



HAL
open science

Hypertension artérielle, dysfonction endothéliale et stress oxydant dans un modèle animal d'apnée du sommeil : rôle protecteur de l'estradiol

Alexandra Ribon-Demars

► **To cite this version:**

Alexandra Ribon-Demars. Hypertension artérielle, dysfonction endothéliale et stress oxydant dans un modèle animal d'apnée du sommeil : rôle protecteur de l'estradiol. Santé. Université de Lyon; Université Laval (Québec, Canada), 2019. Français. NNT : 2019LYSE1101 . tel-03000538

HAL Id: tel-03000538

<https://theses.hal.science/tel-03000538v1>

Submitted on 12 Nov 2020

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.



N°d'ordre NNT : 2019LYSE1101

THESE de DOCTORAT DE L'UNIVERSITE DE LYON
opérée au sein de
l'Université Claude Bernard Lyon 1

Ecole Doctorale N°205
Interdisciplinaire Sciences-Santé (EDISS)

Spécialité de doctorat : Sciences Cliniques et Biomédicales

Soutenue publiquement/à huis clos le **23/09/2019**, par :
Ribon-Demars Alexandra

**Hypertension artérielle, dysfonction endothéliale et
stress oxydant dans un modèle animal d'apnée du
sommeil : rôle protecteur de l'estradiol**

Devant le jury composé de :

M. COUET Jacques, Professeur, Université Laval
Mme. BELAIDI-CORSAT Élise, MCF, Université de Grenoble
M. ROUSSEAU Éric, Professeur, Université de Sherbrooke
M. ROUSSEL Damien, MCF, Université Lyon 1
Mme. VINET Agnès, PU, Université d'Avignon
M. PIALOUX Vincent, PU, Université Lyon 1
Mme. BAIRAM Aida, PU-PH, Université Laval
M. JOSEPH Vincent, Professeur, Université Laval

Président du jury
Rapporteur
Rapporteur
Examinateur
Examinatrice
Directeur de thèse
Co-directrice de thèse
Invité

Résumé

L'hypertension artérielle (HTA) est un problème de santé publique majeur, au centre de nombreuses pathologies. En étudiant la prévalence de l'HTA, nous nous sommes intéressés à deux points en particulier que nous abordons dans ce manuscrit de thèse. Le premier est l'existence d'une relation bidirectionnelle entre l'HTA et le syndrome de l'apnée du sommeil (SAS), maladie encore sous-diagnostiquée de nos jours. Le second concerne le fait que les hommes sont plus touchés par ces deux pathologies que les femmes, mais que cette tendance s'inverse au moment de la ménopause, suggérant un rôle protecteur des hormones ovariennes. Les mécanismes sous-jacents de la mise en place de l'HTA sont connus dans différentes maladies associées comme l'athérosclérose, l'obésité, le diabète, mais doivent encore être étudiés dans le SAS chez la femme ménopausée.

Le travail de cette thèse vise à comprendre les mécanismes à l'origine de l'HTA chez les femmes ménopausées atteintes du SAS. Pour cela, nous avons utilisé un modèle animal d'hypoxie intermittente (HIC; 21%-10% O₂ ; 10cycles/h ; 8h/jour). Ce modèle simule le profil physiopathologique observé chez les patients apnéiques, en particulier avec le développement de l'HTA. La particularité de nos travaux de recherche est l'utilisation de rates ovariectomisées (OVX), permettant ainsi de mimer la ménopause, contrairement à de nombreux modèles d'HIC qui utilisent les rats mâles. Par ailleurs, nous nous sommes aussi intéressés au rôle de l'estradiol (E2) dans le développement de l'HTA et sur les mécanismes sous-jacents induits par l'HIC.

Nos principales conclusions sont que l'HIC engendre une élévation de la pression artérielle et de la concentration en endothéline-1 (un vasoconstricteur), mais que ceci est réversible avec le traitement à l'E2. Au niveau de l'aorte, l'OVX engendre une augmentation du stress oxydatif, mais, de nouveau, la supplémentation en E2 renverse cet effet. Les mécanismes de réponse à l'E2 sont différents selon le protocole suivi par l'animal ; après l'HIC, l'E2 réduit l'activité des enzymes pro-oxydantes alors qu'en condition de normoxie (21% O₂), l'E2 augmente l'activité des enzymes anti-oxydantes. Au niveau des poumons, l'HIC augmente le stress oxydatif mais l'OVX a un effet chez les animaux en normoxie uniquement. Les effets de l'E2 sur le stress oxydatif sont tissu-dépendants.

Le traitement à l'E2 permet de pallier les dysfonctions vasculaires induites par l'HIC et pourrait avoir une pertinence clinique dans le traitement du SAS chez la femme ménopausée.

Abstract

Arterial hypertension is a major public health problem, which is at the heart of many diseases. In studying the prevalence of hypertension, we focused in two specific points that we address in this thesis manuscript. The first one is the existence of bidirectional relationship between hypertension and sleep apnea syndrome (SAS), a disease that is still underdiagnosed today. The second is that men are more affected by these two conditions than women, but this trend reverses at the time of menopause, suggesting a protective role of ovarian hormones. The underlying mechanisms of the establishment of hypertension have been studied in various associated diseases (atherosclerosis, obesity, diabetes), but have yet to be studied in SAS in menopausal women.

This work aims to understand the mechanisms underlying high blood pressure in postmenopausal women with SAS. For this, we used an animal model of intermittent hypoxia (IH, 21% -10% O₂, 10cycles/h, 8h/day). This model presents the same pathophysiological profile observed in apneic patients, in particular with the development of arterial hypertension. The unusual feature of our study is the use of ovariectomized (OVX) female rats, thus allowing to mimic the menopause, contrary to many models of IH which use the male rats. In addition, we have also investigated the role of estradiol (E2) in the development of hypertension and on the underlying mechanisms induced by IH.

Our main conclusions are that although IH causes elevation of blood pressure and endothelin-1 concentration (a vasoconstrictor), it is reversible with E2 treatment. In aorta, OVX generates an increase of oxidative stress, but, again, the supplementation in E2 reverses this effect. The mechanisms of response to E2 are different according to the protocol followed by the animal; after IH, E2 reduces the activity of pro-oxidant enzymes whereas in normoxia condition (21% O₂), E2 increases the activity of antioxidant enzymes. In the lungs, IH increases oxidative stress, but OVX has an effect only in female rats exposed to normoxia. The effects of E2 on oxidative stress are tissue-dependent.

E2 treatment prevents IH-induced vascular dysfunction and may be clinically relevant in the treatment of SAS in postmenopausal women.

Table des matières

Résumé.....	ii
Abstract.....	iii
Table des matières.....	iv
Liste des tableaux.....	viii
Liste des figures.....	ix
Liste des abréviations et des sigles.....	xii
Remerciements.....	xiv
Avant-propos.....	xvii
Introduction.....	1
DE LA PRESSION ARTÉRIELLE À L’HYPERTENSION.....	2
LA PRESSION ARTÉRIELLE.....	2
<i>Découverte du paramètre cardiovasculaire.....</i>	2
<i>Définition.....</i>	3
<i>Dérèglements de la pression artérielle.....</i>	4
L’HYPERTENSION : PATHOLOGIES À MULTIFACETTES.....	6
<i>Rappels historiques.....</i>	6
<i>Diagnostic.....</i>	8
<i>Épidémiologie dans la population générale.....</i>	8
<i>Sexe et ménopause : facteurs de risques de l’hypertension artérielle.....</i>	9
<i>Autres facteurs de risques.....</i>	11
<i>Prise en charge.....</i>	11
LES FACTEURS DE RÉGULATION DE LA PRESSION ARTERIELLE.....	13
<i>Facteurs centraux: le système nerveux sympathique.....</i>	13
<i>Facteurs hormonaux : le système rénine – angiotensine – aldostérone.....</i>	14
<i>Facteurs locaux : la fonction endothéliale et le remodelage vasculaire.....</i>	15
L’HYPERTENSION ARTÉRIELLE ET LES MALADIES ASSOCIÉES.....	16
L’APNÉE DU SOMMEIL.....	17
UNE MALADIE ANCIENNE MAIS TOUJOURS D’ACTUALITÉ.....	17
LA DÉFINITION ET LES CARACTÉRISTIQUES DU SAS.....	19
<i>Définition.....</i>	19
<i>Différents types d’apnée du sommeil.....</i>	19
<i>Sévérité de la maladie.....</i>	22
PRÉSENTATION CLINIQUE DE L’APNÉE DU SOMMEIL.....	22
<i>Épidémiologie dans la population générale.....</i>	22
<i>La ménopause : facteur de risques du SAHOS.....</i>	24
<i>Autres facteurs de risques.....</i>	26
<i>Prise en charge.....</i>	27
LES ÉTUDES FONDAMENTALES SUR LES CONSÉQUENCES VASCULAIRES DU SAS.....	29
<i>Les modèles d’hypoxie intermittente.....</i>	29
<i>Conséquences de l’hypoxie intermittente chronique sur le système vasculaire.....</i>	31
<i>Conséquences de l’hypoxie intermittente chronique sur le tissu pulmonaire.....</i>	32

L'HYPERTENSION ARTÉRIELLE INDUITE PAR L'HYPOXIE INTERMITTENTE CHRONIQUE : MÉCANISMES IMPLIQUÉS	33
LES MÉCANISMES AUTONOMES	33
<i>Système sympathique</i>	33
<i>Chémorécepteurs périphériques</i>	34
LA DYSFONCTION ENDOTHÉLIALE	36
<i>Facteur vasoactif : endothéline-1</i>	36
<i>Facteur vasorelaxant : oxyde nitrique et vasodilatation NO-dépendante</i>	39
LE STRESS OXYDATIF	43
<i>Définition</i>	43
<i>Principaux ROS ou radicaux libres</i>	43
<i>Principaux producteurs de ROS</i>	46
<i>Défenses anti-oxydantes</i>	53
<i>Cibles des ROS</i>	57
<i>Stress oxydatif et hypertension artérielle induite par l'hypoxie intermittente</i>	59
SYNTHÈSE	62
LA MÉNOPAUSE ET L'ESTRADIOL	63
LA MÉNOPAUSE : UN FACTEUR DE RISQUE DE L'HYPERTENSION ARTÉRIELLE.....	63
<i>Définition</i>	63
<i>SAHOS lors de ménopause</i>	64
<i>Traitements hormonaux de la ménopause</i>	65
<i>Modèle animal de la ménopause : ovariectomie</i>	66
L'ESTRADIOL : UNE DÉFENSE CONTRE L'HYPERTENSION ARTÉRIELLE.....	67
<i>Récepteurs de l'estradiol</i>	68
<i>Signaux génomiques</i>	69
<i>Signaux non génomiques</i>	70
<i>Rôle de l'estradiol sur l'hypertension artérielle</i>	71
<i>Rôle de l'estradiol sur la fonction endothéliale</i>	73
<i>Rôle de l'estradiol sur le stress oxydatif</i>	74
SYNTHÈSE	76
HYPOTHÈSE GÉNÉRALE ET OBJECTIFS.....	78
1 Chapitre I	82
Protective roles of estradiol against vascular oxidative stress in ovariectomized female rats exposed to normoxia or intermittent hypoxia	82
1.1 Résumé en français	83
1.2 Abstract	84
1.3 Introduction.....	85
1.4 Material and methods.....	87
1.4.1 <i>Ethical approval</i>	87
1.4.2 <i>Experimental groups</i>	87
1.4.3 <i>Surgical procedure</i>	87
1.4.4 <i>Chronic intermittent hypoxia exposure</i>	88
1.4.5 <i>Measurements of body weight and hemodynamic parameters</i>	88
1.4.6 <i>Plasma and tissue collection</i>	89

1.4.7	<i>Biochemical assays</i>	89
1.4.8	<i>Protein extraction</i>	89
1.4.9	<i>Oxidative stress enzyme activities</i>	89
1.4.10	<i>Marker of oxidative stress</i>	91
1.4.11	<i>Ex vivo measurements of vascular reactivity</i>	91
1.4.12	<i>Statistical analysis</i>	93
1.5	Results.....	94
1.5.1	<i>Short and long-term effects of CIH, ovariectomy, and E₂ supplementation on weight gain</i>	94
1.5.2	<i>E₂ supplementation in ovariectomized female rats prevents the elevation of arterial blood pressure after short- and long-term exposure to CIH</i>	96
1.5.3	<i>E₂ supplementation reduces circulating ET-1 level in ovariectomized female rats after short-term exposure to CIH</i>	97
1.5.4	<i>E₂ supplementation reduces the pro-oxidant phenotype by increasing catalase activity in the aorta of ovariectomized female rats after short-term exposure to CIH</i>	97
1.5.5	<i>E₂ supplementation promotes in vitro NO-induced vasodilation on aortic rings after short-term exposure to CIH</i>	101
1.6	Discussion	105
1.6.1	<i>Weight gain during CIH exposure in SHAM and OVX female rats</i>	106
1.6.2	<i>Supplemental E₂ reduces arterial blood pressure during exposure to CIH</i>	106
1.6.3	<i>E₂ supplementation reduces the pro-oxidant phenotype in the aorta of ovariectomized female rats after short-term exposure to CIH</i>	107
1.6.4	<i>E₂ supplementation reduces circulating ET-1 level in ovariectomized female rats after short-term exposure to CIH</i>	108
1.6.5	<i>E₂ supplementation promotes in vitro NO-induced vasodilation after short-term exposure to CIH</i>	109
1.6.6	<i>Long-term CIH exposure in female rats does not alter oxidative stress in the aorta, circulating ET-1 level, or the vascular reactivity of aortic rings</i>	110
2	Chapitre II	112
	Roles of estradiol against oxidative stress in the lungs of ovariectomized female rats exposed to chronic intermittent hypoxia	112
2.1	Résumé en français	113
2.2	Abstract	114
2.3	Introduction.....	115
2.4	Material and methods.....	117
2.4.1	<i>Ethical approval</i>	117
2.4.2	<i>Experimental groups</i>	117
2.4.3	<i>Surgical procedure and chronic intermittent hypoxia</i>	118
2.4.4	<i>Tissues collection and protein extraction</i>	118
2.4.5	<i>Oxidative stress enzyme activities and makers of oxidative stress</i>	118
2.4.6	<i>Statistical analysis</i>	118
2.5	Results.....	119
2.5.1	<i>E₂ supplementation reduces the pro-oxidant phenotype in the lung of ovariectomized female rats after exposure to CIH</i>	119

2.5.2	<i>E2 supplementation modulates in different ways the anti-oxidant phenotype in the lung of ovariectomized female rats after exposure to CIH.</i>	122
2.5.3	<i>E2 supplementation decreases the oxidative stress marker AOPP in the lung of ovariectomized female rats after exposure to CIH.</i>	124
2.6	Discussion	126
Discussion, conclusions et perspectives		129
Principales observations et constatations		130
Les limites de nos études		131
Effet de l'estradiol sur la dysfonction endothéliale et le stress oxydatif induit par l'HIC		132
L'estradiol agit différemment sur la catalase et la GPx en condition d'HIC		136
Implications des HIF dans le stress oxydatif induit par l'HIC		139
Rôles des ER dans la protection vasculaire de l'estradiol		142
Perspectives		143
Bibliographie		145
Annexe A : Cotutelle		188
Annexe B : Publications		189
Annexe C : Congrès		190
Annexe D : Encadrement étudiant		192

Liste des tableaux

Introduction

Tableau 1 : Définition et classification des différentes formes d'hypertension artérielle selon JNC et ESH/ESC	6
Tableau 2 : Récapitulatif des cinq études publiées entre 1993 et 2015, présentant les prévalences (en %) des désordres respiratoires durant le sommeil et du syndrome de l'apnée du sommeil.....	24
Tableau 3 : Les différentes isoformes de la NADPH oxydase	49
Tableau 4 : Présentation des antioxydants enzymatiques et non enzymatiques	54

Chapitre 1

Table 5 : Mean, systolic and diastolic arterial blood pressures (MAP, SDB, DBP: mmHg) and heart rate (HR: bpm) after 7 and 35 days in RA or CIH for different hormonal status (SHAM; OVX-VEH and OVX-E2)	96
--	----

