude de la phase 2 (Jabr *et al.*, 1997 ; Evans *et al.*, 2002 ; Clark *et al.*, 2010 ; Connolly *et al.*, 2013).

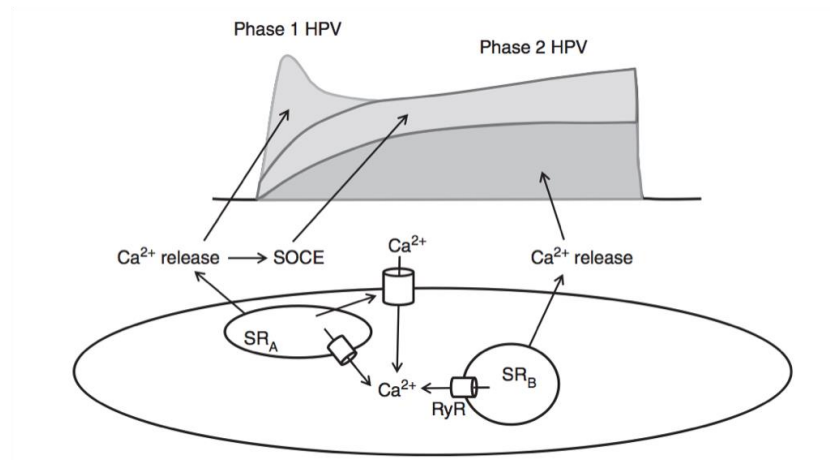


Figure XX: Modèle de libération du calcium par les deux compartiments du réticulum sarcoplasmique (SR_A et SR_B) au cours de la VHP.

D'après Connolly *et al.*, 2013.

La vasocontraction hypoxique de vaisseaux isolés présente souvent deux phases. Après la pré-contraction, la phase 1 commence quelques secondes après le début de l'hypoxie et atteint son pic en 5 minutes. Il existe là aussi une relation entre le degré d'hypoxie et l'amplitude de la

contraction maximale. Relation qui dépend de nombreux facteurs dont l'espèce et le modèle expérimentale. Dans certaines études, la phase 1 est suivie d'une légère vasodilatation (Jones *et al.*, 2000). En contraste avec le phase 1, la phase 2 se développe progressivement pour atteindre un maximum en 30-60 minutes. Selon les études et les espèces, la phase 2 serait plus petite (Dipp *et al.*, 2001), égale ou plus grande (Bennie *et al.*, 1991) que la phase 1. En ce qui concerne notre modèle d'artères pulmonaires proximales de porc, alors que la phase 2 existe dans les 1^{ère} et 3^{ème} branches de division, elle est absente dans les 4^{ème} et 5^{ème} branches de division. Les raisons de cette différence sont inconnues à l'heure actuelle (Kovitz *et al.*, 1993). De même, en cas d'artères pulmonaires proximales de porc, la phase 2 est présente à 0% O₂ mais absente à 4 à 10 % O₂ (Kovitz *et al.*, 1993). C'est pourquoi, pour étudier l'existence ou non de la phase 2 dans notre modèle, nous avons soumis les anneaux d'artères pulmonaires proximales de porc à un milieu hypoxique pendant une heure. Dans notre modèle, l'absence de phase 2 peut s'expliquer par la taille du vaisseau (plutôt les 3^{èm} et 4^{ème} branches de division) et par le degré d'hypoxie (5 % O₂).

Pour les artères distales, la morphologie de la courbe de vasocontraction hypoxique n'est pas forcément biphasique (Bonnet *et al.*, 1991). Là aussi, l'absence de phase 2 dans notre modèle d'artère pulmonaire distale de porc est conforme aux données de la littérature (Bonnet *et al.*, 1991).

VHP, la voie du NO et de l'IMP_c

Après de nombreuses controverses à ce sujet, l'équipe de Vanhoutte démontre que l'hypoxie n'a pas d'effet sur la production de GMP_c dans un modèle d'artère isolée de coronaire de porc (Chen *et al.*, 2014; Chan *et al.*, 2011). Vanhoutte s'interroge alors sur le fait qu'une contraction hypoxique requiert la présence de l'endothélium, du NO, et de la GCs mais curieusement pas du GMP_c (De Mey *et al.*, 1983; Chan *et al.*, 2011). En 2014, il propose une nouvelle hypothèse : l'inosine 3',5'-cyclique monophosphate (IMP_c) serait produite par la GC et cette production serait stimulée par le NO en condition hypoxique. Plusieurs évidences suggèrent le rôle joué par l'IMP_c : le taux d'IMP_c est élevé en présence de NO dans des artères sans endothélium ou en condition hypoxique chez des artères pourvues d'endothélium. Ces effets sont inhibés par l'ODQ, un inhibiteur sélectif de la GCs. La concentration d'IMP_c augmente également dans des artères sans endothélium soumis à l'hypoxie en présence du composé BAY 58-2667, un activateur de la GC. L'IMP_c semble ainsi jouer un rôle majeur cependant des questions restent en suspend. Pourquoi en condition hypoxique, la GC change de substrat et choisit la formation d'IMP_c et non de GMP_c ? La disponibilité plus importante

d'ITP en hypoxie ou l'inhibition de l'ITPase en condition hypoxique peuvent constituer le début d'une hypothèse (Chen *et al.*, 2011). Le rôle de l'IMPc comme médiateur dans la VHP a été étudié : quelle est la cible de l'IMPc ? La PKA et PKG ne semblent pas être les cibles classiques. L'IMPc, sur des artères coronaires de porc, active ROCK, ce qui entraîne une diminution de l'activité de la phosphatase de la chaîne légère de la myosine (MLCP) et donc une augmentation de la vasoconstriction (Gao *et al.*, 2007). Rho-kinase semble être une cible pour l'IMPc. Pour l'équipe de Vanhoutte, la formation d'IMPc par la GCs est stimulée par le NO en condition hypoxique. Ce changement est associé à l'activation de ROCK qui entraîne ultérieurement une vasoconstriction hypoxique. Des études supplémentaires sont nécessaires afin de confirmer cette hypothèse. Dans notre modèle d'artère pulmonaire proximale de porc, l'ODQ inhibe de la VHP, confirmant ainsi le rôle joué par la GCs.