Liste des figures

Introduction

Figure 1 : Expérience du garrot d'Harvey. La compression du bras par un garrot en A fait ressortir les veines de l'avant-bras entraînant le gonflement des valvules B, C et D (à gauche). Dessin représentant l'expérience de Hales, pour déterminer la pression artérielle sur une jument (à droite)	2
Figure 2 : Le premier sphygmomanomètre du professeur Siegfried Ritter Von Basch (à gauche). Le sphygmomanomètre de Scipione Riva-Rocci avec le brassard (à droite). ...	3
Figure 3 : Représentation schématique de la circulation sanguine lors de la systole et la diastole.....	4
Figure 4 : Représentation schématique des différents mécanismes physiopathologiques responsables du développement de l'hypertension artérielle	13
Figure 5 : Enregistrements de polygraphie ventilatoire d'une apnée obstructive (a), centrale (b) et mixte (c)	21
Figure 6 : Schématisation d'un masque de Pression Positive Continue (PPC).	28
Figure 7 : Représentation schématique des trois grands profils d'HI.....	30
Figure 8 : Système vasculaire de l'endothéline-1 contribuant aux modifications vasculaires de l'hypertension artérielle	38
Figure 9 : Libération des facteurs de relaxation d'origine endothéliale	40
Figure 10 : Production de ROS à partir de la réduction de l'oxygène.....	44
Figure 11 : Représentation schématique de la chaîne de respiration mitochondriale.....	46
Figure 12 : Représentation schématique de la NOX2 et de son mécanisme d'activation	50
Figure 13 : Représentation schématique de la réaction de transformation de l'hypoxanthine en acide urique par la xanthine oxydase lors de phénomène de réoxygénation.....	51
Figure 14 : Découplage de l'enzyme NO synthase.....	52
Figure 15 : Représentation schématique du système antioxydant enzymatique.....	55
Figure 16: Représentation schématique du cycle de la glutathion peroxydase (GPx) et la glutathion réductase (GR).....	56
Figure 17 : Représentation schématique du cycle de recyclage entre la vitamine E (tocophérol), la vitamine C (acide ascorbique) et le glutathion peroxydase (GPx).	57
Figure 18 : Représentation schématique de l'interaction hormonale dans l'axe hypothalamo-hypophysaire, régulant le cycle ovarien (à gauche). Graphique présentant les concentrations des hormones centrales (LH et FSH) et des hormones ovariennes (progestérone et estradiol) avant et après la ménopause (à droite).....	64
Figure 19 : Représentation schématique de la synthèse de l'estradiol.....	67
Figure 20 : Représentation schématique des récepteurs ER α et ER β	68
Figure 21 : Représentation schématique des mécanismes de signalisation des ER.....	71
Figure 22 : Représentation schématique des effets des estrogènes sur la fonction mitochondriale.....	75
Figure 23 : Représentation schématique du développement de l'hypertension artérielle via la dysfonction endothéliale et le stress oxydatif, dans le cas de l'apnée du sommeil ou d'une exposition en hypoxie intermittente	77

Chapitre 1

Figure 24 : Plasma concentrations of E2 (pg/mL) after 7 (left panel) or 35 (right panel) days in RA or CIH for different hormonal status	94
Figure 25 : Weight gain (grams) after 7 days in RA or CIH for different hormonal status.	95
Figure 26: Weekly weight gain for SHAM groups (left panel) and for OVX-VEH and OVX-E ₂ groups (right panel) during 35 days in RA or CIH	95
Figure 27 : Plasma endothelin-1 levels (pg/mL) after 7 (left panel) or 35 (right panel) days in RA or CIH for different hormonal status.....	97
Figure 28 : Activities (in nmol/min/mg of protein) of NADPH oxidase (NOX), xanthine oxidase (XO), superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPX) and concentrations (in nmol/mg of protein) of advanced oxidation protein products (AOPP) in the aortic tissue of female rats exposed to 7 days in RA or CIH for different hormonal status	99
Figure 29 : Activities (in nmol/min/mg of protein) of NADPH oxidase (NOX), xanthine oxidase (XO), superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPX) and concentrations (in nmol/mg of protein) of advanced oxidation protein products (AOPP) in the aortic tissue of female rats exposed to 35 days in RA or CIH for different hormonal status	100
Figure 30 : Upper panels: cumulative concentration–response curves to phenylephrine (PHE; 10 ⁻⁹ - 10 ⁻⁵ M) after 7 days of exposure to CIH or RA in SHAM, OVX-VEH, OVX-E ₂ rats. Lower panel: maximal contraction obtained with the highest dose of PHE in isolated aortic rings from rats after 7 days of exposure to CIH or RA	101
Figure 31 : Upper panels: cumulative concentration–response curves to acetylcholine (Ach; 10 ⁻⁹ - 10 ⁻³ M) after 7 days of exposure to CIH or RA in SHAM, OVX-VEH, OVX-E ₂ rats. Lower panels, bar graph: maximal relaxation obtained with the highest dose of Ach in isolated aortic rings from rats after 7 days of exposure to CIH or RA. Lower panel, curves: Cumulative concentration-response curves to sodium nitroprusside (SNP; 10 ⁻⁹ - 10 ⁻³ M)	102
Figure 32 : Upper panels: cumulative concentration–response curves to phenylephrine (PHE; 10 ⁻⁹ - 10 ⁻⁵ M) after 35 days of exposure to CIH or RA in SHAM, OVX-VEH, OVX-E ₂ rats. Lower panel: maximal contraction obtained with the highest dose of PHE in isolated aortic rings from rats after 35 days of exposure to CIH or RA	103
Figure 33 : Upper panels: cumulative concentration–response curves to acetylcholine (Ach; 10 ⁻⁹ - 10 ⁻³ M) after 35 days of exposure to CIH or RA in SHAM, OVX-VEH, OVX-E ₂ rats. Lower panels, bar graph: maximal relaxation obtained with the highest dose of Ach in isolated aortic rings from rats after 35 days of exposure to CIH or RA. Lower panel, curves: Cumulative concentration-response curves to sodium nitroprusside (SNP; 10 ⁻⁹ - 10 ⁻³ M)	104

Chapitre 2

Figure 34: Activities (in nmol/min/mg of protein) of NADPH oxidase (NOX) and xanthine oxidase (XO) in the lung of female rats exposed to 7 days in RA or CIH for different hormonal status.....	120
---	-----

Figure 35: Activities (in nmol/min/mg of protein) of NADPH oxidase (NOX) and xanthine oxidase (XO) in the lung of female rats exposed to 35 days in RA or CIH for different hormonal status.....	121
Figure 36: Activities (in nmol/min/mg of protein) of catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPX) and superoxide dismutase (SOD) in the lung of female rats exposed to 7 days in RA or CIH for different hormonal status.....	122
Figure 37: Activities (in nmol/min/mg of protein) of catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPX) and superoxide dismutase (SOD) in the lung of female rats exposed to 35 days in RA or CIH for different hormonal status	123
Figure 38: Concentrations (in nmol/mg of protein) of advanced oxidation protein products (AOPP) in the lung of female rats exposed to 7 days in RA or CIH for different hormonal status	124
Figure 39: Concentrations (in nmol/mg of protein) of advanced oxidation protein products (AOPP) in the lung of female rats exposed to 35 days in RA or CIH for different hormonal status.....	125

Discussion, conclusions et perspectives

Figure 40 : Représentation schématique des effets de la supplémentation en estradiol sur la dysfonction endothéliale et le stress oxydatif, dans le cas de l'apnée du sommeil ou d'une exposition en hypoxie intermittente chronique	135
Figure 41 : Le stress oxydatif et les capacités anti-oxydantes au niveau de la mitochondrie, en condition physiologique.....	136
Figure 42 : Effet de la supplémentation en estradiol sur les enzymes anti-oxydantes, en condition d'hypoxie intermittente	138
Figure 43: Mécanismes moléculaires pouvant expliquer le développement de l'hypertension artérielle en condition d'hypoxie intermittente : interactions entre les facteurs induits par l'hypoxie (HIF-1 α et HIF-2 α) et la production d'espèces réactives oxygénées (ROS) par les mitochondries, la NADPH oxyde 2 (NOX2) et la xanthine oxydase (XO)	141

Liste des abréviations et des sigles

AASM : American Academy of Sleep Medicine
ACh : Acétylcholine
ADP : Adénosine diphosphate
ANG-II : Angiotensine II
AOPP : Advanced oxidation protein products
AP-1 : Activator-protein-1
ATP : Adénosine triphosphate
AVC : Accident vasculaire cérébral
BH4 : Tétrahydrobioptérine
CARDIA : Coronary Artery Risk Development in Young Adults
CAT : Catalase
DPN : Diarylpropionitrile
E1 : Estrone
E2 : Estradiol
EDRF : Endothelium derived relaxing factor
eNOS : Enzyme oxyde nitrique synthase endothéliale
ER : Récepteur aux œstrogènes
ER α : Récepteurs œstrogènes α
ER β : Récepteurs œstrogènes β
ERE : Éléments de réponse aux œstrogènes
ESC : European Society of Cardiology
ESH : European Society of Hypertension
ET-1 : Endothéline-1
FSH : Hormone folliculostimulante
F_{I02} : Fraction d'oxygène inspiré
GMPc : Guanosine monophosphate cyclique
GTP : Guanosine triphosphate
GPx : Glutathion peroxydase
GR : Glutathion réductase
GSH : Glutathion réduit
GSSG : Glutathion oxydé
H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène
HI : Hypoxie intermittente
HIC : Hypoxie intermittente chronique
HIF : Facteur induit par l'hypoxie
HTA : Hypertension artérielle
IAH : Indice d'apnée – hypopnée
IEC : Inhibiteurs de l'enzyme de conversion
IMC : Indice de masse corporelle
JNC : Joint National Committee
KCl : Chlorure de potassium
LDL : Lipoprotéines de basse densité
LH : Hormone lutéinisante
MAP kinase : Protéine kinase activée par les mitogènes

MDA : Malondialdéhyde
NaCl : Chlorure de sodium
NHANE : National Health and Nutrition Examination
NOX : NADPH oxydase
NO : Oxyde nitrique
NRF : Facteurs nucléaires respiratoires
NTS : noyau du tractus solitaire
O₂ : Dioxygène
O₂^{•-} : Anion superoxyde
OH[•] : Radical hydroxyle
OMS : Organisation Mondiale de la Santé
ONOO⁻ : Peroxynitrite
OVX : Ovariectomie
PA : Pression artérielle
PAM : Pression artérielle moyenne
PaCO₂ : Pression artérielle en dioxyde de carbone
PaO₂ : Pression artérielle en oxygène
PFA : Para formaldéhyde
PHE : Phényléphrine
PPC : Pression positive continue
PPT : Propyl-pyrazole trisphenol
ROS : Espèces réactives oxygénées
ROO[•] : Radical peroxyde
SaO₂ : Saturation artérielle en oxygène
SAS : Syndrome d'apnée du sommeil
SAHCS : Syndrome d'apnées – hypopnées centrales du sommeil
SAHMS : Syndrome d'apnées – hypopnées mixtes du sommeil
SAHOS : Syndrome d'apnées – hypopnées obstructives du sommeil
SERMs : Modulateurs sélectifs des récepteurs estrogéniques
SNP : Sodium nitroprusside
SNS : Système nerveux sympathique
SOD : Superoxyde dismutase
TBA : Acide thiobarbiturique
TH : Traitement hormonal ou hormonothérapie
VCAM-1 : Molécule-1 d'adhésion des cellules vasculaires
VEH : Vehicle
WHI : Women's Health Initiative
XO : Xanthine oxydase

Remerciements

J'adresse mes remerciements à tous ceux qui ont contribué, de près ou de loin, sur place ou à distance, au succès de ce doctorat. Merci à chacun d'entre vous !

Tout d'abord, je tiens à remercier les membres de mon jury pour leur lecture attentive de ma thèse ainsi que pour les remarques et réflexions apportées durant la soutenance afin d'améliorer mon travail. Merci d'avoir accepté d'évaluer mon travail et d'être présent à ma soutenance (malgré un océan à traverser pour certains).

Plus précisément, je tiens à souligner l'encadrement complémentaire et le travail d'équipe de mes directeurs de thèse : Aida Bairam, qui a toujours eu les mots justes, des conseils précieux, et dont le point de vue clinique a donné une dimension et une approche nouvelle à notre projet ; Vincent Joseph, pour sa disponibilité permanente afin de répondre avec calme et patience à mes questions, ses nombreux conseils, et son soutien pour que je puisse concilier travail et famille ; Vincent Pialoux, avec qui l'aventure a démarré en amont de la thèse, et qui a su m'encourager et m'apporter des critiques constructives pour me lancer dans ce parcours et le mener à bien. Merci !

Je remercie également les personnes que j'ai rencontrées sur mes différents lieux de travail : François Marcouiller, pour son accueil et son support professionnel et personnel tout au long de la thèse ; Mélanie Pelletier, pour son enseignement sur les chirurgies et son aide à l'animalerie ; Alexandra Lemoine, Anaëlle Boreau, Camille Faes, Pauline Mury et Sarah Skinner pour les travaux menés lors de mon congé de maternité ; Dr Richard Larivière, pour sa collaboration, son expertise et le prêt de matériels ; Richard Kinkead, Stéphanie Fournier, Elizabeth Elliot-Portal, Morgan Gazzola, Luana Tenorio Lopes, Sofien Laouafa, Roumiana Gulemetova, Hayet Kouchi, et de nombreuses autres personnes avec qui j'ai partagé lunches et activités en dehors du laboratoire. Merci !

J'exprime aussi ma gratitude envers ceux qui m'ont épaulé au quotidien, et nombreux savent que cette tâche n'est pas des plus faciles. Jean-Philippe Rousseau, avec qui j'ai tout d'abord partagé un bureau, puis qui s'est révélé être une aide précieuse et un ami sur qui j'ai toujours

pu compter, et aujourd'hui encore ; Audrey Cardinal, avec qui je me suis rapidement et facilement lié d'amitié, et qui forme avec Jean-Philippe mon couple de québécois préféré, bien que j'ai le regret de les voir partir pour l'Ontario ; Julien Toppan, alias « Wiki-Toppan », qui m'a poussé à explorer le Canada, de Vancouver à Percé, et à voir le monde sous un œil plus enjoué et plus généreux. Avec Simon Richard, qui a rejoint notre groupe privé en 2017, je ne puis compter les fous rires et les commérages que nous avons partagés ; Delphine Herbreteau pour son suivi de la météo québécoise hebdomadaire ; William Lambert, qui a lui aussi pris son envol de l'autre côté de l'Atlantique ; Cécile Baldy, Orlane Ballot et Orlane Rossignol, qui comprennent plus que quiconque les défis que rencontre une étudiante expatriée ; Mathieu Bourassa et Julie Roy avec qui j'ai partagé de nombreuses responsabilités. Merci !

Je remercie également mes amis de la Vieille France, avec une attention spéciale pour mes témoins de mariage : Sarah Jaccoud, celle qui m'a conseillé sur un choix de Master, choix qui m'a amené jusqu'ici, et qui m'a fait la surprise de venir me voir et de m'emmener à Toronto ; Clarisse Saunier, sans qui mes cours de Master 1 n'auraient pas été les mêmes, et que j'appelle encore aujourd'hui pour tout et rien ; Caroline Van Straaten Lambrinidis, mon ami d'enfance, qui attendait impatiemment ma date de soutenance pour venir au Québec, mais qui a finalement cédé avant, à mon plus grand plaisir. Merci !

Je souhaite, du fond du cœur, remercier ma famille : ma grande sœur Natacha, qui a le cœur sur la main et qui est toujours là pour moi quand j'ai besoin de réconfort ; Ma maman, Marie-Hélène, qui prend soin de moi comme si j'étais encore sa petite-fille ; Mon papa, Bernard, qui me pousse à être meilleure, à apprendre de mes erreurs et qui a toujours eu les paroles pour que je garde confiance en moi ; Delphine pour ton sourire communicatif, ta joie de vivre et nos FaceTime sans papa ; Mes beaux-parents, Florence & Laurent, pour votre bonne humeur, cette belle complicité que nous vivons alors que j'ai amené votre fils de l'autre côté de l'Atlantique ; Mes petits-frères, qui, chacun à leur manière me soutiennent et me font rire ; Christine pour ce lien fort qui persiste et qui m'est essentiel. Une pensée particulière pour mes mamies, Marie-Thérèse et Janine, et mon papi, Pierre ; une chance et un bonheur de vous avoir à mes côtés.

Merci, votre présence est essentielle, et chaque message, chaque Skype et chaque visite m'ont redonné l'énergie nécessaire pour continuer, dans les moments les plus difficiles comme dans les succès !

Enfin, je ne pourrai jamais assez remercier mon mari et meilleur ami, Sylvain Demars. Une complicité née il y a 8 ans et un parcours avec lui dont je suis tellement fière. Nous avons traversé l'Atlantique mais aussi de nombreuses épreuves qui nous ont unis. Ton soutien, ton aide, tes mots rassurants au quotidien m'ont permis d'être là où j'en suis. Merci du fond du cœur !! Sans oublier mes fils, Raphaël et Lucas, qui me donnent le sourire et une satisfaction chaque jour. Je vous aime.

Avant-propos

Le **chapitre I** de ce manuscrit fait référence à un article soumis le 8 mai 2018, accepté le 21 juin 2018 et publié dans le journal *Acta Physiologica* en juillet 2018. Les expérimentations présentées sont divisées en deux parties. La première, composée de l'expérimentation animale (chirurgie et caisson d'hypoxie intermittente) et des mesures systémiques (pression artérielle et réactivité vasculaire), a été réalisée à Québec (Canada), au Centre de Recherche du CHU de Québec. La deuxième, qui présente les résultats de dosages biochimiques (stress oxydatif) a été réalisée à Lyon (France) au Laboratoire Interuniversitaire de Biologie de la Motricité. J'ai participé à toutes les étapes de conception de ce travail : formulation de l'hypothèse, expérimentations, analyses et interprétations des résultats, et écriture de la publication scientifique. Je suis première auteure de cet article et sont cités comme co-auteurs mes deux directeurs de thèse (Aida Bairam et Vincent Pialoux), mon codirecteur de recherche (Vincent Joseph), un professionnel de recherche (François Marcouiller), une étudiante en maîtrise (Anaëlle Boreau) et le Dr Richard Larivière pour son expertise en réactivité vasculaire.

Ce **chapitre I** a été présenté dans différents congrès :

- Estradiol prevents endothelial dysfunction in an animal model of sleep apnea. *15th World Congress on Menopause*, Prague (Czech Republic), September 28th – October 1, 2016.
- Vascular effects of estradiol in an animal model of sleep apnea. *Hypoxia*, Nantes (France), October 6-7th 2016.
- Effets vasculaires de l'estradiol dans un modèle d'apnée du sommeil induit par l'hypoxie intermittente chronique. *Congrès Québécois en Santé Respiratoire*, Montréal (Canada), 2 au 5 Novembre 2016.
- Estradiol prevents vascular dysfunction and hypertension induced by intermittent hypoxia in female rats. *15th International Symposium on Sleep and Breathing*, Madison (USA), July 16th – 19th 2017.
- L'exposition prolongée de 35 jours à une hypoxie intermittente ne modifie pas la réactivité vasculaire de l'aorte. *Biennale de l'espace francophone de pneumologie 2017*, Québec (Canada), 12 au 14 Octobre 2017.

Le **chapitre II** de ce manuscrit présente une série d'expérimentations (stress oxydatif) réalisée avec des échantillons prélevés sur les mêmes animaux que ceux du chapitre I. Cette partie d'expérimentations a été réalisée à Lyon, au Laboratoire Interuniversitaire de Biologie de la Motricité. Ce chapitre n'a pas encore fait l'objet d'une publication dans un journal scientifique mais il est en préparation pour être soumis (au Journal Experimental Biology). Pour ce chapitre, j'ai également participé à toutes les étapes de conception : formulation de l'hypothèse, expérimentations, analyses et interprétations des résultats et écriture, et je serai également mise en première auteure.

Les résultats de ce **chapitre II** ont été présentés dans un symposium :

- Protective roles of estradiol against oxidative stress in the lungs of ovariectomized female rats exposed to intermittent hypoxia. *Symposium de la Société Legallois pour l'étude du contrôle respiratoire*, Orford, Québec (Canada), 18 au 20 Janvier 2019.

Introduction

DE LA PRESSION ARTÉRIELLE À L'HYPERTENSION

LA PRESSION ARTÉRIELLE

Découverte du paramètre cardiovasculaire

C'est au médecin anglais William Harvey (1578-1657) que nous devons la découverte de la circulation sanguine générale, qu'il a rendu publique dans un livre « Exercitatio Anatomica de Motu Cordis et Sanguinis in Animalibus », en 1628. Il avait émis l'hypothèse que les veines ramenaient constamment le sang de chaque organe dans le cœur, au travers d'un circuit fermé. Il a validé celle-ci par l'expérience du garrot (**figure 1 – gauche**) (McKenna 1987). Cependant, il fallut attendre l'année 1726 pour que Stephen Hales (1677-1761), physiologiste et chimiste britannique, mesure, pour la première fois, la pression artérielle. Cette mesure fut réalisée sur une jument, de manière invasive, avec une canule placée dans l'artère fémorale (avec un tube en verre d'une hauteur de 3 mètres) et a mis en évidence les variations de pression sanguine dans les artères. Il a observé que le sang montait dans le tube de verre lorsque le cœur battait et ceci représentait la force du sang (**figure 1 – droite**)(Booth 1977).

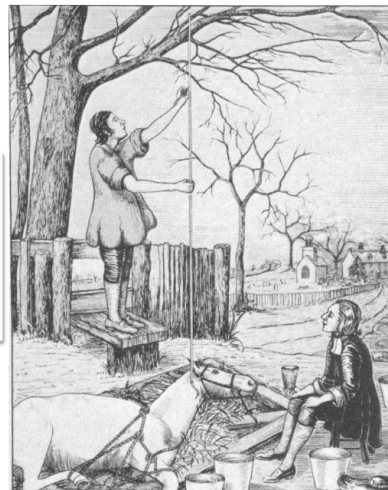


Figure 1 : Expérience du garrot d'Harvey. La compression du bras par un garrot en A fait ressortir les veines de l'avant-bras entraînant le gonflement des valvules B, C et D (à gauche) (McKenna 1987). Dessin représentant l'expérience de Hales, pour déterminer la pression artérielle sur une jument (à droite) (Booth 1977).

En 1860, les premiers dispositifs de mesures de la pression artérielle, non invasifs, sont inventés par le physiologiste français, Etienne Jules Marey, mais ne peuvent être utilisés qu'en laboratoire. C'est en 1880 que le sphygmomanomètre, appareil de mesure par le poignet, a été mis au point par le Professeur Siegfried Ritter Von Basch et permet alors d'être utilisé en dehors d'un laboratoire, par les médecins (**figure 2**). À Paris, en 1889, le professeur Pierre Carl Édouard Potain perfectionne le sphygmomanomètre, pour le rendre plus maniable, en utilisant de l'air plutôt que du liquide pour le mettre sous pression. Enfin, Scipione Riva-Rocci, pédiatre et interne italien, invente en 1896 le premier sphygmomanomètre à brassard pneumatique. Le brassard est relié à une colonne de mercure et à une poire en caoutchouc qui permet de le mettre en pression (**figure 2**). Cependant, le brassard n'est pas assez large pour obtenir des résultats fiables. C'est le neurochirurgien Harvey Cushing qui arrange ce défaut.

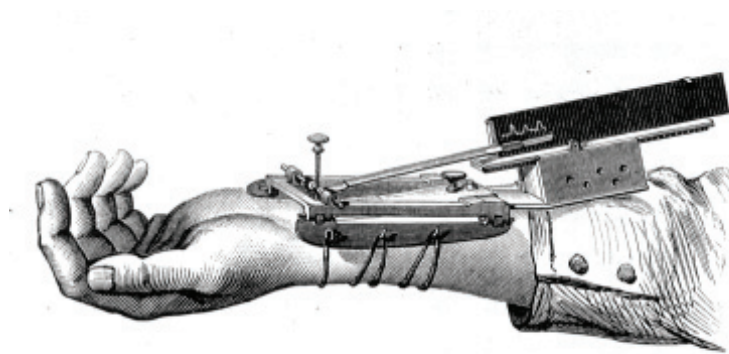
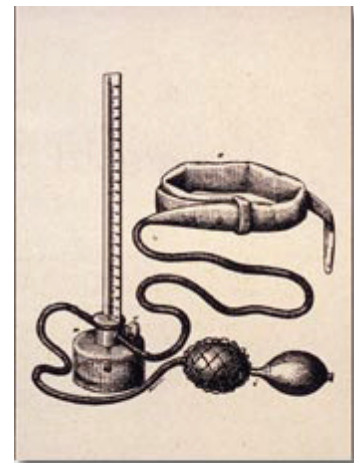


Fig. 142. Sphygmographe direct inscrivant le tracé du pouls.



Riva-Rocci's
sphygmomanometer (1896)

Figure 2 : Le premier sphygmomanomètre du professeur Siegfried Ritter Von Basch (à gauche). Le sphygmomanomètre de Scipione Riva-Rocci avec le brassard (à droite). Photos tirées du site Wikimedia Commons.

Définition

La pression artérielle (PA) est définie comme la pression exercée par le sang sur les artères dans la circulation systémique. Elle est fonction de la fréquence cardiaque, du volume d'éjection systolique et des mécanismes de contrôle des résistances sur la paroi artérielle.

Lorsqu'un médecin mesure la PA, deux valeurs sont affichées : la pression artérielle systolique, qui correspond à la pression obtenue pendant la contraction du cœur, et la diastolique, qui est la mesure prise entre deux contractions du cœur (**figure 3**).

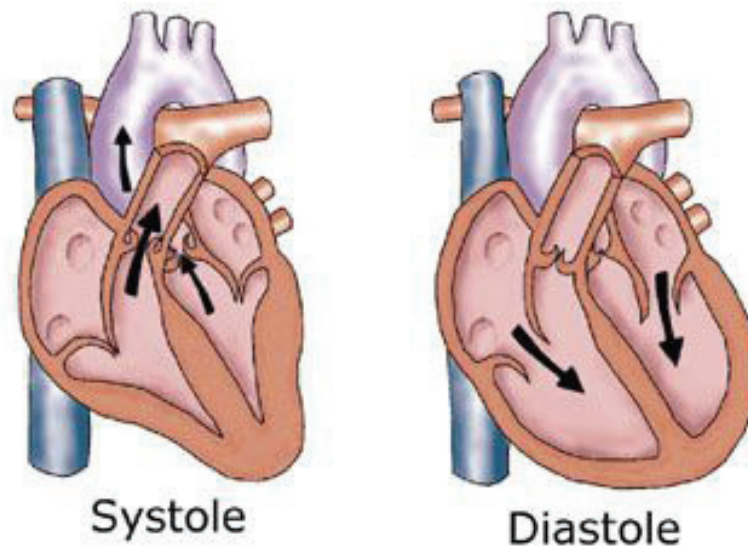


Figure 3 : Représentation schématique de la circulation sanguine lors de la systole et la diastole. Tirée du site ThoughtCo.com.

La PA normale chez un sujet sain varie entre 110 et 140 mmHg pour la systolique et entre 60 et 90 mmHg pour la diastolique. Les professionnels de la santé peuvent également parler de pression artérielle moyenne (PAM), qui se calcule selon l'équation suivante :

$$\text{Pression artérielle moyenne} = (\text{Pression artérielle systolique} + (2 \times \text{Pression artérielle diastolique})) \div 3$$

Dérèglements de la pression artérielle

L'hypotension artérielle

L'hypotension artérielle est un trouble cardiovasculaire qui correspond à une baisse de la PA (systole inférieure à 90 mmHg), le plus souvent passagère. Il en existe deux types : l'hypotension orthostatique, qui équivaut à une chute de pression après un lever trop rapide, et l'hypotension postprandiale, qui représente une baisse de pression naturelle après chaque

repas pour que le sang puisse affluer au système digestif afin d'assimiler les nutriments. Contrairement à l'hypertension artérielle, l'hypotension ne présente pas de complication grave, mais peut entraîner un malaise vagal. Ce choc vagal est attribué à une activité excessive du système nerveux orthosympathique ou à une baisse de l'activité du système sympathique. Bien qu'il n'y ait pas de symptôme pour ce trouble vasculaire, certains signes cliniques peuvent l'accompagner tels que vertiges, troubles de la vision, bouffées de chaleur, et jusqu'à des évanouissements dans les cas les plus sérieux.

La cause la plus fréquente de la baisse de pression est la perte importante de sang comme lors d'une hémorragie. Cependant, d'autres facteurs peuvent engendrer une chute de pression comme le choc vagal, la déshydratation, les varices ou les maladies du système nerveux (sclérose en plaques, maladie de Parkinson).

L'hypertension artérielle

L'hypertension artérielle (HTA) est une élévation de la PA non physiologique et persistante. En 1978, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) caractérise l'HTA par une pression artérielle systolique supérieure ou égale à 160 mmHg au repos et/ou une pression artérielle diastolique supérieure ou égale à 95 mmHg (« Hypertension Control. Report of a WHO Expert Committee » 1996). En 2003, l'HTA est redéfinie par une pression systolique supérieure ou égale à 140 mmHg et/ou une pression diastolique supérieure ou égale à 90 mmHg au repos, selon The Seventh Report of the Joint National Committee (JNC 7) (Chobanian et al. 2003). Enfin, en 2013, The European Society of Hypertension (ESH) et The European Society of Cardiology (ESC), publient un tableau avec la classification des différentes formes d'hypertension artérielle, qui est assez semblable à la classification faite par la JNC 7, mais avec plus de catégories (**tableau 1**) (Mancia et al. 2013).

Il faut savoir qu'il existe deux types d'HTA : lorsque la cause est inconnue, on parle d'HTA essentielle (90% des cas), alors que si la cause est connue (maladies cardiaques ou rénales, problèmes hormonaux), on parlera d'HTA secondaire (10% des cas).

	PAS (mm Hg)		PAD (mm Hg)
Classes du JNC 7			
Normal	< 120	et	< 80
Préhypertension	120-139	ou	80-89
Hypertension stade 1	140-159	ou	90-99
Hypertension stade 2	≥160	ou	≥100
Classes de ESH/ESC			
Optimal	<120	et	< 80
Normal	120-129	et/ou	80-84
Normal élevé	130-139	et/ou	85-89
Hypertension stade 1	140-159	et/ou	90-99
Hypertension stade 2	160-179	et/ou	100-109
Hypertension stade 3	≥ 180	et/ou	≥ 110

PAS, pression artérielle systolique; PAD, pression artérielle diastolique

Tableau 1 : Définition et classification des différentes formes d'hypertension artérielle selon JNC et ESH/ESC (Mancia et al. 2013).

L'HYPERTENSION : PATHOLOGIES À MULTIFACETTES

Rappels historiques

Dans l'ancienne médecine indienne et chinoise, la « qualité » du pouls, détectée par une palpation faite par un médecin, était un paramètre de l'état du système cardiovasculaire du patient (Esunge 1991). Ce qui était, à l'époque, appelé « pouls dur » pourrait, de nos jours, être considéré comme de l'hypertension artérielle. Il est impossible de parler des contributeurs au développement du concept moderne de l'hypertension, sans citer Akbar Mahomed. À la fin du XIXe siècle, Frederick Akbar Mahomed (1849–1884), un médecin irano-indien travaillant à l'hôpital de Guy à Londres, a réalisé de nombreux travaux permettant de décrire la physiopathologie de l'hypertension artérielle (Cameron et Hicks 1996). Dans des études cliniques détaillées, il a séparé les modifications vasculaires induites par une néphrite chronique (maladie de Bright) de celles d'une hypertension, appelée plus tard « hypertension essentielle ». De plus, Akbar Mahomed a contribué à démontrer qu'une pression artérielle élevée pouvait exister chez des individus apparemment en bonne santé, qu'elle était plus probable chez les personnes âgées et que le cœur, les reins et le cerveau

pouvaient être affectés par une PA élevée (Saklayen et Deshpande 2016). Il a également décrit que cette maladie pouvait se terminer par une néphrosclérose (durcissement des artères rénales) et une insuffisance rénale. Cependant, il faut attendre le début du XXe siècle, avec l'invention du tensiomètre à mercure et la description des pressions systolique et diastolique (bruits de Korotkoff entendus au stéthoscope), pour que le terme « hypertension artérielle » soit utilisé. Au milieu du XXe siècle, la pression artérielle devient une mesure de routine lors d'un examen physique du patient (Booth 1977).

Malgré la description de l'hypertension, celle-ci ne fut pas immédiatement reconnue comme une maladie. En novembre 1944, le médecin du président Franklin Roosevelt décrit un état de santé irréprochable de son patient malgré une pression artérielle systolique de 220 mmHg et diastolique de 120 mmHg. Plus tard, un second médecin signale que le président présente des signes de durcissement des artères, appelé à l'époque « maladie des artères » et déclare qu'il ne lui reste pas longtemps à vivre. Seulement deux mois plus tard, le président Roosevelt décède suite à un accident vasculaire cérébral (AVC) hémorragique. Sa mort a permis de mettre en évidence que l'hypertension était une maladie pouvant favoriser la mortalité (Saklayen et Deshpande 2016).

En 1948, l'étude The Framingham Heart Study a vu le jour et consistait à prouver que l'hypertension était associée à de nombreuses morbidités cardiovasculaires, telles que les AVC, les insuffisances cardiaques ou les crises cardiaques prématurées (Mahmood et al. 2014). Parallèlement, des sociétés d'assurance vie avaient déjà commencé à mesurer la PA des assurés, en se référant à des études montrant une corrélation positive entre la morbidité, la mortalité et une pression élevée (Kannel et al. 1970). Le débat sur la nécessité de diagnostiquer et traiter les patients avec une PA élevée est resté ouvert tout au long des années 1960. Le principal argument était que l'hypertension essentielle est une composante importante dans le processus du vieillissement et donc une maladie inévitable.