Notre modèle d'étude présente les limites inhérentes aux études sur vaisseaux isolés et en particulier l'absence de modulation neuronale et humorale du signal. Ce travail sur vaisseaux isolés doit bien entendu être complété par des études sur organes isolés puis sur l'animal entier afin de confirmer que l'urapidil préserve la VHP alors que les inhibiteurs calciques l'inhibent.

Du vaisseau à l'animal entier : autres modèles

Des nombreux modèles ont été développés pour étudier la VHP allant de l'étude de la cellule musculaire lisse en culture à l'animal entier en passant par l'étude d'artères pulmonaires isolés et de poumon perfusé-ventilé isolé.

Les conclusions de nos recherches s'appuient sur des données issues de vaisseaux isolés de porc. D'autre part, la VHP est inégale et hétérogène dans les différentes parties du poumon et présente une grande variabilité entre espèces et même interindividuelle. Il apparaît donc important de conforter nos données dans d'autres modèles expérimentaux, d'autres vaisseaux et d'autres espèces et d'étudier le rôle du calcium extracellulaire dans la VHP.

Etude des micro-vaisseaux

Classiquement, on décrit la VHP comme un phénomène pouvant se produire sur tout l'arbre vasculaire pulmonaire mais de manière prédominante au niveau des petites artères pulmonaires dites distales (Al-Tinawi *et al.*, 1994). Les artères pulmonaires distales ont été largement utilisées pour étudier la VHP dans de nombreuses espèces (rat, chat, mouton, lapin,

porc ; Sylvester *et al.*, 2012). Cependant, Wang et ses collègues suggèrent récemment que la dépolarisation induite par l'hypoxie débiterait au niveau de capillaires entourant les alvéoles et se propagerait ensuite aux artères pulmonaires distales provoquant la VHP (Wang *et al.*, 2012). Il serait donc intéressant de travailler sur des artères pulmonaires encore plus distales à la limite avec les capillaires en s'aidant d'un système de microvaisseaux, en condition hypoxique et en présence d'urapidil ou d'inhibiteur calcique.

Modèle de poumon ventilé-perfusé isolé

Les premières études de Mc Curty, s'intéressant au calcium dans la VHP, ont porté sur l'étude de poumon ventilé-perfusé isolé de rat (Mc Curty *et al.*, 1976). Le modèle de poumon perfusé-ventilé isolé a l'avantage d'exclure les interactions avec les autres organes ou tissu, tout en maintenant l'intégrité du poumon et la capacité de transport de substrat extracellulaire via les capillaires. Dans un tel modèle, la VHP se mesure par sa répercussion sur la pression artérielle pulmonaire (PAP). La ventilation par un mélange hypoxique (1% O₂, 5% CO₂, balancé avec du N₂) entraîne une augmentation de la pression artérielle pulmonaire de 1 à 8 mmHg selon les études (Yoo *et al.*, 2013). Yoo et son équipe ont travaillé à optimiser un modèle de poumon perfusé-ventilé isolé de souris dans l'objectif d'obtenir une VHP persistante, répétitive, soutenue (5 mmHg) et sans pré-contraction (Yoo *et al.*, 2013). Pour cela, il propose, comme modèle optimal, d'utiliser une solution de sérum physiologique salée associée à 20% de sérum bovin fœtal (SBF) comme perfusât. Ainsi, il optimise la réponse hypoxique et évite le risque d'œdème aigu du poumon. Dans cette étude, l'adjonction de nifédipine (1 µM) avant l'hypoxie diminue de façon significative la pression artérielle pulmonaire de 22,5 % +/- 0,6% par rapport au contrôle (Yoo *et al.*, 2013). L'utilisation d'une solution sans calcium diminue la pression artérielle pulmonaire pratiquement jusqu'à sa valeur de base (de plus de 90 % ; Yoo *et al.*, 2013). Il serait intéressant dans un tel modèle de comparer l'adjonction de nifédipine ou d'urapidil sur la pression artérielle pulmonaire. Nous travaillons actuellement dans cette direction avec la mise en place d'un modèle de poumon ventilé-perfusé isolé de rat. Comme Yoo et son équipe, nous en sommes à l'optimisation du modèle, une étape préliminaire indispensable à l'exploitation des données. Dans ces modèles, l'hypoxie est appliquée de manière globale, à l'ensemble du poumon. Il serait également intéressant de travailler notre hypothèse dans un modèle d'hypoxie localisée chez le rat en créant une atélectasie par obstruction ou ligature d'un lobe pulmonaire (Tojo *et al.*, 2015).

Modèle d'animal entier

L'avantage des études *in vivo* est d'intégrer la totalité des effets potentiels dans un contexte physiopathologique et de se rapprocher de la situation chez l'homme. Le cas clinique de Cotte rapporte l'exemple d'un patient de réanimation atteint d'une pneumopathie aigue avec altération de la fonction respiratoire ayant présenté deux épisodes d'hypoxémie suite à l'administration d'un inhibiteur calcique, la nicardipine.

Dans ce contexte, l'utilisation d'un modèle d'hypoxie localisée, de pneumopathie chez le rat pourrait être une alternative intéressante pour tester l'effet de l'urapidil et des inhibiteurs calciques sur la VHP. Le modèle de pneumopathie chez le rat a été décrit précisément par Rezaiguia (Rezaiguia *et al.*, 1997). L'agression par l'inoculation trachéale de *pseudomonas aeroginosa*, se traduit par une diminution des échanges gazeux (baisse de la compliance pulmonaire), une diminution de la fonctionnalité du surfactant et une mortalité élevée (80 %) (Rezaiguia *et al.*, 1997). Dans le même idée, Benumof (Benumof *et al.*, 1979) et Domino (Domino *et al.*, 1984) ont quant à eux étudié le mécanisme de VHP sur le chien entier anesthésié. Dans leurs études, ils provoquent des hypoxies localisées en créant des atélectasies ou des exclusions de bronches puis mesurent à l'aide d'une sonde électromagnétique le débit dans le tronc et dans l'artère pulmonaire droite. Ils visualisent ainsi le phénomène de VHP par l'intermédiaire du débit dans l'artère pulmonaire droite. Il retrouvent ainsi chez des chiens anesthésiés une baisse du débit dans les artères pulmonaires du lobe pulmonaire atélectasié attribuant cet effet à la VHP (Benumof *et al.*, 1979). L'idée d'un tel modèle serait de créer chez l'animal une hypoxie localisée (pneumopathie ou atélectasie) puis de mesurer les variations de débit dans les artères pulmonaires en présence d'urapidil ou d'inhibiteurs calciques.