Par la suite, un grand nombre d'études ont été réalisées pour comprendre si l'hypertension était une affection bénigne ou une maladie mortelle (Saklayen et Deshpande 2016).

Diagnostic

Le diagnostic de l'HTA se fait généralement par le médecin généraliste lorsqu'il détecte des pressions systolique et diastolique élevées chez son patient. Avant de conclure à de l'HTA, les mesures doivent être répétées sur un minimum de trois consultations sur une période de trois à six mois. Lorsque le patient présente des antécédents personnels ou familiaux de maladies cardiovasculaires, le spécialiste doit être plus vigilant. De plus, le médecin doit tenir compte des facteurs qui peuvent augmenter ou diminuer la PA du patient, tels que la fatigue ou un effort avant la mesure.

Épidémiologie dans la population générale

L'hypertension artérielle est une épidémie qui touche plus d'un milliard de personnes et qui constitue le facteur de risque de décès le plus courant. À l'échelle mondiale, en 2004, sur un total de 58,8 millions de décès, l'hypertension artérielle était responsable de 12,8% soit 7,5 millions de décès (Kumar 2013). Par exemple, l'hypertension artérielle serait responsable de 51% des décès par maladies cérébro-vasculaires et de 45% des décès par cardiopathies ischémiques. *The World Health Statistics* estimaient, en 2012, que la prévalence de l'HTA était de 29,2% chez les hommes et de 24,8% chez les femmes (Kumar 2013). De plus, les chiffres que *The World Health Statistics* publient sont encore plus alarmants, puisqu'environ 90% des hommes et des femmes qui ne sont pas hypertendus entre 55 et 65 ans devraient présenter une augmentation de leur PA avant l'âge de 85 ans. Une autre étude, réalisée sur 968 419 adultes de 90 pays différents, avait recensé, en 2010, une prévalence de l'HTA de 31,5% chez les hommes et de 25,2% chez les femmes dans les pays développés (Mills et al. 2016).

Depuis 2006, aucune diminution de la prévalence de l'HTA n'a été observée en France. L'étude Esteban, réalisée entre 2014 et 2016 sur la population générale française (2171 adultes de 18 à 74 ans dont 44,8% sont des hommes), rapporte que 36,5% des hommes et 25,1% des femmes sont atteints d'HTA (Perrine, Lecoffre, et Olié 2018). L'étude met en avant que la prévalence augmente significativement avec l'âge, passant de 6,3% chez les 18-

34 ans à 67,8% chez les 65-74 ans. Elle démontre également que les hommes ont une prévalence d'HTA toujours plus importante que les femmes, pour toutes les tranches d'âges. Du côté des Canadiens, une étude de 2015 rassemblant cinq sources de données de la population générale conclut que la prévalence de l'HTA continue d'augmenter dans ce pays. Parallèlement, l'étude indique qu'il y a une augmentation de la prescription d'antihypertenseurs et une amélioration de la prise en charge (Padwal et al. 2016). Cette étude rapporte une prévalence de l'HTA chez les adultes de 22,6% avec 68,1% des patients pris en charge pour traiter ce trouble (médicaments antihypertenseurs).

D'ici 2025, l'OMS annonce qu'environ 1,5 milliard de personnes seront atteintes d'HTA, en raison du vieillissement de la population et du changement des habitudes de vie qui favorisent l'obésité et la sédentarité. L'HTA n'est pas limitée à une population ou une ethnie spécifique. Cependant, les personnes vivant dans des pays pauvres ont plus de risques de souffrir d'HTA (31,5%) que ceux vivants dans les pays industrialisés (28,5%) (Kumar 2013)(Mills et al. 2016).

Sexe et ménopause : facteurs de risques de l'hypertension artérielle

Les études sont en accord pour dire que les hommes sont plus à risques de développer de l'HTA que les femmes non ménopausées (Gillis et Sullivan 2016). On observe une différence d'environ 7 mmHg pour la PA systolique et de 5 mmHg pour la pression diastolique. Une enquête de « The National Health and Nutrition Examination (NHANE) (Go et al. 2013) » rapporte qu'avant 45 ans, la prévalence de l'HTA est plus élevée chez les hommes que chez les femmes alors qu'entre 45 et 64 ans, le pourcentage d'hommes hypertendus est similaire à celui des femmes. Enfin, après 65 ans, l'augmentation de la PA serait plus rapide chez la femme que chez l'homme (Go et al. 2013). Le dimorphisme sexuel semble donc s'atténuer, voire s'inverser, lorsque les femmes sont ménopausées (Hajjar et Kotchen 2003). Mais les scientifiques ne sont pas tous en accord pour dire que l'augmentation de la prévalence de l'HTA chez la femme est liée à la ménopause. Certains la voient comme une coïncidence chronologique puisque le risque de développer de l'HTA augmente vers 50 ans, âge moyen de l'apparition de la ménopause (Casiglia et al. 1996). Cependant, il existe une majorité de

résultats scientifiques qui affirment que les hormones ovariennes (estradiol et progestérone) protègent les femmes de l'HTA avant la ménopause (Ashraf et Vongpatanasin 2006) (Cannoletta et Cagnacci 2014).

L'HTA est un facteur de risque majeur de morbidité et de mortalité cardiovasculaires chez les femmes ménopausées (Thom et al. 2006). Des études ont prouvé que les femmes ménopausées ont une PA plus élevée, à la fois au repos et en réponse à un stress, que les femmes non ménopausées du même âge (Owens, Stoney, et Matthews 1993)(Giuseppe Mercurio et al. 2004). De plus, une étude qui consistait à suivre l'évolution de la PA sur 24 heures rapporte que les femmes ménopausées, comparativement à des femmes non ménopausées, ont des PA systolique et diastolique plus élevées la nuit et également un schéma de réduction de la PA jour-nuit réduit (Schillaci et al. 1998). En 2000, un suivi de cohorte réalisée sur 22 250 femmes italiennes démontre qu'à l'état post-ménopause le risque de développer de l'HTA est doublé (Amigoni et al. 2000). Enfin, une étude de 1998 a rapporté que les patientes atteintes du syndrome de Turner, une maladie génétique caractérisée par l'absence totale ou partielle d'un des chromosomes X et par une insuffisance ovarienne, présentent une PA moyenne plus élevée que celle des femmes en pré-ménopause du même âge. L'étude met également en avant que le schéma de fluctuation de la PA jour-nuit est semblable à celui des femmes ménopausées (Gravholt et al. 1998). Toutes ces études d'observations semblent impliquer un rôle protecteur des hormones ovariennes sur la régulation de la PA. En effet, il existe une forte association entre l'HTA et le faible niveau d'estrogène retrouvée dans le plasma des femmes en post-ménopause (Yeasmin et al. 2017). Le dimorphisme sexuel serait donc principalement médié par les œstrogènes qui semblent jouer un rôle sur le tonus vasculaire participant à son action cardio-protectrice.

En ce qui concerne les études réalisées sur les animaux, les résultats sont similaires à celles faites sur les humains. Une d'entre elles rapporte des différences entre les deux sexes dans le développement de l'HTA chronique induite par l'angiotensine II, un peptide impliqué dans le maintien du volume et de la pression artérielle. En effet, les souris femelles ne présentent pas d'augmentation de la PA après le traitement à l'angiotensine II, contrairement à la souris mâle (Xue, Pamidimukkala, et Hay 2005). Cependant, comme chez la femme, suite à l'ablation des ovaires (mimant la ménopause), des études démontrent que le rate présente une

élévation de la PA (Hernández et al. 2000)(Hinojosa-Laborde, Lange, et Haywood 2000). De plus, les souris mâles et femelles déficientes en récepteurs d'œstrogènes β (ER β) développent une HTA prolongée et une réponse vasoconstrictrice exagérée lors d'injection d'agonistes des récepteurs β -adrénergiques (Zhu et al. 2002). Dans le modèle animal, les œstrogènes semblent également jouer un rôle protecteur et cette capacité de protection des œstrogènes endogènes contre l'HTA semble dépendre de la présence de récepteurs intacts chez les deux sexes.

Autres facteurs de risques

Dans la plupart des études épidémiologiques, une corrélation entre l'âge et le développement de l'HTA est soulignée : plus les personnes sont âgées et plus le risque de développement de l'HTA est élevée (Wilkins et al. 2010)(Lacruz et al. 2015). Ceci peut être expliqué par le phénomène de rigidité des artères lié au vieillissement. On observe une augmentation progressive de la PA systolique tout au long de la vie, avec une différence de 20 à 30 mmHg entre les 18-20 ans et les plus de 65 ans. Une étude réalisée en 2010 sur la population canadienne (Wilkins et al. 2010) rapporte que l'HTA touche environ 19% des Canadiens entre 18 et 74 ans (résultats similaires à une étude réalisée en 1992 (Joffres et al. 1992) et que la prévalence augmente avec l'âge. Cependant, l'augmentation de la PA diastolique est moins marquée au cours des années (Whelton, He, et Muntner 2004).

Prise en charge

Le traitement de l'HTA passe par l'utilisation de médicaments antihypertenseurs mais également par une modification de l'hygiène de vie. Les traitements se prennent généralement pour une durée indéterminée et sont classés en 6 catégories :

- **Les diurétiques** qui diminuent la volémie en accroissant l'élimination urinaire par les reins de l'eau et du sodium. Il y en a deux classes : les hypokaliémants qui augmentent

aussi l'élimination du potassium et les hyperkaliémants qui favorisent la réabsorption du potassium.

- **Les β -bloquants** sont des antagonistes des récepteurs β adrénergiques du système nerveux autonome. Ils sont utilisés pour entrer en compétition avec les catécholamines et bloquer leur effet vasoconstricteur. Ils entraînent une diminution de la fréquence cardiaque et de la force de contraction des fibres du myocarde.
- **Les α -bloquants** sont des molécules entraînant une vasodilatation de façon directe au niveau des artérioles, par leur rôle d'antagoniste des récepteurs α_1 -adrénergiques post-synaptiques périphériques.
- **Les antihypertenseurs centraux** qui permettent de baisser le tonus sympathique périphérique et la PA, en exerçant un effet α_2 -sympathomimétique.
- **Les inhibiteurs du système rénine-angiotensine-aldostérone** qui sont également séparés en deux classes : les inhibiteurs de l'enzyme de conversion (IEC), qui ont pour rôle de diminuer la résistance vasculaire totale en bloquant la synthèse de l'angiotensine II, un vasoconstricteur puissant ; et les antagonistes des récepteurs de l'angiotensine II, qui ont une plus grande affinité pour le récepteur à l'angiotensine que l'angiotensine elle-même et qui, par conséquent, bloquent l'action de cette molécule en diminuant la disponibilité des récepteurs.
- **Les inhibiteurs calciques** s'opposent à l'ouverture des canaux calciques voltage-dépendants, empêchant l'entrée du calcium, responsable de la cascade de signalisation qui engendre la vasoconstriction, dans les cellules musculaires lisses des vaisseaux.

LES FACTEURS DE RÉGULATION DE LA PRESSION ARTERIELLE

De nombreux facteurs physiopathologiques sont impliqués dans la genèse de l'HTA essentielle comme le montre la **figure 4**. Dans cette partie, nous parlons des facteurs permettant de contrôler la PA et qui jouent un rôle dans le développement de l'HTA. Ces facteurs sont regroupés en trois classes : les centraux (système sympathique), les hormonaux et les locaux.

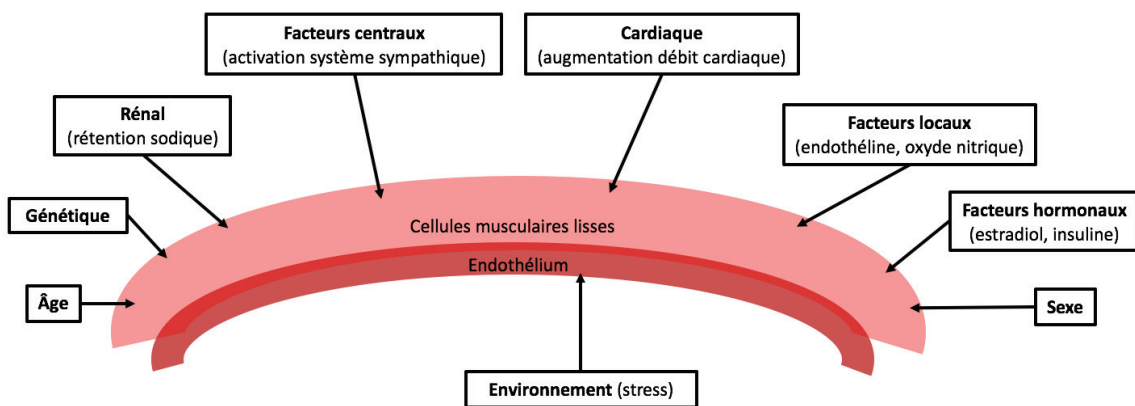


Figure 4 : Représentation schématique des différents mécanismes physiopathologiques responsables du développement de l'hypertension artérielle. Adaptée de (Oparil, Zaman, et Calhoun 2003)

Facteurs centraux: le système nerveux sympathique

Le système nerveux sympathique (SNS) est un des facteurs principaux qui permet de contrôler la PA. L'augmentation de l'activité du SNS entraîne une élévation de la PA, et contribue au développement et au maintien de l'HTA. En effet, la stimulation du cœur, des vaisseaux périphériques et des reins engendrent une augmentation du débit cardiaque, une résistance vasculaire accrue et une rétention hydrique, un des facteurs responsables de l'HTA (Mark 1996). De plus, le déséquilibre du système autonome (augmentation du tonus sympathique accompagné d'une réduction du tonus parasympathique) est associé à de nombreuses anomalies hémodynamiques, métaboliques et rhéologiques entraînant une augmentation de la morbidité et de la mortalité cardiovasculaires (Brook et Julius 2000). En 1999, une étude nommée CARDIA (Coronary Artery Risk Development in Young Adults)

réalisée sur de jeunes adultes entre 18 et 30 ans a mis en évidence un lien de cause à effet positif entre la fréquence cardiaque et le développement d'une HTA (augmentation de 1,3 mmHg de la diastole par 10 bpm) (Kim et al. 1999). Comme la plupart des études actuelles suggèrent que, chez l'humain, les augmentations maintenues de la fréquence cardiaque sont principalement dues à une diminution du tonus parasympathique, ces résultats confortent le concept selon lequel le déséquilibre du système nerveux autonome contribue à la pathogenèse de l'HTA. De plus, comme la pression diastolique est plus étroitement liée à la résistance vasculaire qu'à la fonction cardiaque, ces résultats suggèrent également qu'une augmentation du tonus sympathique peut augmenter la pression diastolique en provoquant une prolifération cellulaire du muscle lisse des vaisseaux artériels et un remodelage vasculaire.

Facteurs hormonaux : le système rénine – angiotensine – aldostérone

Le système rénine – angiotensine joue un rôle majeur dans la physiopathologie du système cardiovasculaire, tant du point de vue de la régulation de la PA que du remodelage vasculaire. Ce dernier correspond à toutes modifications de structures et de fonctions artérielle au cours de processus physiologiques et pathologiques. Ces modifications adaptatives sur le court terme peuvent s'accompagner de conséquences pathologiques sur le long terme. Une baisse de PA, liée à une diminution du volume sanguin, active la sécrétion de la rénine par les reins et va stimuler plusieurs afférents pour rétablir la volémie et la pression sanguine. En ce qui concerne l'angiotensine II, elle est synthétisée à partir de l'angiotensine I, elle-même clivée par la rénine à partir de l'angiotensinogène. Généralement, une augmentation de l'angiotensine II est observée 30 à 40 minutes suivant la baisse de PA et a pour rôle d'activer les mécanismes pouvant restaurer cette PA. En se fixant sur son récepteur AT₁R, l'angiotensine II active différents mécanismes : (1) stimuler le système nerveux sympathique pour augmenter le débit cardiaque, (2) entraîner une vasoconstriction des artérioles pour augmenter la résistance périphérique, (3) réabsorber le sodium et le chlore, et stimuler la sécrétion d'aldostérone pour augmenter la rétention hydro-sodée, (4) limiter la perte d'eau dans les urines via la sécrétion de vasopressine et stimuler la sensation de soif. Un dysfonctionnement de ce système engendre des conséquences sur la régulation de la PA.