Ainsi, l'urapidil préserve la VHP contrairement à la nicardipine et la clévidipine qui l'inhibent. Cette différence s'explique en partie par le rôle central joué par le calcium extracellulaire dans le déroulement de la VHP. Des études complémentaires chez l'animal mais aussi chez l'homme sont nécessaires afin de confirmer nos résultats. Ils nécessitent également d'être confirmés chez l'homme dans une étude contrôlée randomisée afin de corroborer de façon indiscutable les intéressantes observations de Cotte. Les implications thérapeutiques potentielles des résultats d'une telle étude contrôlée randomisée sont réelles.

Conclusion générale

Conclusion générale

La prise en charge d'une hypertension artérielle est un enjeu majeur dans certaines situations à risque telles que la pré-éclampsie ou chez certains patients instables en réanimation atteints de pathologie respiratoire pour lesquels la VHP est bénéfique. L'urapidil, antihypertenseur d'action mixte centrale et périphérique ne présente pas de tachycardie réflexe grâce à son action centrale sur les récepteurs 5HT_{1A}, contrairement aux inhibiteurs calciques. Son mécanisme d'action reste complexe et partiellement élucidé.

L'ensemble des données obtenues montrent que les récepteurs 5HT_{1A} périphériques ne semblent pas impliqués dans les effets vasculaires périphériques de l'Urapidil, qui seraient principalement le résultat du blocage des récepteurs alpha 1 adrénergiques. Les résultats préliminaires obtenus sur les artères pulmonaires humaines confirment ceux obtenus sur l'animal.

Cotte et collègues, suggèrent à propos d'un cas clinique publié en 2012, d'éviter l'utilisation des inhibiteurs calciques classiques lorsque la VHP est essentielle pour prévenir une hypoxie aiguë et d'utiliser préférentiellement l'urapidil si un traitement antihypertenseur est nécessaire chez ces patients. Nos résultats expérimentaux indiquent que l'urapidil préserve la VHP contrairement à la nicardipine et la clévidipine qui l'inhibent. Les mécanismes impliqués dans la VHP sont complexes et incomplètement élucidés. L'ensemble des données de notre étude mettent en évidence l'implication des dérivés réactifs de l'oxygène, de la voie du monoxyde d'azote via la guanylyl cyclase (GC) et l'inosine monophosphate (IMPC) et bien entendu le rôle central joué par le calcium. Ces résultats nécessitent d'être confirmés chez l'homme dans une étude contrôlée randomisée afin de corroborer de façon indiscutable les intéressantes observations de Cotte. Les implications thérapeutiques potentielles des résultats d'une telle étude contrôlée randomisée sont réelles.

Références

REFERENCES

Albarwani S, Heinert G, Turner JL, Kozlowski RZ. Differential K⁺ channel distribution in smooth muscle cells isolated from the pulmonary arterial tree of the rat. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 208:183-189.

Allijotas –Reig J, Bove-Farre I, de Cabo-Frances F, Angles-Coll R. Effectiveness and safety of prehospital urapidil for hypertensive emergencies. *Am J Emerg Med*. 2001; 19:130-133.

Al-Tinawi A, Krenz GS, Rickaby DA, Linehan JH, and Dawson CA. Influence of hypoxia and serotonin on small pulmonary vessels. *J Appl Physiol* 1994; 76:56–64.

Archer S, Touns JP, Raul L, Weir EK. Hypoxic pulmonary vasoconstriction is enhanced by inhibition of the synthesis of an endothelium derived relaxing factor. *Biochem Biophys Res Commun* 1989; 164:1198-1205.

Archer SL, Huang JMC, Reeve HL, Hampl V, Tolarova S, Michelakis E, Weir EK. Differential distribution of electrophysiologically distinct myocytes in conduit and resistance arteries determines their response to nitric oxide and hypoxia. *Circ Res* 1996; 78:431-442.

Archer SL, London B, Hampl V, et al. Impairment of hypoxic pulmonary vasoconstriction in mice lacking the voltage-gated potassium channel Kv1.5. *FASEB J*. 2001; 15(10): 1801-1803.

Archer SL, Souil E, Dinh-Xuan AT, et al. Molecular identification of the role of voltage-gated K⁺ channels, Kv1.5 and Kv2.1, in hypoxic pulmonary vasoconstriction and control of resting membrane potential in rat pulmonary artery myocytes. *J Clin Invest*. 1998; 101(11):2319-2330.

Bartsch P, Maggiorini M, Ritter M, Noti C, Vock P, Oelz O. Prevention of high-altitude pulmonary edema by nifedipine. *N Engl J Med*. 1991; 325(18):1284-1289.

Becker S, Moir LM, Snetkov VA, Aaronson PI. Hypoxic pulmonary vasoconstriction in intact rat intrapulmonary arteries is not initiated by inhibition of Na⁺-Ca²⁺ exchange. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2007; 293: L982-L990.

Bennie RE, Packer CS, Powell DR, Jin N, Rhoades RA. Biphasic contractile response of

pulmonary artery to hypoxia. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 1991; 261:L156-L163.

Benumof JL. Mechanism of decreased blood flow to atelectatic lung. *J Appl Physiol* 1979; 46:1047-1048.

Bjertnaes LandHaugeA. Constantflow-vs constantpressure-perfusion for studies of pulmonary vasoactive responses. *Acta Physiol Scand.* 1980; 109:193–200.

Blanco I, Gimeno E, Munoz PA, Pizarro S, Gistau C, Rodriguez-roisin R, Barbera JA. Hemodynamic and gas exchange effects of sildenafil in patients with COPD and pulmonary edema. *Am J Respir Crit Care Med* 2010; 181:270-278.

Bonnet P, Argibay JA, White E, Garnier D. Differences in the hypoxic contraction of small isolated pulmonary arteries of cat and rabbit. *J Comp Physiol* 1991; 161:543-547.

Burghuber OC. Nifedipine attenuates acute hypoxic pulmonary vasoconstriction in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Respiration* 1987; 52:86-93.

Cargill RI, Lipworth BJ: Acute effects of hypoxaemia and angiotensin II in the human pulmonary vascular bed. *Pulm Pharmacol* 1994; 7:305-10.