Facteurs locaux : la fonction endothéliale et le remodelage vasculaire

La paroi vasculaire est formée de cellules endothéliales, de cellules musculaires lisses et de fibroblastes qui interagissent pour former un complexe autocrine-paracrine. Les cellules endothéliales composent l'endothélium, la couche interne des vaisseaux qui est la source et la cible de multiples facteurs de croissances et de médiateurs vasculaires. Ces cellules sont particulièrement sensibles aux variations de la tension appliquée sur les vaisseaux et aux changements de composition du sang (Hirata et al. 2010). Par conséquent, la fonction endothéliale permet de réguler localement la PA en contrôlant les propriétés biochimiques et physiques des vaisseaux. Tout d'abord, au niveau biochimique, l'endothélium peut sécréter de l'oxyde nitrique (NO), puissant vasodilatateur, et/ou de l'endothéline-1 (ET-1), un vasoconstricteur, pour réguler le tonus vasculaire. Chez les personnes hypertendues, l'équilibre entre les substances vasoconstrictrices et les vasodilatatrices est rompu, conduisant à un dysfonctionnement de l'endothélium qui contribue au maintien de l'HTA (Atkeson et al. 2009). Au niveau des propriétés physiques, lorsque la paroi vasculaire détecte des modifications de l'environnement ou intègre des signaux de communication intercellulaires, elle modifie sa structure afin de faire face aux changements : on parle de remodelage vasculaire (Renna, de las Heras, et Miatello 2013). Ce phénomène implique les quatre processus cellulaires, soit la croissance, la migration, la mort cellulaire et la synthèse ou la dégradation de la matrice extracellulaire. L'atteinte des grosses artères est dominée par l'hypertrophie excentrique, l'augmentation de la rigidité et la perte de compliance. Cette augmentation de rigidité dépend du territoire artériel : elle est importante pour l'aorte, modérée pour les artères élastiques et paradoxalement diminuée pour les artères musculaires. Ce remodelage vasculaire peut contribuer à la physiopathologie des maladies vasculaires et aux troubles circulatoires (Gibbons et Dzau 1994).

L'HYPERTENSION ARTÉRIELLE ET LES MALADIES ASSOCIÉES

L'HTA est une pathologie à multifacettes, car elle peut être la cause de plusieurs maladies cardiovasculaires et, en même temps, être la conséquence d'autres maladies. À titre indicatif, une brève liste des pathologies fortement attachées au développement de l'HTA est présentée ci-dessous.

La présence d'HTA chez les patients peut entraîner le développement de plusieurs maladies cardiovasculaires telles que les maladies coronariennes (Kannel 1996), l'hypertrophie ventriculaire gauche (Gerds et al. 2008), l'insuffisance cardiaque (Roger et al. 2004), la fibrillation auriculaire, l'anévrisme de l'aorte abdominale (Selvin et Erlinger 2004) ou encore les accidents vasculaires cérébraux hémorragiques (Wang Yilong et al. 2013).

Concernant les maladies pouvant engendrer de l'HTA, la littérature met principalement en avant l'obésité, le diabète de type II, les maladies pulmonaires obstructives chroniques et le syndrome de l'apnée du sommeil (SAS). Au cours de ces dernières années, plusieurs études transversales et données épidémiologiques ont suggéré une relation bidirectionnelle entre l'HTA et le SAS (Nieto et al. 2000)(Lavie, Herer, et Hoffstein 2000)(Bixler et al. 2000). Le SAS apparaît chez 70 à 85% des patients avec une HTA résistante (constamment élevée malgré les traitements appliqués) (Cohen et Townsend 2013)(Torres, Sánchez-de-la-Torre, et Barbé 2015) et 60% des patients apnéiques non traités auraient trois fois plus de risques de développer de l'HTA (Nieto et al. 2000)(Peppard, Young, Palta, et Skatrud 2000). De plus, le risque de développer de l'HTA chez les patients atteints d'apnée obstructive du sommeil est plus élevée chez les hommes que chez les femmes(Cano-Pumarega et al. 2017a). Ces résultats ont mené les scientifiques à penser que le SAS est la cause la plus fréquente d'HTA secondaire (Cano-Pumarega et al. 2011). Depuis les années 2000, il a été démontré que les cycles d'hypoxie – réoxygénation, qui se produisent lors des apnées – hypopnées, sont impliqués dans le développement de l'HTA. En effet, il a été reporté que des sujets sains ayant été exposés à un protocole d'hypoxie intermittente ont une augmentation de la PA moyenne diurne après une journée d'exposition (Foster et al. 2009)(Tamisier et al. 2011).

L'APNÉE DU SOMMEIL

UNE MALADIE ANCIENNE MAIS TOUJOURS D'ACTUALITÉ

Pour comprendre comment le syndrome de l'apnée du sommeil est devenu une maladie reconnue dans les années 1970, il faut commencer par évoquer le roman de Charles Dickens, publié en 1837, intitulé *Les papiers posthumes du Pickwick*, mais aussi connu sous le nom *Aventures de Monsieur Pickwick*. Un des personnages du livre, prénommé Fat boy, est décrit comme un garçon gras atteint d'une somnolence invincible et incontrôlable. En 1956, Burwell et ses collaborateurs comparent les symptômes de ce personnage au syndrome d'obésité extrême associée à l'hypoventilation alvéolaire et à la polycythémie (augmentation anormale des érythrocytes circulants) et décrivent pour la première fois le *syndrome de Pickwick* (Bickelmann et al. 1956)(Burwell et al. 1994). En 1959, une étude confirme les propos de l'équipe de Burwell, en affirmant que le dysfonctionnement cardiorespiratoire le plus caractéristique chez les patients obèses est l'hypoventilation, mise en évidence par une pression artérielle en dioxyde de carbone (PaCO₂) élevée (Hackney et al. 1959). À cette époque, aucun lien n'est fait entre la fatigue excessive et des désordres respiratoires durant le sommeil.

C'est en 1962 que le sommeil de ces « Pickwickiens » a été analysé pour la première fois, par l'équipe de Drachman et Gumnit, montrant alors des pauses respiratoires associées à des variations du rythme cardiaque (Drachman et Gumnit 1962). Cependant, c'est uniquement en 1965 que le terme « apnée » est associé au syndrome Pickwick, par le médecin biologiste et neurophysiologiste Henri Gastaut (Gastaut, Tassinari, et Duron 1965). Son étude met alors en avant que ces apnées répétées durant le sommeil proviennent de l'obstruction des voies aériennes supérieures des patients. Ils affirment que la somnolence diurne et la fatigue excessive sont les conséquences de perturbations durant le sommeil.

Dans les années 1970, les premières études concernant les désordres respiratoires durant le sommeil commencent à être publiées. En 1972, un neurologue français, Christian Guilleminault, qui travaille à la Clinique des troubles du sommeil de l'Université Stanford aux États-Unis, s'intéresse à des rapports publiés par le chercheur italien Elio Lugaresi, qui

mettent en avant une HTA nocturne chez les patients qui ronflent. Guilleminault et ses collaborateurs décident de surveiller la PA systémique et pulmonaire chez les patients endormis (la PA pulmonaire est une augmentation de la pression de la circulation pulmonaire pouvant s'expliquer par une sténose ou une obstruction des vaisseaux pulmonaires). Ils remarquent que lorsque le patient s'endort, il commence à ronfler et à faire des pauses respiratoires (apnées) qui sont associées à des élévations importantes de leur PA (Guilleminault, Eldridge, et Dement 1974). C'est en 1976 qu'une étude clé est publiée par ce neurologue, où on y trouve, pour la première fois, le terme de *syndrome d'apnée du sommeil* (Guilleminault, Tilkian, et Dement 1976). Cette étude, qui se base sur des enregistrements polysomnographiques, met en avant la relation entre la somnolence diurne et l'obstruction des voies aériennes supérieures chez des patients non-obèses. C'est également une étude pionnière sur une possible corrélation entre les désordres respiratoires durant le sommeil et l'HTA (Guilleminault, Tilkian, et Dement 1976).

Il faut attendre les années 1980 pour que les médecins prennent en considération cette maladie et commencent à recenser les patients. C'est aux États-Unis en 1988, à l'Université du Wisconsin, que la première grande cohorte, nommée *The Wisconsin Sleep Cohort*, a été obtenue pour étudier rigoureusement la prévalence du SAS. Elle était composée de 602 employés, hommes et femmes, âgés de 30 à 60 ans. En 1993, la première étude épidémiologique sur une population générale est publiée grâce à cette cohorte et rapporte que 4% des hommes et 2% des femmes sont atteints du SAS (Young et al. 1993). Aujourd'hui, cette étude sert encore de référence lorsqu'il est question de prévalence d'apnée du sommeil dans la population générale malgré les nombreuses études publiées par la suite (Young, Peppard, et Gottlieb 2002)(Franklin et Lindberg 2015)(Senaratna et al. 2017).

LA DÉFINITION ET LES CARACTÉRISTIQUES DU SAS

Définition

Le SAS se caractérise par des périodes d'arrêt du flux respiratoire (apnée) et des périodes de respiration réduite de 50 % (hypopnée) survenant pendant plus de 10 secondes. Ces événements ont une physiopathologie similaire puisqu'ils engendrent tous les deux des désaturations en oxygène dans le sang (hypoxémie), et sont généralement considérés comme égaux en ce qui concerne leurs effets sur les patients (« Sleep-Related Breathing Disorders in Adults: Recommendations for Syndrome Definition and Measurement Techniques in Clinical Research. The Report of an American Academy of Sleep Medicine Task Force » 1999)(Flemons et al. 2003). Lorsqu'un patient est atteint du SAS, les apnées et hypopnées s'enchaînent, entraînant des phases d'hypoxie (diminution de la pression partielle en oxygène au niveau artériel et tissulaire) et des phases de réoxygénation lors de la reprise de la respiration. Ces cycles récurrents d'hypoxémie intermittente (phase de désaturation en oxyhémoglobine – phase de réoxygénation) sont fortement impliqués dans les conséquences cardio-vasculaires observées chez les patients apnéiques.

Différents types d'apnée du sommeil

En 1999, *l'American Academy of Sleep Medicine* a mis en place une définition standard concernant les désordres respiratoires du sommeil et a classé les syndromes d'apnées – hypopnées du sommeil en trois types (« Sleep-Related Breathing Disorders in Adults: Recommendations for Syndrome Definition and Measurement Techniques in Clinical Research. The Report of an American Academy of Sleep Medicine Task Force » 1999).

Syndrome d'apnées – hypopnées obstructives du sommeil (SAHOS)

C'est la forme la plus fréquemment observée (90% des cas) et souvent associée à des ronflements. Elle se traduit par un arrêt du flux aérien naso-buccal pendant au moins 10 secondes (soit 2 cycles respiratoires) et est liée à une obstruction totale (apnée) ou partielle (hypopnée) des voies aériennes supérieures, tout en conservant les mouvements thoraco-

abdominaux (**figure 5-a**). Lors de la réouverture partielle des voies aériennes supérieures, la respiration reprend bruyamment et pour une courte durée avant la prochaine apnée. Étant donné que c'est la forme la plus couramment diagnostiquée et étudiée, nous parlerons principalement du SAHOS dans ce manuscrit.

Syndrome d'apnées – hypopnées centrales du sommeil (SAHCS)

C'est une forme plus rarement observée. Elle est également caractérisée par des épisodes d'apnées – hypopnées de plus de 10 secondes, mais contrairement au SAHOS, il n'y a pas d'obstruction des voies aériennes supérieures. Pour ce syndrome, le dysfonctionnement a lieu au niveau des centres respiratoires, dans le tronc cérébral. On parle d'arrêt de la commande respiratoire par les centres nerveux avec une interruption simultanée du flux aérien et des mouvements respiratoires thoraco-abdominaux (**figure 5-b**). L'apnée centrale du sommeil la plus courante est la respiration de Cheyne-Stokes, décrite en 1818 par le Docteur John Cheyne et par le Docteur William Stokes en 1854. Le SAHCS est plus souvent associé à une pathologie ou un traumatisme cérébral (AVC, tumeur cérébrale, maladies neurologiques) et/ou une insuffisance cardiaque.

Syndrome d'apnées – hypopnées mixtes du sommeil (SAHMS)

Comme son nom l'indique, c'est une combinaison des caractéristiques du SAHOS et du SAHCS. Initialement, ce syndrome est provoqué par un mécanisme central, c'est-à-dire un arrêt de l'effort respiratoire et se terminent par un mécanisme obstructif, c'est-à-dire que l'apnée se poursuit malgré la reprise des efforts ventilatoires (**figure 5-c**).

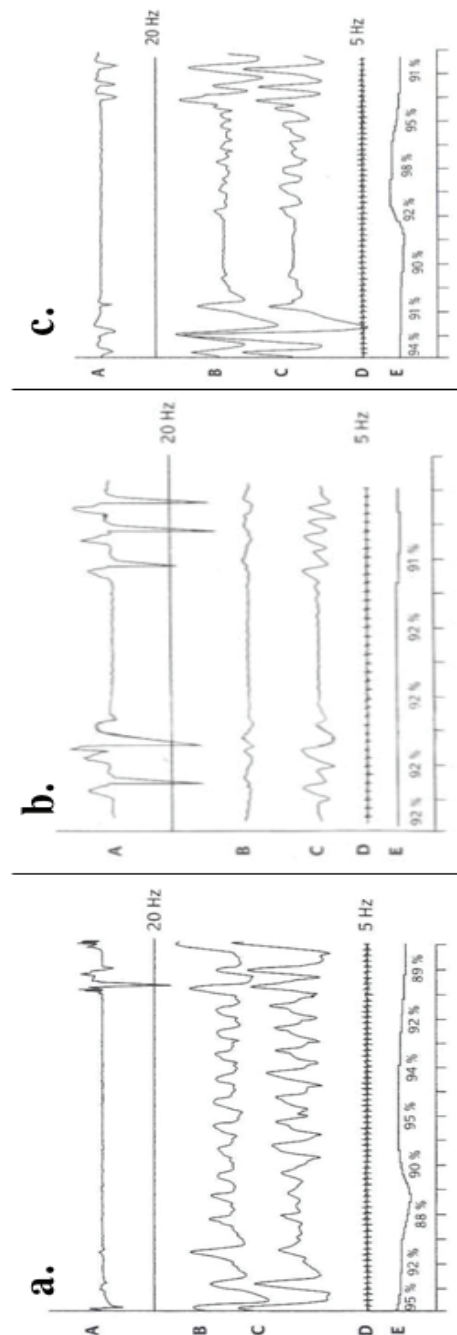


Figure 5 : Enregistrements de polygraphie ventilatoire d'une apnée obstructive (a), centrale (b) et mixte (c). Légende : flux naso-buccal (A) ; mouvements thoraciques (B) ; mouvements abdominaux (C) ; électrocardiogramme (D) ; saturation en oxygène (E). D'après le livre Polysomnographie-ventilatoire. Tirée de l'exploration fonctionnelle respiratoire en pneumologie, chapitre 9. Orvoën-Frija E., 2004.

Sévérité de la maladie

Le principal critère utilisé par les médecins pour définir la sévérité du SAHOS est l'indice d'apnée – hypopnée (IAH). Cet indice correspond au nombre moyen de perturbations respiratoires significatives (nombre d'apnées + nombre d'hypopnées) par heure de sommeil. Si l'IAH est inférieur à 5, le patient est dans la moyenne de la population et ne présente pas de signe d'apnée du sommeil ; si l'IAH est compris entre 5 et 15, on parle de syndrome léger ; entre 15 et 30, c'est un syndrome modéré ; et s'il est égal ou supérieur à 30, c'est un SAHOS sévère (Escourrou et al. 2010).

Le deuxième critère utilisé par les spécialistes est le niveau de somnolence diurne du patient. Ce niveau de somnolence en journée va dépendre essentiellement de la fragmentation et de la réduction du sommeil nocturne, et peut être classé selon sa répercussion sur le quotidien de la personne.

PRÉSENTATION CLINIQUE DE L'APNÉE DU SOMMEIL

Épidémiologie dans la population générale

Les premières études épidémiologiques sur la population générale datent des années 1990. Cinq études majeures faites entre 1993 et 2015 ont été retenues et sont présentées dans le **tableau 2**. Les critères principalement utilisés sont le sexe, l'âge et le statut de ménopause ou non chez la femme. Les études s'intéressent généralement aux deux composantes permettant de classer la maladie, c'est-à-dire à l'IAH et à la somnolence diurne. Le tableau présente les prévalences en trois colonnes : les deux premières colonnes recensent les sujets avec des désordres respiratoires durant le sommeil avec un IAH supérieur ou égal à 5 événements par heure de sommeil et un IAH supérieur ou égal à 15/heure. La dernière colonne correspond à la prévalence des patients présentant des symptômes diurnes du SAS, en plus d'avoir un IAH supérieur ou égal à 15/heure.

La première étude a été réalisée avec la cohorte du Wisconsin, en 1993 (Young et al. 1993). Cependant, cette étude n'est pas forcément la plus représentative de la population générale étant donné qu'elle a été réalisée sur des employés d'une même entreprise. La deuxième étude est celle de l'équipe de Bixler, en 1998, qui s'est intéressée aux prévalences des désordres respiratoires durant le sommeil dans une population masculine, en comparant trois classes d'âges (Bixler et al. 1998). En 2001, la même équipe réalise la troisième étude que nous avons retenue, qui vise une population féminine en séparant les femmes en pré-ménopause et celles en post-ménopause (Bixler et al. 2001). En 2002, une nouvelle étude sur les femmes est publiée, avec des prévalences plus hautes que celles de Bixler (Young et al. 2002). L'étude HypnoLaus est publiée en 2015, par une équipe de Lausanne en Suisse, et présente une analyse plus complète. La prévalence du SAS est plus élevée que les études précédentes, mais les auteurs l'expliquent par la sensibilité accrue des techniques d'enregistrements et des critères de notation stricts (Heinzer et al. 2015). Cette étude a permis de mettre en avant les facteurs de risques de la maladie comme le sexe, l'âge, le poids et l'indice de masse corporel, le ronflement et la consommation d'alcool et de tabac.

Une revue systématique de 2017 recensant toutes les études faites depuis les années 1980 sur la prévalence du SAS met en évidence que ce syndrome est une pathologie très répandue à la fois dans la population générale et dans des sous-groupes de population (Senaratna et al. 2017). On remarque que la prévalence augmente avec le temps, ce qui pourrait être attribuée, en partie, à l'évolution des techniques d'analyses réalisées pour détecter et classer les événements respiratoires (BaHammam et al. 2014). Cependant, de nos jours, c'est une maladie qui est encore sous diagnostiquée, malgré les connaissances acquises par les professionnels de la santé et par la sensibilisation du public. Aux États-Unis, une étude rapporte que 80% des patients ne sont ni diagnostiqués ni traités (Kapur et al. 2002). Nous observons également que les femmes sont particulièrement mal diagnostiquées avec un ratio homme / femme de 8 : 1 dans les centres du sommeil, pour une prévalence du SAS de 2 : 1 (Mallampalli et Carter 2014).

Nom de l'équipe / Référence de l'étude / date	N	Critères de l'étude	IAH \geq 5	IAH \geq 15	SAS
Équipe de Young – Cohorte du Wisconsin – 1993	602	Homme	24	9,1	4
		Femme	9	4	2
Équipe de Bixler – 1998	741	Hommes (20 à 44 ans)	NE	3,2	NE
		Hommes (45 à 64 ans)	NE	11,3	4,7
		Hommes (>65 ans)	NE	18,1	1,7
Équipe de Bixler – 2001	1000	Femmes pré-ménopausées (20 à 44 ans)	NE	0,6	0,6
		Femmes post- ménopausées (45 à 64 ans)	NE	3,9	1,9
Équipe de Young – 2002	589	Femmes pré-ménopausées	10,8	3,6	NE
		Femmes post- ménopausées	29,1	11	NE
Équipe de Heinzer – Cohorte HypnoLaus –2015	1024	Hommes < 60 ans	40	22	6,5
		Hommes > 60 ans	25	33	2,5
	1097	Femmes < 60 ans	32	10	4,4
		Femmes > 60 ans	43	20	2,4

Tableau 2 : Récapitulatif des cinq études publiées entre 1993 et 2015, présentant les prévalences (en %) des désordres respiratoires durant le sommeil et du syndrome de l'apnée du sommeil. N : nombre de sujets ; IAH : Indice apnée/hypopnée (événements/heure de sommeil) ; SAS : syndrome d'apnée du sommeil ; NE : non étudié.

La ménopause : facteur de risques du SAHOS

Les études épidémiologiques citées ci-dessus suggèrent que les hommes sont plus sujets que les femmes à développer un SAHOS, avec une prévalence 2 à 3 fois plus importante (Young et al. 1993)(Bixler et al. 2001)(Valipour 2012). Cependant, il a été démontré qu'après la

ménopause, le pourcentage des femmes souffrant du SAHOS augmente jusqu'à atteindre des taux égaux à celui des hommes (Bixler et al. 2001)(Young et al. 2003). Les femmes en post-ménopause présentent alors plus de risques de développer un SAHOS que les femmes en pré-ménopause, suggérant un rôle hormonal dans la physiopathologie de ce syndrome (Bixler et al. 2001). Deux études ont plus précisément mis en évidence cette augmentation de prévalence du SAHOS en post-ménopause. La première, de l'équipe de Bixler, a été publiée en 2001 (Bixler et al. 2001) et la seconde, qui a utilisé la cohorte du Wisconsin, a été publiée en 2003 (Young et al. 2003).

La ménopause est marquée par la cessation de l'ovulation et de la sécrétion par les ovaires des hormones sexuelles. Par conséquent, la principale hypothèse pour expliquer cette augmentation de prévalence à ce moment de la vie est que les hormones sexuelles protègent les femmes contre les apnées du sommeil. En effet, une étude a démontré que le niveau d'hormones sexuelles (particulièrement la progestérone) est plus faible chez les femmes ménopausées faisant des apnées du sommeil (IAH ≥ 10) que chez les femmes ménopausées ne présentant pas de syndrome d'apnée du sommeil (IAH < 10) (Netzer, Eliasson, et Strohl 2003). Une autre étude indique que chez les femmes ménopausées qui ont un IAH supérieur à 15 les niveaux d'estradiol sont inférieurs à ceux des femmes ayant un IAH inférieur à 15. Cet effet disparaît si les tests sont corrigés avec l'IMC et l'âge (Galvan et al. 2017). Cette étude porte toutefois sur un nombre limité de femmes (n=30). Les auteurs concluent que le niveau d'estradiol, l'âge et l'IMC pourraient être des facteurs de risques du développement de le SAHOS.

Certaines études réalisées sur des femmes ménopausées et recevant des traitements hormonaux (TH) suggèrent que ces traitements diminuent le risque de développer des apnées du sommeil. En 1994, une étude indique que le remplacement hormonal (estrogènes conjugués équin et médroxy-progestérone) à court terme (50 jours) est peu susceptible de jouer un rôle efficace contre le SAHOS chez les femmes ménopausées. Cependant, ils ont observé une réduction de l'IAH durant le sommeil paradoxal, suggérant qu'un traitement à long terme pourrait avoir des effets bénéfiques (Cistulli et al. 1994). Plus tard, en 2003, une étude atteste qu'effectivement, les femmes qui prennent un TH (combinaison de progestérone et estradiol) présentent une baisse de 30% de leur IAH (Shahar et al. 2003). C'est une

conclusion que Bixler et ses collègues avaient également obtenue en 2001 sur la base des résultats suivants : la prévalence du SAHOS chez les femmes ménopausées sans TH est significativement plus élevée que chez les femmes ménopausées avec un TH (2,7% versus 0,6%; $p=0,02$) (Bixler et al. 2001).

Autres facteurs de risques

L'obésité est également considérée comme l'un des facteurs de risques principaux dans le développement et la progression du SAHOS (Resta et al. 2001)(Fritscher et al. 2007). Des études ont démontré que la prévalence de l'apnée du sommeil est quasiment doublée chez les patients obèses (indice de masse corporelle (IMC) $\geq 30\text{kg/m}^2$) comparativement à des adultes de poids normal (Romero-Corral et al. 2010) et que 41% des patients avec un SAHOS léger (IAH entre 5 et 15 apnées/heure) sont obèses (Young et al. 2002). De plus, un patient atteint du SAS léger court un risque 6 fois plus important de progression de la maladie quand il a une élévation de 10% de son poids corporel, mais une perte de poids équivalente peut engendrer une amélioration de la sévérité du SAS (Peppard, Young, Palta, Dempsey, et al. 2000).

L'origine ethnique aurait une influence sur la prévalence du SAS selon les facteurs morphologiques cranio-faciaux prépondérants (Redline et al. 1997)(Lin et al. 2018). Dans la population asiatique, la prévalence du SAS est comparable à celle d'une cohorte nord-américaine ou européenne, cependant, les asiatiques ont une sévérité de la maladie plus importante, notamment à cause de l'anatomie cranio faciale (Li et al. 1999)(Lee et al. 2010). Une autre étude rapporte que la prévalence du SAS et des maladies cardiovasculaires associées est plus élevée dans les populations africaines (Olafiranye et al. 2013).

Les antécédents familiaux sont aussi à prendre en compte, tels que la présence d'un SAS chez un autre membre de la famille, des maladies cardiovasculaires, un AVC ou du diabète. Enfin, la prise de certains médicaments, d'alcool ou de tabagisme sont aussi des facteurs de risques (Scanlan et al. 2000).

Prise en charge

Pression positive continue (PPC)

C'est en 1981, en Australie, que le Docteur Colin Sullivan développe le premier traitement non invasif, un appareil à pression positive continue (PPC), qui permet d'empêcher le collapsus pharyngé (Sullivan et al. 1981). L'application par voie nasale (masque ou canule nasale) de PPC, lors du sommeil, est pour le moment la thérapie qui est considérée comme la plus efficace pour limiter les conséquences du SAS. Le dispositif est composé d'un masque que le patient porte la nuit ou lors des siestes (**figure 6**). L'appareil délivre des débits d'air (20 à 60 L/min) dans les voies aériennes supérieures, ce qui entraîne une augmentation du volume pharyngé et permet une inspiration spontanée sans risque de collapsus. Ce traitement permet de réduire le nombre d'événements apnéiques durant le sommeil et ainsi de réduire les conséquences cardiovasculaires et métaboliques en diminuant la PA moyenne à des valeurs acceptables (Iftikhar et al. 2014). Il présente de bons résultats, surtout pour les conséquences telles que l'HTA (Alajmi et al. 2007) et la somnolence diurne. Les mécanismes sous-jacents des effets bénéfiques de la PPC sont encore à l'étude et semblent agir, en particulier, par l'amélioration de la fonction endothéliale (Schwarz et al. 2015) en potentialisant la dilatation des vaisseaux. La PPC joue aussi un rôle en limitant en partie les anomalies métaboliques, (en augmentant, par exemple, la sensibilité à l'insuline) (Iftikhar et al. 2015). Cependant, la PPC reste un traitement avec des contraintes (encombrant, bruyant) et n'est pas tolérée par tous les patients. En France, une étude rapporte un taux d'adhérence au traitement de 59%, mais avec un refus initial de 3,7% des patients, un pourcentage d'abandon de 15% et une poursuite du traitement (avec une durée quotidienne insuffisante) pour uniquement 22% des patients (Gagnadoux et al. 2011).

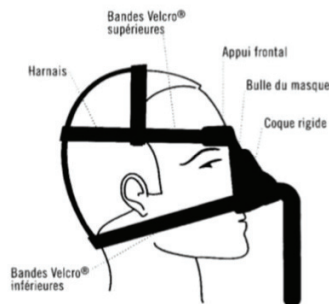


Figure 6 : Schématisation d'un masque de Pression Positive Continue (PPC).

Les traitements médicamenteux

Bien que la recherche sur ce front avance rapidement, les traitements médicamenteux généraux demeurent plutôt rares. Cependant, trois molécules ressortent d'une étude publiée en 2009 (Kohler, Bloch, et Stradling 2009). La Protriptyline, un antidépresseur non sédatif qui augmente le tonus des muscles des voies aériennes supérieures (Bonora, St. John, et Bledsoe 1985), mais qui n'a pas d'effet significatif sur l'IAH (Brownell et al. 1982). La Mirtazapine, un autre antidépresseur qui, selon les études fondamentales sur les animaux, permet de favoriser la libération de sérotonine dans le cerveau et de diminuer le nombre d'événements apnéiques (Carley et Radulovacki 1999). En contrepartie, des études indiquent des effets secondaires liés à cette molécule et aucun effet significatif sur la sévérité de la maladie (Marshall et al. 2008). Enfin, la Physostigmine, un inhibiteur de l'activité de l'acétylcholine estérase qui conduit à la contraction musculaire et qui permet de diminuer la sévérité du SAHOS (Gilman et al. 2003).

Récemment, des études préliminaires ont suggéré que l'extrait synthétique du cannabis médical, le Dronabinol, pourrait améliorer la stabilité respiratoire et apporter un bénéfice dans le traitement du SAHOS (Carley et al. 2018)(Ramar et al. 2018). Néanmoins, les effets indésirables tels que la somnolence liée à ce traitement sont encore inconnus. Il faut savoir que le Dronabinol n'est pas approuvé par la *Food and Drug Administration* aux États-Unis et que l'*American Academy of Sleep Medicine* (AASM) estime que le cannabis médical et ses extraits synthétiques ne doivent pas être utilisés pour le traitement du SAHOS, en raison d'un manque de preuves d'efficacité et le peu de connaissance concernant la tolérance.

LES ÉTUDES FONDAMENTALES SUR LES CONSÉQUENCES VASCULAIRES DU SAS.

Les modèles d'hypoxie intermittente.

En physiopathologie, les épisodes d'hypoxie intermittente (HI) sont fréquemment observés dans différentes maladies comme le SAHOS, les maladies pulmonaires obstructives chroniques, la fibrose pulmonaire ou l'asthme. Une désaturation suivie d'une réoxygénation sont caractéristiques de cette HI. Cependant, la sévérité, la fréquence et la durée des épisodes ne sont pas les mêmes selon la maladie. C'est pour mieux comprendre les conséquences de ces cycles récurrents d'hypoxie que des modèles expérimentaux, appelés modèles d'HI, ont été mis au point au cours des 30 dernières années (Navarrete-Opazo et Mitchell 2014).

Depuis 1992, plusieurs modèles animaux d'HI ont été développés pour étudier les liens entre les conséquences systémiques et cellulaires du SAHOS, sans facteurs confondants (Fletcher, Lesske, Behm, et al. 1992a)(Peng et Prabhakar 2004). Une revue de Prabhakar, en 2001, présente trois grands profils d'HI, mais nous ne nous intéresserons qu'au premier profil (**A**, **Figure 7**), qui correspond à celui rencontré chez les patients atteints du SAHOS (Prabhakar 2001). Chaque épisode hypoxique dure quelques secondes, entrecoupé de périodes de normoxie, plus longues, et ceci pendant 7 ou 8 heures par jour (**figure 7**). Le profil B est rencontré lors d'ascension et de descente rapide en haute altitude (long épisode hypoxique) et le profil C correspond à celui observé au cours de respirations périodiques comme la respiration de Cheyne-Stokes.

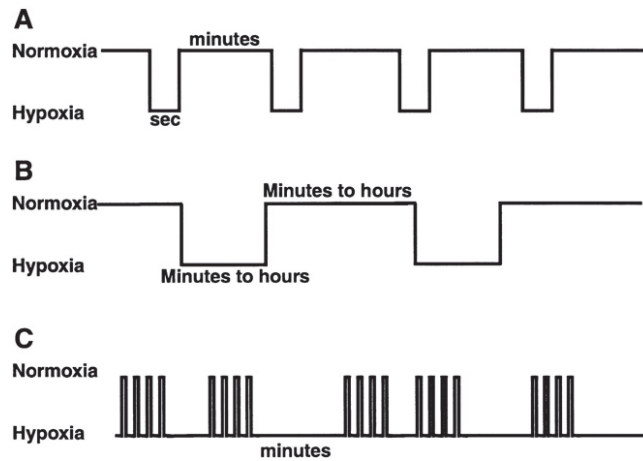


Figure 7 : Représentation schématique des trois grands profils d'HI. Le A correspond à celui rencontré chez les patients atteints du SAHOS (Prabhakar 2001).

Dans la littérature, nous trouvons différents protocoles d'HI variant selon cinq paramètres (Navarrete-Opazo et Mitchell 2014) :

- **La sévérité de l'hypoxie**, c'est-à-dire le pourcentage d'oxygène dans l'air inspiré, souvent comprise entre 2 et 16%.
- **La durée de la phase hypoxique**, entre 15 et 30 secondes, et **la durée de la phase de réoxygénation**, entre 45 et 90 secondes.
- **Le nombre de cycles d'hypoxie – réoxygénation par jour**, entre 3 et 2400 cycles.
- **Le schéma de l'exposition**, soit plusieurs épisodes sur quelques heures avec une période de normoxie jusqu'au lendemain, soit une exposition de trois jours consécutifs par semaine.
- **La durée cumulée de l'exposition**, qui peut se compter en jours, semaines ou mois.

On parle d'hypoxie intermittente chronique (HIC) lorsque le protocole dure plusieurs jours consécutifs (de 7 à 56 jours selon les études).