Cazzola M, Noschese P, D'Amato G, Matera MG. The Pharmacologic treatment of uncomplicated arterial hypertension in patients with airway dysfunction. *Chest.* 2002; 121: 230-241.

Chan CK, Mak J, Gao Y, Man RY, Vanhoutte PM (2011) Endothelium derived NO, but not cyclic GMP, is required for hypoxic augmentation in isolated porcine coronary arteries. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2011; 301:H2313-H2321.

Chandel NS, McClintock DS, Feliciano CE, et al. Reactive oxygen species generated at mitochondrial complex III stabilize hypoxia-inducible factor-1 α during hypoxia: a mechanism of oxygen sensing. *J Biol Chem.* 2000; 275(33):25130-25138.

Chen L, Miller FL, Clarke WR, Clergue FX, Marshall C, Marshall BE. Low dose almitrine bismesylate enhances hypoxic pulmonary vasoconstriction in closed-chest dogs. *Anesth Analg* 1990; 71:475-83.

Chen Z, Zhang X, Ying L, Dou D, Li Y, Bai Y, Liu J, Liu L, Feng H, Yu X, Leung SWS, Vanhoutte PM, Gao Y. Cyclic IMP-synthesized by sGC as a mediator of hypoxic contraction of coronary arteries. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2014; 307(3):H328-36.

Clark JH, Kinneer NP, Kalujnaia S, Cramb G, Fleischer S, Jeyakumar LH, Wuytack F &

Evans AM. Identification of functionally segregated SR calcium stores in pulmonary arterial smooth muscle. *J Biol Chem* 2010; 285:13542-13549.

Clarke WR, Haberkern CM, Zeh J, Powers K, Sharar SR, Soltow LO. The HPV response is different with constant pressure vs constant flow perfusion. *Respir Physiol* 1993; 94:75-90.

Clergue F, Auroy Y, Pequignot F, Jouglu E, Lienhart A, Laxenaire MC. French survey of anesthesia in 1996. *Anesthesiology* 1999; 91:1509-1520.

Connolly MJ, Lloret JP, Becker S, Ward PT, Aaronson PI. Hypoxic pulmonary vasoconstriction in the absence of pretone: essential role for intracellular Ca²⁺ release. *J Physiol* 2013; 591:4473-4498.

Coriat P, Barby T. Hypertension artérielle et anesthésie. *Encyclopédie Médico-Chirurgicale*. 2004; 36-652-B-20.

Cotte J, Esnault P, Bordes J, Meaudre E. Nicardipine induced hypoxia: role of hypoxic pulmonary vasoconstriction. *Rev. Pneumol. Clin.* 2012; 68:221-224.

Dabire H, Cherqui C, Fournier B, Schmitt H. Comparaison of effects of some 5-HT_{1A} agonists on blood pressure and heart rate of normotensive anaesthetized rats. *Eur J Pharmacol* 1987; 140:259-266.

De Canniere D, Stefanidis C, Halleman R, Delcroix M, Brimiouille S, and Naeije R. Stimulus-response curves for hypoxic pulmonary vasoconstriction in piglets. *Cardiovasc Res* 1992; 26:944-949.

De Mey JG, Vanhoutte PM. Anoxia and endothelium-dependent reactivity of the canine femoral artery. *J Physiol* 1983; 335:65-74.

Dehnert C, Risse F, Ley S, Kuder TA, Buhmann R, Puderbach M, Menold E, Mereles D, Kauczor HU, Bärtsch P, Fink C. Magnetic resonance imaging of uneven pulmonary perfusion in hypoxia in humans. *Am J Respir Crit Care Med* 2006; 174:1132-8

Demiryurek AT, Wadsworth RM, Kane KA, Peacock AJ. The role of endothelium in hypoxic constriction of human pulmonary artery rings. *Am Rev Respir Dis* 1993; 147:283-290.

Devlin JW, Coplin WM, Murry KR, Rengachary SS, Wislon RF. Nimodipine-induced acute hypoxemia: case report. *Neurosurgery* 2000; 47:1243-7.

Dipp M & Evans AM. Cyclic ADP-ribose is the primary trigger for hypoxic pulmonary vasoconstriction in the rat lung in situ. *Circ Res* 2001; 89:77-83.

Doering EB, Hanson CW III, Reily DJ, Marshall C, Marshall BE: Improvement in oxygenation by phenylephrine and nitric oxide in patients with adult respiratory distress syndrome. *Anesthesiology* 1997; 87:18–25.

Dolley M, Goa K. Urapidil a reappraisal of its use in the management of hypertension. *Drugs* 1998; 56:929-955.

Domino KB, Chen L, Alexander CM, Williams JJ, Marshall C, Marshall BE. Time course and responses of sustained hypoxic pulmonary vasoconstriction in the dog. *Anesthesiology* 1984; 60:562–566.

Domino KB, Wetstein L, Glasser SA, Lindgren L, Marshall C, Harken A, Marshall BE. Influence of mixed venous oxygen tension (PVO₂) on blood flow to atelectatic lung. *Anesthesiology* 1983; 59:428-434.

Dunham-Snary KJ, Wu D, Sykes EA, Thakrar A, Parlow LRG, Mewburn JD, Parlow JL, Archer SL. Hypoxic Pulmonary Vasoconstriction. From Molecular Mechanism to Medicine. *Chest* 2017; 151:181-192.

Duprat F, Guillemare E, Romey G, et al. Susceptibility of cloned K_p channels to reactive oxygen species. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1995; 92(25):11796-11800.

Emery CJ, Teng GQ, Liu X, Barer GR. Vasoreactions to acute hypoxia, whole lungs and isolated vessels compared: modulation by NO. *Respir Physiol Neurobiol* 2003; 134:115–129.

Erdemli O, Hao Q, Cai B, Lipton HL, Hyman A. Influence of nifedipine, verapamil and diltiazem on pulmonary vascular resistance and vasoconstrictors in cats. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 1994; 328:165-79.

Evans AM & Dipp M. Hypoxic pulmonary vasoconstriction: cyclic adenosine diphosphate-ribose, smooth muscle Ca²⁺ stores and the endothelium. *Respir Physiol Neurobiol* 2002; 132, 3-15.

Evans AM. The role of intracellular ion channels in regulating cytoplasmic calcium in pulmonary arterial smooth muscle: which store and where? *Adv Exp Med Biol* 2010; 661, 57–76.

Feletou M, Girard V, Canet E. Different involvement of nitric oxide in endothelium-dependent relaxation of porcine pulmonary artery and vein: influence of hypoxia. *J Cardiovasc Pharmacol* 1995; 25:665-673.

Firth AL, Remillard CV, Platoshyn O, Fantozzi I, Ko EA, Yuan JX. Functional ion channels in human pulmonary artery smooth muscle cells: Voltage-dependent cation channels. *Pulm Circ.* 2011; 1(1):48-71.

Fozard JR, Mir AK, Middlemis DN. Cardiovascular response to 8-hydroxy-2-(di-n-propylamino) tetralin (8-OH-DPAT) in the rat: site of action and pharmacological analysis. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1987; 9:328-347.

Frid MG, Moiseeva EP, Stenmark KR. Multiple phenotypically distinct smooth muscle cell populations exist in the adult and developing bovine pulmonary arterial media in vivo. *Circ Res* 1994; 75: 669-681.

Fritz HG, Hoff H, Hartmann M, Karzai W, Schwartzkopf KR. The effects of urapidil on thermoregulatory thresholds in volunteers. *Anest Analg* 2002; 94(3):626-630.

Gao Y, Portugal AD, Negash S, Zhou W, Longo LD, Raj J. Role of Rho kinases in PKG-mediated relaxation of pulmonary arteries of fetal lambs exposed to chronic high altitude hypoxia. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2007; 292:L678–L684.

Gardener MJ, Johnson IT, Burnham MP, Edwards G, Heagerty AM, Weston AH. Functional evidence of a role for two-pore domain potassium channels in rat mesenteric and pulmonary arteries. *Br J Pharmacol.* 2004; 142(1):192-202.

Ghanayem NS, Gordon JB: Modulation of pulmonary vasomotor tone in the fetus and neonate. *Respir Res* 2001; 2:139–144.

Gherardi R, Louarn F, Benvenuti C, Perrier M, Lejonec JL, Schaeffer A, Degos JD. Peripheral neuropathy in patients treated with almitrine dimesylate. *Lancet* 1985; 1:1247–50

Gillis RA, dretchen KL, Namath I, Anastasi N, Dias-Souza J, Hill K, Brown RK, Quest JA. Hypotensive effect of urapidil: CNS site and relative contribution. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1987; 9:103-109.

Glazier JB, Murray JF. Sites of pulmonary vasomotor reactivity in the dog during alveolar hypoxia and serotonin and histamine infusion. *J Clin Invest* 1971; 50: 2550 –2558.

Glusa E, Pertz HH. Further evidence that 5-HT-induced relaxation of pig pulmonary artery is mediated by endothelium 5-HT_{2B} receptors. *Br. J. Pharmacol.* 2000; 130:692-698.

Grimminger F, Spriestersbach R, Weissmann N, Walmrath D, Seeger W. Nitric oxide generation and hypoxic vasoconstriction in buffer-perfused rabbit lungs. *J Appl Physiol* 1995;

78:1509-1515.

Grohs JG, Huber S, Fischer G, Raberger G. Influence of α 1-adrenoceptor blockade and/or 5-HT1A agonism on blood pressure and heart rate at rest during exercise in hypertensive dogs. *J. Auton. Pharmacol.* 1992; 12(3):157-164.

Gross G, Hanft G, Rugevics C. 5-Methyl-urapidil discriminates between subtypes of the α 1-adrenoceptor. *European J. Pharmacol.* 1987; 151:333-337.

Guzy RD, Hoyos B, Robin E, et al. Mitochondrial complex III is required for hypoxia-induced ROS production and cellular oxygen sensing. *Cell Metab.* 2005; 1(6):401-408.

Hackett PH, Creagh CE, Grover RF, et al. High-altitude pulmonary edema in persons without the right pulmonary artery. *N Engl J Med.* 1980; 302(19):1070-1073.

Haldane JS: *Respiration*. New Haven, Yale University Press, 1922, pp 427

Hampl V, Cornfield DN, Cowan NJ, Archer SL. Hypoxia potentiates nitric oxide synthesis and transiently increases cytosolic calcium levels in pulmonary artery endothelial cells. *Eur Respir J* 1995; 8: 515-522

Hasunuma K, Rodman DM, McMurtry IF. Effects of K_p channel blockers on vascular tone in the perfused rat lung. *Am Rev Respir Dis.* 1991; 144(4):884-887.

Hirschl MM. Guidelines for the drug treatment of hypertensive crises. *Drugs* 1995; 50:991-1000.

Hlastala MP, Lamm WJ, Karp A, Polissar NL, Starr IR, Glenny RW: Spatial distribution of hypoxic pulmonary vasoconstriction in the supine pig. *J Appl Physiol* 2004; 96:1589–99

Hoshino Y, Obara H, Kusunoki M, Fujii Y, Iwai S. Hypoxic contractile response in isolated human pulmonary artery: role of calcium ion. *J Appl Physiol* 1988; 65: 2468 –2474.

Isaacson TC, Hampl V, Weir EK, Nelson DP, Archer SL. Increased endothelium-derived NO in hypertensive pulmonary circulation of chronically hypoxic rats. *J Appl Physiol* 1994; 76: 933-940.

Ittner KP, Zimmermann M, Bucher M, Gessele W, Kees F, Krämer BK. The effects of urapidil and ramipril on hyperglycemia in streptozotocin diabaetic rats. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 2000; 361:92-97.

Ivvy DD, Le Cras DD, Parker TA, Zenge JP, Jakkula M, Markham NE, Kinsella JP, Abman SH. Developmental changes in endothelin expression and activity in the ovine fetal lung.

Physiol Lung Cell Mol Physiol 2000; 278:L785–793

Jabr RI, Toland H, Gelband CH, Wang XX & Hume JR. Prominent role of intracellular Ca^{2+} release in hypoxic vasoconstriction of canine pulmonary artery. *Br J Pharmacol* 1997; 122, 21–30.

Jones RD, Morice AH. The effect of the nitric oxide synthase inhibitor N-gamma- nitro-L-arginine methyl ester on hypoxic pulmonary vasoconstriction. *Eur J Pharmacol* 2000; 402: 111–117.

Kamenetsky M, Middelhaufe S, Bank EM, Levin LR, Steegborn C. Molecular Details of cAMP Generation in Mammalian Cells: A Tale of Two Systems. *Journal of Molecular Biology*, 2006; 362:623-639.