Chacun de ces protocoles induit des conséquences qui diffèrent selon le schéma de l'exposition à l'HIC choisi. C'est ainsi que des effets bénéfiques lors d'exposition en HIC ont été détectés. En effet, des effets positifs ont été montrés sur les paramètres respiratoires, cardiovasculaires et métaboliques lorsque la sévérité de l'hypoxie était supérieure à 15% et/ou que le nombre de cycles d'hypoxie – réoxygénation par jour était inférieur à 15 (Navarrete-Opazo et Mitchell 2014). De plus, les études récentes suggèrent que l'HIC à faible

dose pourrait être un traitement sûr et efficace pour restaurer la fonction motrice perdue dans divers troubles cliniques (Dale, Ben Mabrouk, et Mitchell 2014).

Un autre moyen de mimer le SAHOS, mis en place en 2011 par l'équipe de Schoorlemmer, est la création d'une obstruction trachéale par un ballon placé dans la trachée (Schoorlemmer et al. 2011). Cette technique est plus semblable que les protocoles d'HIC cités plus haut en ce qui concerne la survenue des conséquences systémiques observées chez les patients souffrants d'un SAHOS. Cependant, elle est plus invasive et plus stressante pour les animaux, et peut induire des effets physiologiques indépendants de l'application de cette technique.

Conséquences de l'hypoxie intermittente chronique sur le système vasculaire

Les conséquences vasculaires de l'exposition à HIC sont connues chez l'humain et les modèles animaux. Les études sur les patients atteints du SAHOS et celles utilisant un modèle animal d'HIC rapportent une augmentation de la PA dans les 10 à 35 jours d'exposition (Lesske et al. 1997)(Hinojosa-Laborde et Mifflin 2005)(Dematteis et al. 2008). De plus, une étude démontre l'effet sexe spécifique de l'HIC (10% O₂, 8h/jour pendant 7 jours) chez le rongeur avec une augmentation de la PA plus importante chez les rats mâles et les femelles ovariectomisées comparativement aux rates non ovariectomisées(Hinojosa-Laborde et Mifflin 2005).

Les études sur l'animal examinant le mécanisme de l'HTA liée à l'HIC indiquent qu'il s'agit d'une pathologie multifactorielle, avec la contribution du système nerveux sympathique (Fletcher 2003), du système rénine-angiotensine-aldostérone (Fletcher, Bao, et Li 1999) et des modifications du contrôle baroréflexe de la PA (Narkiewicz et Somers 1997)(Dematteis et al. 2008). D'autres facteurs peuvent également avoir des effets sur l'HTA induite par l'HIC, notamment la dysfonction endothéliale avec le piégeage de l'oxyde nitrique par les espèces réactives de l'oxygène (Hayashi et al. 2008) et l'augmentation des taux d'endothéline-1 (Kanagy, Walker, et Nelin 2001)(Allahdadi et al. 2008).

Dans la partie qui suit, nous abordons les différents mécanismes sous-jacents de la mise en place de l'HTA induite par une exposition à l'HIC.

Conséquences de l'hypoxie intermittente chronique sur le tissu pulmonaire

L'association entre l'hypertension artérielle pulmonaire (HTAP) et le SAHOS a été longtemps controversée. Certains auteurs affirmaient que les apnées nocturnes ne pouvaient pas induire d'HTAP permanente et que cette HTAP était fortement liée à la présence d'un schéma ventilatoire obstructif, à une hypoxémie et à une hypercapnie, généralement associés à une maladie obstructive des voies respiratoires (Chaouat et al. 1996). De plus, les effets de l'hypoxie intermittente sur le tissu pulmonaire sont moins documentés que les conséquences sur le système vasculaire. Certaines études ont mis en avant que l'HIC pouvait entraîner un stress oxydatif excessif et des phénomènes pro-inflammatoires au niveau des poumons. Une étude a démontré qu'une exposition en HIC (6% O₂; 8h/jour pendant 35 jours) chez la souris entraîne une augmentation de la peroxydation des lipides (marqueur du stress oxydatif) dans les poumons (da Rosa et al. 2012). Ce stress oxydatif est connu pour induire une réponse inflammatoire avec la dégénérescence des cellules endothéliales et épithéliales. Une autre étude a d'ailleurs détecté, chez les souris mâles et femelles exposées à une HIC (5% O₂; 8h30/jour pendant 4 semaines), une inflammation accrue dans le tissu pulmonaire exprimée par un nombre élevé de macrophages CD68⁺ (Tuleta et al. 2016). Par ailleurs, une étude réalisée chez le rat a rapporté qu'une HIC (4% O₂; 8h/jour pendant 6 semaines) induit une accumulation de monocytes circulants et favorise leur différenciation en macrophages pulmonaires pro-inflammatoires avec une surexpression de iNOS (Nagai et al. 2015). Les macrophages pulmonaires peuvent alors accentuer l'inflammation et générer des niveaux élevés d'espèces réactives oxygénées, aggravant ainsi le stress oxydatif.

Ce projet de doctorat est principalement centré sur les conséquences de l'HIC au niveau du système vasculaire mais au vu des effets probables sur les poumons nous abordons le stress oxydatif induit par l'hypoxie au niveau du tissu pulmonaire dans le deuxième chapitre de cette thèse.

L'HYPERTENSION ARTÉRIELLE INDUITE PAR L'HYPOXIE INTERMITTENTE CHRONIQUE : MÉCANISMES IMPLIQUÉS

Comme chez l'humain, l'HTA chez les rongeurs soumis à un protocole HIC semble dépendre de plusieurs facteurs, principalement des modifications neuronales et hormonales, susceptibles d'affecter la régulation du système cardiovasculaire aux niveaux central et périphérique (Konecny, Kara, et Somers 2014).

LES MÉCANISMES AUTONOMES

Systeme sympathique

L'activité sympathique est gérée par deux neurotransmetteurs de la famille des catécholamines : la noradrénaline et l'adrénaline. Elles sont synthétisées par les cellules de la médullo-surrénale et par les neurones post-ganglionnaires du système nerveux sympathique. La noradrénaline est libérée dans la fente synaptique et l'adrénaline dans le sang par la surrénale. En réponse à des stimuli tels que le stress hypoxique, elles se fixent sur les récepteurs adrénergiques situés sur la paroi des vaisseaux sanguins et des cellules cardiaques. Elles engendrent principalement un effet vasoconstricteur sur les artérioles et la noradrénaline libérée dans le cœur augmente la fréquence cardiaque et la force de contraction myocardique.

Plusieurs études ont utilisé le modèle animal d'HIC pour évaluer l'implication du système sympathique dans l'augmentation de la PA observée chez les patients atteints du SAHOS (Fletcher 2001)(Prabhakar et al. 2001)(Prabhakar et al. 2005). Dans les années 90, la technique utilisée pour étudier cette implication est la dénervation sympathique ou sympathectomie. C'est une technique qui consiste à sectionner les nerfs du système sympathique de façon chirurgicale ou de bloquer chimiquement l'activité nerveuse avec l'usage de molécules antagonistes. Les expériences de Fletcher, en 1992, ont démontré que

la sympathectomie chimique, provoquée par la 6-hydroxydopamine, administrée avant l'exposition en HIC (3% O₂ ; 7h/jour pendant 35 jours), empêche l'augmentation de la PA chez le rat (Fletcher, Lesske, Culman, et al. 1992). Dans une seconde étude de la même équipe, des résultats similaires ont été observés lors de la dénervation sympathique de l'artère rénale, réalisée avant l'exposition en HIC (Bao et al. 1997). Cette étude a ainsi mis en évidence que l'augmentation de la PA, observée chez les rats soumis à un protocole d'HIC (2-3% O₂ ; 8h/jour pendant 35 jours), dépend de l'intégrité du système sympathique rénal. Sur la base de ces études, plusieurs auteurs ont attribué le maintien d'une PA élevée, observée chez les animaux après une exposition en HIC, à une augmentation du débit sympathique (Sica et al. 2000)(Prabhakar et al. 2005). Une autre façon de prouver l'élévation de l'activité du système sympathique est de mesurer les taux de catécholamines (noradrénaline et adrénaline) dans le sang puisqu'ils reflètent la commande sympathique des vaisseaux de résistance (Hirakawa, Nakamura, et Hayashida 1997). L'étude de Zoccal, en 2007, rapporte une concentration plasmatique de noradrénaline plus importante chez les rats exposés en HIC (6% O₂ ; 8h/jour pendant 35 jours) que les rats en normoxie (Zoccal et al. 2007). De plus, l'ablation de la médullosurrénale, principale source d'adrénaline circulante, permet de diminuer sa quantité et d'empêcher l'augmentation de la PA, chez des rats exposés à une HIC (2-5% O₂ ; 6-8h/jour pendant 20 à 40 jours) (Lesske et al. 1997). Toutes ces études démontrent que l'activité sympathique joue un rôle important dans le développement de l'HTA chez les rats exposés à une HIC.

Chémorécepteurs périphériques

L'activation du système nerveux sympathique, en réponse à l'hypoxie, est modulée par le chémoréflexe périphérique. Le corps carotidien est le principal chémorécepteur périphérique, sensible aux variations de la pression artérielle en oxygène (PaO₂) (Iturriaga et Alcayaga 2004). C'est un organe situé à la bifurcation de l'artère carotide commune entre les artères carotides interne et externe (Kobayashi et al. 2013). Le chémoréflexe assure la régulation de la ventilation, mais également celle des fonctions cardiovasculaires autonomes. En situation d'hypoxie, les membranes des cellules chémo-sensibles vont se dépolariser engendrant un

courant calcique transmembranaire via les canaux calciques voltage-dépendants. Le calcium déclenche alors l'apposition et la fusion des microvésicules remplies de neurotransmetteurs à la membrane, puis leur libération dans la fente synaptique. Ces neurotransmetteurs vont stimuler les fibres nerveuses afférentes du nerf de Hering, qui se projette dans le tronc cérébral au niveau du noyau du tractus solitaire. Par la suite, le noyau du tractus solitaire transmet l'information des chémorécepteurs, aux neurones de la région C1 du bulbe rostral ventrolatéral au noyau paraventriculaire de l'hypothalamus. Ces sites étant sympatho-excitateurs, ils entraînent une augmentation de l'activité sympathique. Il existe également des chémorécepteurs centraux, mais ils sont essentiellement sensibles aux variations de la pression artérielle en dioxyde de carbone (PaCO_2), donc moins intéressants dans le cas de l'hypoxie.

Des études suggèrent que le corps carotidien joue un rôle crucial dans le développement de l'HTA induite par une exposition en HIC. Les études réalisées sur des animaux exposés à un protocole d'HIC présentent de fortes réponses cardiorespiratoires et sympathiques à l'hypoxie, ce qui suggère que l'hypoxie engendre une hypersensibilité du chémoréflexe périphérique (Prabhakar et al. 2005)(Rey et al. 2008). Ce sont des résultats qui ont également été observés chez les patients atteints du SAHOS (Narkiewicz et al. 1999)(Iturriaga, Moya, et Del Rio 2009)(Pialoux et al. 2009). De plus, une étude a rapporté qu'une dénervation bilatérale des corps carotidiens, avant une exposition en HIC (3-5% O_2 ; 7h/jour pendant 35 jours), empêche le développement de l'HTA chez le rat (Fletcher, Lesske, Behm, et al. 1992b). Cette hypersensibilité du chémoréflexe causée par l'HIC, chez le rat, dépendrait de la signalisation du récepteur de type 1 de l'angiotensine II (AT_1R) dans les corps carotidiens (Morgan et al. 2018). En effet, une étude démontre qu'en bloquant ce récepteur avec un antagoniste (Losartan) combiné à un inhibiteur de la xanthine oxydase (Allopurinol), la sensibilité accrue du chémoréflexe, induite chez le rat par une exposition en HIC (10% O_2 ; 10h/jour durant 14 et 21 jours), est atténuée (Morgan et al. 2016). Pour finir, l'équipe de Lai a rapporté que la sensibilité du baroréflexe était réduite, chez les rats soumis à un protocole de 30 jours d'HIC (2-6% O_2 ; 6h/jour), ce qui peut contribuer à une augmentation du débit sympathique (Lai et al. 2006).

LA DYSFONCTION ENDOTHÉLIALE

Auparavant, l'endothélium était considéré comme une simple barrière séparant le sang et la paroi des vaisseaux, mais maintenant nous savons qu'il permet la synthèse et la libération de substances vasoactives, qui contribuent à la régulation vasculaire locale. Des découvertes ont ainsi révélé que l'endothélium vasculaire est un organe régulateur indispensable dans le maintien de l'homéostasie cardiovasculaire et que la dysfonction endothéliale est présente dans plusieurs maladies cardiovasculaires. Les cellules endothéliales contrôlent le tonus vasculaire en convertissant l'angiotensine I en angiotensine II, en inactivant la bradykinine, la noradrénaline et la sérotonine, et en sécrétant des substances vasodilatatrices telles que les prostaglandines, le facteur hyperpolarisant dérivé de l'endothélium (EDHF), l'oxyde nitrique (NO) et vasoconstrictrices comme l'endothéline-1 (ET-1) (Drexler 1998).

Dans les paragraphes suivants, nous parlons de l'ET-1 et du NO, deux facteurs qui nous ont intéressé pendant la thèse car ils sont altérés par HIC et favorisent la dysfonction endothéliale, en partie responsable de l'HTA, dans les modèles animaux d'apnée du sommeil.

Facteur vasoactif : endothéline-1

C'est en 1988 que Yanagisawa et son équipe découvraient, à partir de surnageant de cellules endothéliales d'aorte porcine, un facteur d'origine peptidique qui avait pour propriété d'induire une vasoconstriction de l'artère coronaire (Yanagisawa et al. 1988). Les études se sont poursuivies pour analyser ce peptide qui fut alors nommé endothéline-1 (ET-1), puissant vasoconstricteur à longue durée d'action, ubiquitaire dans les cellules endothéliales de l'humain (Yanagisawa et al. 1988)(Lerman et al. 1991). La synthèse de l'ET-1 est stimulée par les principaux signaux de stress cardiovasculaires, tels que les agents vasoactifs (angiotensine II, norépinephrine et vasopressine et bradykinine), les cytokines et les facteurs comme la thrombine et le stress mécanique (Touyz et Schiffrin 2003). De plus, l'expression du gène de l'ET-1 est régulée par des facteurs comme le facteur induit par l'hypoxie (HIF-1) (Yamashita et al. 2001). L'ET-1 est pro-inflammatoire, provoque une vasoconstriction, favorise la fibrose et a un potentiel mitogénique. Il joue un rôle important dans la régulation

du tonus vasculaire, les réponses vasoconstrictrices chroniques, les changements de résistance, le remodelage artériel (Gras et al. 2016) et dans la lésion vasculaire (Masaki et al. 1991)(Warner et al. 1994).

L'ET-1 agit via deux récepteurs, à savoir les récepteurs ET_A et ET_B (Davenport 2002), qui ont été identifiés en 1989 grâce aux travaux de Warner et de son équipe (Warner et al. 1989). Les récepteurs ET_A sont situés sur les membranes des cellules musculaires lisses et engendrent la vasoconstriction et la prolifération de ces cellules. Pour les récepteurs ET_B, on les trouve à la fois sur les cellules endothéliales et les cellules musculaires lisses (Masaki, Vane, et Vanhoutte 1994)(Miyachi et Masaki 1999). L'activation des récepteurs ET_B dans les cellules musculaires lisses provoque une vasoconstriction alors que la stimulation des récepteurs ET_B endothéliaux provoque une vasodilatation via la libération de NO et de prostacycline (Shetty et al. 1993). L'ET-1 exerce donc des effets différents sur les vaisseaux selon le ratio de récepteurs ET_A et ET_B et leurs localisations. En condition physiologique, la vasoconstriction induite par les récepteurs ET_A est, en partie, neutralisée par la libération de NO et de prostacycline par les récepteurs ET_B. Cependant, sous certaines conditions physiopathologiques, comme lors d'une exposition en HIC, la réponse aux récepteurs de l'endothéline peut être modifiée (Böhm et Pernow 2007). Après une exposition en HIC (9% O₂ ; 8 h/jour ; 7j/semaine durant 3 semaines), l'augmentation du tonus vasculaire induite par l'ET-1 peut être due à des modifications de la structure des récepteurs et/ou à l'emplacement et au nombre de ces récepteurs (Guo et al. 2013).