Kapanci Y, Assimacopoulos A, Irle C, Zwahlen A, Gabbiani G. « Contractile interstitial cells » in pulmonary alveolar septa: A possible regulator of ventilation-perfusion ratio? Ultrastructural, immunofluorescence, and in vitro studies. *J Cell Biol* 1974; 60:375–92

Kato M, Staub NC. Response of small pulmonary arteries to unilobar hypoxia and hypercapnia. *Circ Res* 1966; 19:426- 440.

Kellar KJ, Quest JA, Spera AC, Buller A, Confort A, Dias Souza J, Gillis RA. Comparative effects of urapidil, prazosin and clonidine on ligand binding to central nervous system receptors, arterial pressure, and heart rate in experimental animals. *Am J Med* 1984; 44:465-472.

Kennedy TP, Michael JR, Huang CK, kallman GH, Zahka K, Schlott W, Summer W. Nifedipine inhibits hypoxic pulmonary vasoconstriction during rest and exercise in patients with chronic obstructive pulmonary disease. A controlled double-bind study. *Am Rev respir Dis* 1984; 129:544-551.

Kolassa NP, Beller KD, Sanders KH. Evidence for the interaction of urapidil with the 5-HT_{1A} receptors in the brain leading to a decrease in blood pressure. *Am J Cardiol*. 1989; 63:36C.

Kolassa NP, Bischler P, Beller KD, Sanders KH. Inhibition of the hypotensive effect of urapidil on 8-hydroxy-2(di-n-propylamino) tetralin by the 5-HT receptor antagonist spiroxatrine in cats. Serotonin Satellite Meeting (10th IUPHAR Congress), Heron Island, 1987 Abstr 23P.

Kovitz KL, Aleskowitch TD, Sylvester JT, Flavahan NA. Endothelium-derived contracting and relaxing factors contribute to hypoxic responses of pulmonary arteries. *Am J Physiol*

Heart Circ Physiol 1993; 265:H1139 –H1148.

Kozhznikova LM, Avdonin PV. Agonist 5HT_{1A} receptors of serotonin 8-OH-DPAT increase the power of collapse of aorta and mesenteric artery in rats in the presence of endothelin-1 or vasopressin and cause vessel relaxation precollapsing with noradrenaline. *Izv.Akad.Nauk.Ser.Biol.* 2010; 1:44-53.

Lamm WJ, Neradilek B, Polissar NL, Hlastala MP. Pulmonary response to 3 h of hypoxia in prone pigs. *Respir Physiol Neurobiol* 2007; 159:76 – 84.

Leach RM, Robertson TP, Twort CHC, Ward JPT. Hypoxic vasoconstriction in rat pulmonary and mesenteric arteries. *Am J Physiol* 1994; 266:L223-L231.

Lejeune P, Naeije R, Leeman M, Melot C, Deloof T, Delcroix M: Effects of dopamine and dobutamine on hyperoxic and hypoxic pulmonary vascular tone in dogs. *Am Rev Respir Dis* 1987; 136:29-35.

Link A, Selejan S, Walenta K, Reil JC, Böhm M. Treatment of peri and postoperative hypertensive emergencies. *Dtsch Med wochenschr* 2009; 134:701-707.

Liu Q, Sham JS, Shimoda LA, Sylvester JT. Hypoxic constriction of porcine distal pulmonary arteries: endothelium and endothelin dependence. *Am J physiol Lung cell Mol Physiol.* 2001; 280:856-865.

Liu SF, Barnes PJ. Neural control of pulmonary vascular tone. In Crystal RG, West JB, Weibel ER & Barnes PJ. «The Lung: Scientific Foundations», pp1457-1472, Raven Publishers, Philadelphia. 1997.

Liu SF, Crawley DE, Evans TW, Barnes PJ. Endothelium-derived relaxing factor inhibits hypoxic pulmonary vasoconstriction in rats. *Am Rev Respir Dis* 1991b; 143: 32-37.

Lumb AB, Slinger P. Hypoxic pulmonary vasoconstriction. Physiology and anesthetic implications. *Anesthesiology* 2015; 122:932-946.

Madden JA, Dawson CA, Harder DR. Hypoxia-induced activation in small isolated pulmonary arteries from the cat. *J Appl Physiol* 1985; 59:113–118.

Malik AB, Kidd BS. Time course of pulmonary vascular response to hypoxia in dogs. *Am J Physiol* 1973; 224:1-6.

Mathew V, Cannan CR, Miller VM, Barber DA, Hasdai D, Schwartz RS, Holmes DR, Lerman A. Enhanced Endothelin-Mediated Coronary Vasoconstriction and Attenuated Basal

Nitric Oxide Activity in Experimental Hypercholesterolemia. *Circulation*. 1997; 96:1930-1936

McMurtry IF, Davidson AB, Reeves JT, Grover RF. Inhibition of hypoxic pulmonary vasoconstriction by calcium antagonists in isolated rat lungs. *Circ Res*. 1976; 38(2):99-104.

McMurtry IF, Rounds S, Stanbrook HS. Studies of the mechanism of hypoxic pulmonary vasoconstriction. *Adv Shock Res* 1982; 8:21-33.

McMurtry IF. BAY K 8644 potentiates and A23187 inhibits hypoxic vasoconstriction in rat lungs. *Am J Physiol*. 1985; 249(4 Pt 2): H741-H746.

Melot C, Naeije R, Rothschild T, Mertens P, Mols P, Hallemans R. Improvement in ventilation-perfusion matching by almitrine in COPD. *Chest*. 1983; 83(3):528-533.

Meziani F, Tesse A, Asfar P, Schneider F, Andriantsitohaina R, Fournie A, Gairard A. De la toxémie gravidique à l'éclampsie : physiopathologie. *Réanimation* 2007; 16: 380–385

Morrel NW, Nijran KS, Biggs T, Seed WA. Magnitude and time course of acute hypoxic pulmonary vasoconstriction in man. *Respir Physiol* 1995; 100:271–81

Moutafis M, Dalibon N, Liu N, Kuhlman G, Fischler M: The effects of almitrine on oxygenation and hemodynamics during one-lung ventilation. *Anesth Analg* 2002; 94:830–834.

Murray TR, Chen L, Marshall BE, Macarak EJ. Hypoxic contraction of cultured pulmonary vascular smooth muscle cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1990; 3: 457-465.

Naeije R, Mélot C, Mols P, Hallemans R. Effects of vasodilators on hypoxic pulmonary vasoconstriction in normal man. *Chest* 1982; 82:404-10.

Nakazawa K, Amaha K. Effect of nicardipine hydrochloride on regional hypoxic pulmonary vasoconstriction. *Br J Anaesth* 1988; 60:547-54.

Neely CF, Stein R, Matot I, Batra V, Cheung A. Calcium blockage in pulmonary hypertension and hypoxic vasoconstriction. *New Horiz* 1996; 4:99-106.

Nelson DL, Taylor EW. Spiroxastrine: a selective serotonin $1A$ receptor antagonist. *Eur J Pharmacol* 1986; 124: 207-208.

Ogata M, Ohe M, Katayose D, Takishima Y. Modulatory role of EDRF in hypoxic contraction of isolated porcine pulmonary arteries. *Am J Physiol* 1992; 262: H691-H697.

Okutomi T, Wakabayashi C, Ikeda K. Effect of diltiazem on hypoxic pulmonary

vasoconstriction in dogs. *J Anesth* 1989; 3:138-44.

Papazian L, Roch A, Bregeon F, Thirion X, Gaillat F, Saux P, Fulachier V, Jammes Y, Auffray JP. Inhaled nitric oxide and vasoconstrictors in acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 160:473–479.

Persson MG, Gustafson LE, Wiklund NP, Moncada S, Hedqvist P. Endogenous nitric oxide as a probable modulator of pulmonary circulation and hypoxic response *in vivo*. *Acta Physiol Scand* 1990; 140: 449-457.

Piercy V, Smith H, Arch JR. Effects of isoprenaline, adrenaline and selective α 1- and α 2-adrenoceptor stimulation on hypoxic pulmonary vasoconstriction in rat isolated perfused lungs. *Pulm Pharmacol* 1990; 3:59–63.

Ramage AG. A comparison of the effects of doxazosin and alfuzosin with those of urapidil on peganionic sympathetic nerve activity in anaesthetized cats. *Eur J pharmacol.* 1986; 129: 307-314.

Resch BE, Ducza E, Gaspar R, Falkay G. Role of adrenergic receptor subtypes in the control of human placental blood vessels. *Mol Reprod Dev* 2003 ; 66 : 166-171.

Rezaiguia, S., C. Garat. Acute bacterial pneumonia in rats increases alveolar epithelial fluid clearance by a tumor necrosis factor-alpha-dependent mechanism. *J Clin Invest* 1997; 99(2): 325-35.

Roche S, Samain E, Diemunsch P, Jaber S, Piriou V, Tauzin-fin P. Urapidil : revue des études récentes. *Le praticien en anesthésie réanimation* 2011; 15:180-187.

Rodman DM, Yamaguchi T, Hasunuma K, O'Brien RF, McMurty IF. Effects of hypoxia on endothelium-dependent relaxation of rat pulmonary artery. *Am J Physiol* 1990; 258: L207-L214.

Saadjian A, Philip-Joët F, Paganelli F, Saadjian M, Lévy S. Acute effects of nicardipine on the vascular reactivity of oxygen in patients with respiratory insufficiency and pulmonary hypertension. *Arch Mal Coeur Vaiss* 1993; 86:899—906.

Sanders KH, Beller KD, Bischler P, Kolassa N. Interaction of urapidil with the brain serotonin 5-HT_{1A} receptors increases the blood pressure reduction due to peripheral alpha-adrenoreceptor inhibition. *J. Hypertension* 1988; 60:S65-S68.

Saxena PR, Villalon CM. 5-HT_{1A} receptor agonism: a novel mechanism for antihypertensive action. *Trends. Pharmacol. Scj.* 1990; 11:95-96.

Schoentensack W, Bruckschen EG, Zech K. Urapidil. In: Scriabine A, ed. *New drugs Annual: Cardiovascular Drugs. Vol 1.* New York: Raven Press. 1983; 19-48.

Schulz M, Wacker J, Bastert G. effetc of urapidil in antihypertensive therapy of preeclampsia on newborns. *Zentralbl Gynakol* 2001; 123:529-533.

Schumacker PT. Lung cell hypoxia: Role of mitochondrial reactive oxygen species signaling in triggering responses. *Proc Am Thorac Soc* 2011; 8:477–884.

Sporton SCE, Shehheard SL, Jordan D, Ramage AG. Microinjections of 5-HT_{1A} agonists into the dosal motor vagal nucleus produce bradycardia in the atenolo-pretreated anaesthetized rat. *Br J Pharmacol.* 1991; 104:466-470.

Sylvester JT, Harabin AL, Peake MD, Frank RS. Vasodilator and constrictor re- sponses to hypoxia in isolated pig lungs. *J Appl Physiol* 1980; 49: 820-825.

Sylvester JT, Shimoda LA, Aaronson PI, Ward JP: Hypoxic pulmonary vasoconstriction. *Physiol Rev* 2012; 92:367–520

Takenaka Y, Toyoda N. The effect of alpha 1 blocking vasodilator on foetal growth and uteroplacental blood flow in streptozotocin induced diabetics rats. *Life Sci* 1995; 56:1127-1134.

Timmermans WM, Schoop MC, Kwa HY, Van Zwieten PA. Characterization of α -adrenoreceptors participating in the central hypotensive and sedative effetcs of clonidine using yohimbine, rauwolscine and corynanthine. *Eur J Pharmaco* 1981; 70:7-15.

Tojo K, Kurahashi K. Atelectasis causes alveolar hypoxia-induced inflammation during uneven mechanical ventilation in rats. *Intensive Care Medicine Experimental* 2015; 3:18.

Tucker A, Reeves JT. Nonsustained pulmonary vasoconstriction during acute hyp- oxia in anesthetized dogs. *Am J Physiol* 1975; 228:756-76.

Valenta B, Kotai E, Weisz E, Singer EA. Influence of urapidil and 8-OH-DPAT on brain 5-HT turnover and blood pressure in rats. *J. Cardio. Pharmacol.* 1990; 15:S68-S74.

Van Zwieten PA, Thoolen MC, Timmermans WM. The hypotensive activity and side-effects of methyldopa, clonidine and guanfacine. *Hypertension.* 1984; 6:28-33.

- Van Zwieten PA, Blauw GJ, Van Brummelen P. Pharmacological profile of antihypertensive drugs with serotonin receptor and α_1 -adrenoceptor activity. *Drugs* 1990; 40:1-8.
- Van Zwieten PA, Bruning TA. Comparison of the hemodynamic effects of urapidil and flesinoxan in healthy volunteers. *Blood Pressure* 1994; 3:19-24.
- Van Zwieten PA, De Jonge A, Wilffert B, Beckering JJ, Timmermans WM, Thoolen MC. Cardiovascular effects and interaction with adrenoreceptors of urapidil. *J Pharm Pharmacol*. 1985; 37:810-811.
- Vanhaesebrouck S, Hanssens M, Allegaert K. Neonatal transient respiratory depression after maternal urapidil infusion for hypertension. *Eur J Pediatr*. 2009; 168: 221-223.
- Vincent JL, Berlot G, Preiser JC, Engelman E, Dereume JP, Khan RJ. Intravenous nicardipine in the treatment of post- operative arterial hypertension. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 1997; 11:160-4.
- Visscher MB. Normal and abnormal pulmonary circulation, Proceedings of the 5th Conference on Research in Emphysema. Edited by Grover RF. Aspen, Karger, 1962, pp 341-50
- Vizitiu R, Krauss-Grignard M, Garcia V, Valentin L, Samain E, Diemunsch P. Urapidil for hypertension control in severe pre-eclampsia ; a comparative study with nicardipine. 2010; A528, ISICEM Meeting Brussels.
- Von Euler US, Liljestrand G: Observations on the pulmonary arterial blood pressure of the cat. *Acta Physiol Scand* 1946; 12:301–320.
- Wacker J, Muller J, Grischke EM, Unkels R, Bastert G. Antihypertensive therapy in pregnancy-induced hypertension with urapidil. *Zentralbl Gynakol*. 1994; 116:271-273.
- Wacker J, Wagner BK, Briese V, Schauf B, Heilmann L, Bartz C. Antihypertensive therapy in patient with pre-eclampsia: a prospective randomised multicentre study comparing dihydralazine with urapidil. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2006; 127:160-165.
- Wang J, Shimoda LA & Sylvester JT. Ca^{2+} responses of pulmonary arterial myocytes to acute hypoxia require release from ryanodine and inositol trisphosphate receptors in SR. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2012; 303:L161–L168.
- Ward JP, McMurtry IF. Mechanisms of hypoxic pulmonary vasoconstriction and their roles in pulmonary hypertension: new findings for an old problem. *Curr Opin Pharmacol*. 2009; 9(3):

287-296.

Ward JP. Point: Hypoxic pulmonary vasoconstriction is mediated by increased production of reactive oxygen species. *J Appl Physiol* 2006; 101(3):993-995.

Warren J, Maltby NH, McCormack D, Barnes P. Pulmonary endothelium-derived relaxing factor is impaired in hypoxia. *Clin Sci* 1989; 77:671-676.

Weissmann N, Akkayagil E, Quanz K, Schermuly RT, Ghofrani HA, Fink L, Hanze J, Rose F, Seeger W, Grimminger F. Basic features of hypoxic pulmonary vasoconstriction in mice. *Respir Physiol Neurobiol* 2004; 139:191–202.

West JB, Dollery CR, Naimark A. Distribution of blood flow in isolated lung: relation to vascular and alveolar pressures. *J Appl Physiol* 1964; 19:713-724.

Yoo HY, Zeifman A, Ko EA, Smith KA, Chen J, Machado RF, Minshall RD, Yuan JXJ. Optimization of isolated perfused/ventilated mouse lung to study hypoxic pulmonary vasoconstriction. *Pulmonary Circulation* 2013; 2:396-405.

Zhang J, Zhou J, Cai L, Lu Y, Wang T, Zhu L, Hu Q. Extracellular calcium-sensing receptor is critical in hypoxic pulmonary vasoconstriction. *Antioxid Redox Signal* 2012; 17 :471-484.

Etude expérimentale évaluant l'effet de l'urapidil sur le tonus artériel et sa capacité à préserver la vasoconstriction hypoxique dans l'artère pulmonaire

Résumé

La prise en charge d'une hypertension artérielle est un enjeu majeur dans certaines situations à risque telles que la pré-éclampsie ou chez les patients avec une pathologie respiratoire pour lesquels la vasoconstriction hypoxique pulmonaire est bénéfique. L'urapidil est un antihypertenseur d'action mixte associant une action antagoniste sur les récepteurs alpha-1 adrénergiques post synaptiques périphériques et une baisse du tonus sympathique par action centrale qui pourrait impliquer à la fois un blocage des récepteurs alpha-1 et une activité agoniste sérotoninergique sur les récepteurs 5HT1A qui limite la survenue d'une tachycardie reflexe. La première étude indique que les récepteurs 5HT1A périphériques ne semblent pas impliqués dans les effets vasculaires périphériques de l'urapidil, qui seraient principalement le résultat du blocage des récepteurs alpha 1 adrénergiques. La deuxième étude montre que l'urapidil préserve la VHP contrairement à la nicardipine et la clévidipine qui l'inhibent.

Mots-clés : Hypertension artérielle, Urapidil, Récepteurs 5HT1A, Vasoconstriction hypoxique

Résumé en anglais

Urapidil, a vasodilator, is widely used in the treatment of hypertension mostly due to better patient tolerance. Urapidil has a dual action: firstly it works as a selective alpha1- adrenoreceptor antagonist and secondly as an agonist of 5-HT1A receptors in the central nervous system. Thus, the present findings, while confirming that urapidil is a potent inhibitor of alpha 1-adrenoceptor-induced contraction targeting preferentially arteries with an endothelial dysfunction, do not support the role of 5-HT1A receptor activation in the control of the vascular tone in response to urapidil in the three types of blood vessels studied. In conclusion, this trial showed that in our experimental setting, urapidil preserved the hypoxia triggered vasoconstriction in isolated pulmonary vessels. Conversely, both calcium channel inhibitors nicardipine and clevidipine blunted the vasoconstrictor reaction to hypoxia. These findings may have important clinical consequences that deserve further evaluation.

Keywords: Arterial Hypertension, Urapidil, Receptors 5HT1A, Hypoxic Vasoconstriction