La relation entre l'augmentation du niveau d'ET-1 circulante et l'HTA est connue depuis longtemps (**figure 8**) (Larivière, Day et Schiffrin 1993). Une corrélation positive existe entre les concentrations plasmatiques d'ET-1 et le niveau de PA (Elijovich et al. 2001). Parallèlement, des concentrations plasmatiques élevées d'ET-1 ont été démontrées dans les formes d'HTA secondaires, comme dans le cas de l'HTA induite par l'apnée du sommeil (Phillips et al. 1999). En effet, des études réalisées sur des patients atteints du SAHOS ont mis en évidence que l'ET-1 pourrait être directement impliquée dans le développement de l'HTA. Elles rapportent que les patients avec un SAHOS ont des taux systémiques d'ET-1 supérieurs à ceux de leurs homologues sains (Phillips et al. 1999)(Saarelainen et Hasan 2000) et que ces taux diminuent avec le traitement par PPC (Phillips et al. 1999). Il a également été

montré une élévation du précurseur d'ET-1, le pré-proendothéline, chez les patients apnéiques non traités, et qui est atténuée lors d'une thérapie prolongée avec la PPC (Jordan et al. 2005). Il est à noter que certaines études n'ont pas réussi à trouver d'association entre le SAHOS et l'augmentation de l'ET-1 (Grimpen et al. 2000)(Møller et al. 2003). Cependant, la majorité des patients et des sujets témoins de ces études avaient des antécédents d'HTA et de troubles cardiovasculaires, ce qui peut expliquer qu'aucune différence significative n'a été observée entre les deux groupes.

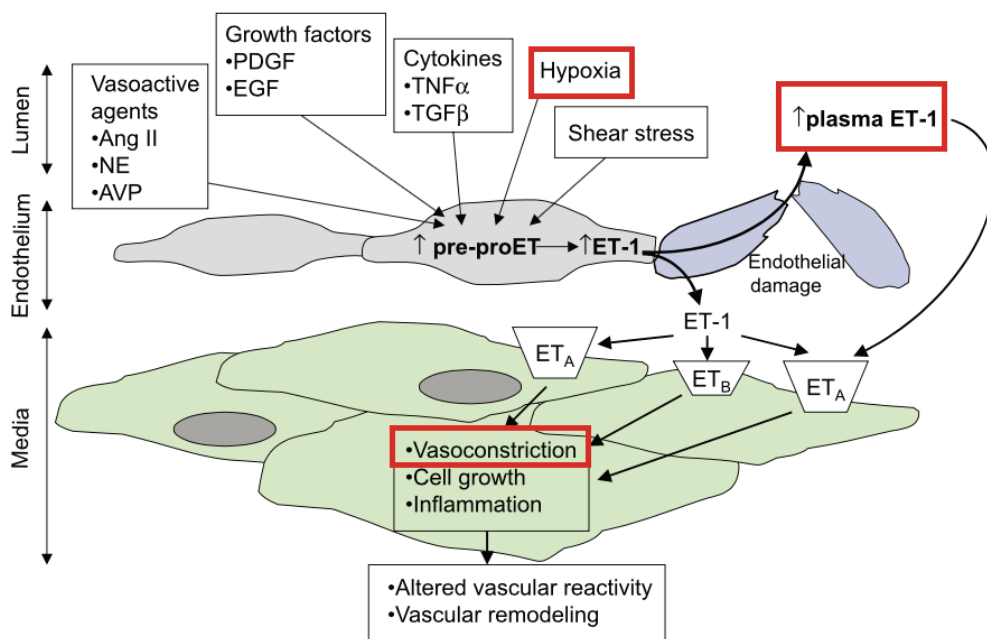


Figure 8 : Système vasculaire de l'endothéline-1 contribuant aux modifications vasculaires de l'hypertension artérielle (Touyz et Schiffrin 2003).

Concernant les études fondamentales, que ce soit sur des cultures cellulaires (Kourembanas et al. 1991), des préparations tissulaires (Rakugi et al. 1990) ou des animaux intacts (Perrella et al. 1992), il a également été démontré que l'hypoxie déclenche la production d'ET-1 (Khraibi et al. 1993). Une étude révèle une augmentation à la fois de l'ET-1 plasmatique et de la PA chez les rats exposés à une hypoxie / hypercapnie intermittente (Kanagy, Walker, et Nelin 2001). Une autre étude démontre que ET-1 et HIF-1 jouent un rôle majeur dans le développement de l'HTA dans un modèle animal d'apnée du sommeil (Belaidi et al. 2009). L'ET-1 est donc un élément clé dans le développement de l'HTA induit par l'HIC ; il nous

semble indispensable de l'étudier dans notre modèle animal d'HIC et d'identifier si les hormones sexuelles peuvent moduler sa production.

Facteur vasorelaxant : oxyde nitrique et vasodilatation NO-dépendante

En 1980, Furchgott et Zawadzki (Furchgott et Zawadzki 1980) ont démontré que la vasorelaxation induite par l'acétylcholine (ACh) était dépendante de la présence de l'endothélium. Ils ont également mis en évidence que les cellules de l'endothélium sécrétaient un facteur relaxant, autre que les prostanoïdes, alors nommé EDRF pour *endothelium derived relaxing factor* et qui s'est révélé, plus tard, être l'oxyde nitrique (NO). Le NO est alors reconnu comme un vasodilatateur endogène qui modifie la régulation locale du tonus vasculaire (Budhiraja, Parthasarathy, et Quan 2007) via la dilatation des artères périphériques (Joannides et al. 1995). Au niveau vasculaire, le NO est synthétisé par l'enzyme NO synthase endothéliale (eNOs) à partir de la L-arginine, en présence d'oxygène, de tétrahydrobioptérine (BH4) et du cofacteur NADPH. L'enzyme eNOs est généralement activée par une augmentation de la concentration intracellulaire de calcium (Ca^{2+}). Le NO libéré se diffuse dans les cellules du muscle lisse vasculaire pour stimuler la guanylate cyclase, responsable de la dégradation de la guanosine triphosphate (GTP) en monophosphate (GMPc). Ce second messenger active une protéine kinase AMPc qui inhibe la contraction et engendre une vasorelaxation (**figure 9**). On parle alors de vasodilatation NO – dépendante ou endothélium – dépendante.

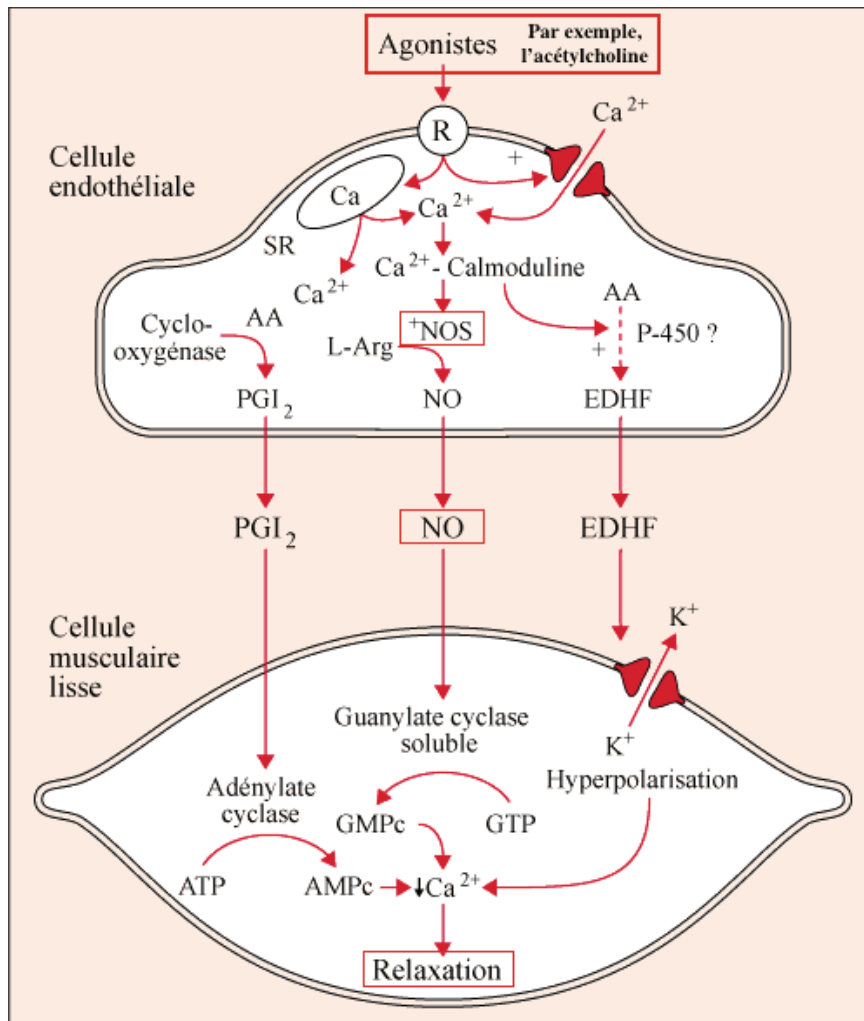


Figure 9 : Libération des facteurs de relaxation d'origine endothéliale. Mécanisme de production et d'action de l'oxyde nitrique pour engendrer la relaxation des cellules musculaires lisses (Boulangier et Vanhoutte 1997).

Le NO entraîne une relaxation endothélium – dépendante pour maintenir le tonus vasculaire et peut être fortement impliqué lors de certaines pathologies. Par exemple, une étude a démontré que les patients souffrant d'HTA essentielle présentaient une déficience dans le système endothélial NO-dépendant. Cette dysfonction explique, en partie, l'augmentation de la résistance vasculaire dans les conditions basales et la faible réponse aux vasodilatateurs dépendants de l'endothélium (Panza et al. 1993). La présence d'une dysfonction endothéliale, évaluée par le tonus vasculaire et les activités pro et anti-inflammatoires des cellules endothéliales, a également été démontrée dans plusieurs études réalisées chez les patients souffrant du SAHOS (Budhiraja, Parthasarathy, et Quan 2007)(Foster, Poulin, et Hanly

2007)(Atkeson et Jelic 2008)(Atkeson et al. 2009). Les raisons de cette dysfonction ne sont pas toujours claires, mais la cause la plus probable reste l'hypoxie – réoxygénation (Nieto et al. 2004), et peut expliquer les complications vasculaires comme l'HTA. L'étude *The Sleep Heart Health Study*, réalisée sur une vaste base de données épidémiologiques, a mis en évidence une diminution de la dilatation de l'artère brachiale chez les personnes atteintes du SAHOS (Nieto et al. 2004). Cette étude a également révélé que la corrélation était plus forte entre la réactivité brachiale et l'hypoxémie, qu'entre la réactivité et l'IAH, ce qui suggère que le stress hypoxémique est un facteur essentiel contribuant au dysfonctionnement endothélial. En effet, les cycles d'hypoxie – réoxygénation qui surviennent la nuit chez les patients atteints du SAHOS engendrent une diminution de la quantité d'oxygène, ce qui rend eNOs dysfonctionnel et produit des anions superoxydes à la place du NO : on parle alors du découplage de eNOs (Li et Förstermann 2013). La dilatation des artères périphériques, dépendante de la quantité de NO libérée par les cellules endothéliales, est donc diminuée (Joannides et al. 1995). En effet, il a été montré, chez les patients présentant un SAHOS, que le niveau du métabolisme du NO, déterminé en mesurant les niveaux de nitrites et nitrates plasmatiques (dérivés du NO), est diminué comparativement aux sujets contrôles et retrouve des valeurs normales lors d'un traitement par PPC (Ip et al. 2000)(Schulz et al. 2000). Cette diminution de la biodisponibilité du NO expliquerait en partie la dysfonction endothéliale. À l'inverse, les concentrations plasmatiques de NG-diméthylarginine asymétrique, un inhibiteur d'eNOs, augmentent chez les patients apnéiques et diminuent lorsque les patients sont traités par la PPC (Ohike et al. 2005).

Expérimentalement, pour étudier la dysfonction endothéliale, il faut administrer dans les artères de l'ACh ce qui provoque une augmentation de la concentration en Ca^{2+} dans les cellules endothéliales. Si l'endothélium est intact, la libération de Ca^{2+} intracellulaire va activer la synthèse du NO via eNOs (Hirata et al. 2010) et la vasodilatation. Des études démontrent, sur des rats exposés en HIC, une augmentation de la vasoconstriction des artères coronaires (Ludmer et al. 1986) et une atténuation de la vasodilatation endothélium – dépendante des artérioles, en présence d'ACh, suggérant que la dysfonction de l'endothélium serait due à une diminution de la biodisponibilité du NO (Yokoyama, Korthuis, et Benoit 1996)(Tahawi et al. 2001)(Phillips et al. 2004). Une autre étude a mis en évidence que chez le rat, une exposition prolongée à l'hypoxie (10% O_2 pendant 12 heures, 48 heures ou 7 jours)

entraîne une diminution de l'expression de l'ARNm et de la protéine eNOs aortique, réduit la relaxation endothélium-dépendante des anneaux aortiques et diminue la capacité de l'aorte à générer du GMPc en réponse à l'ACh (Toporsian et al. 2000). Ce puissant vasodilatateur et la relaxation endothélium – dépendante semblent donc être fortement affectés par le stress hypoxique, d'où l'intérêt de les étudier dans notre modèle animal d'apnée du sommeil.

Ainsi, comme il vient de l'être démontré, la dysfonction endothéliale est principalement caractérisée par une diminution des capacités vasodilatatrices et/ou une potentialisation de la fonction contractile des vaisseaux. Cependant, d'autres mécanismes peuvent expliquer ce dysfonctionnement, tels que le stress oxydatif induit par l'HIC, qui va perturber la biodisponibilité du NO (**cf. paragraphe stress oxydatif**)

LE STRESS OXYDATIF

Définition

En condition physiologique, les espèces réactives oxygénées (ERO) ou reactive oxygen species (ROS) sont présentes au sein de la cellule et régulées par l'équilibre entre leurs taux de production et d'élimination : on parle du maintien de la balance pro-oxydant/antioxydant, parfois appelée statut redox. Cependant, dans certaines conditions physiopathologiques, cette homéostasie peut être perturbée lorsque les ROS se forment en trop grande quantité, en tant que sous-produits inévitables de nombreux processus biochimiques, et que les défenses anti-oxydantes sont déficientes. Cette perturbation du statut redox est nommée stress oxydatif et génère des dommages au niveau tissulaire et cellulaire (Halliwell 1994).

Principaux ROS ou radicaux libres

Avant de commencer, il faut savoir qu'il existe des ROS, qui sont des espèces réactives obtenues à partir de la dégradation de l'oxygène et des radicaux libres, qui sont des espèces chimiques contenant un ou plusieurs électrons libres, non appariés. Ces radicaux libres appartiennent aux ROS, cependant certaines ROS ne sont pas des radicaux libres tels que le peroxyde d'hydrogène. Les radicaux libres augmentent la réactivité chimique de l'atome ou de la molécule en le rendant instable et en lui permettant d'interagir avec d'autres molécules. La toxicité des ROS dépend de leur réactivité (habituellement déterminée par leur temps de demi-vie) ainsi que de leur lieu de production. Si l'électron est instable, le temps de demi-vie du radical est plus court.

La production des ROS peut se faire selon différents mécanismes, le plus connu étant celui issu de la réduction de l'oxygène. Celui-ci permet, par l'addition de quatre électrons, la formation d'eau à partir d'une molécule d'oxygène (**figure 10**).

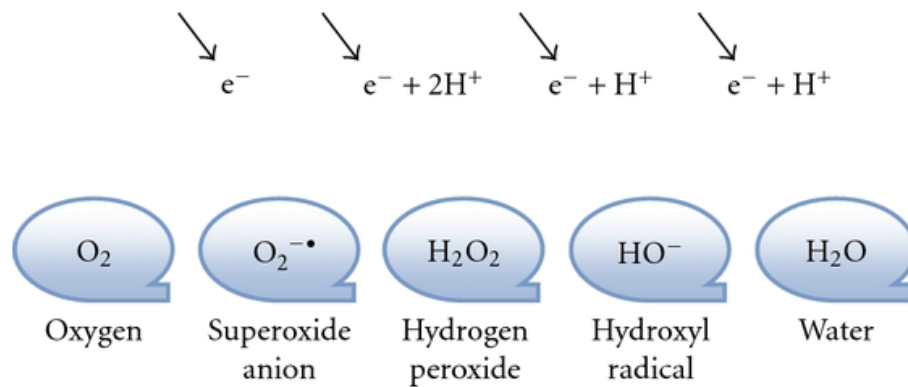
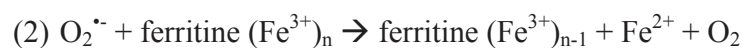
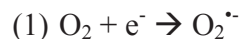


Figure 10 : Production de ROS à partir de la réduction de l'oxygène (Mach et al. 2011).

Les ROS les plus courantes sont le radical hydroxyle (OH^\bullet), l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) et le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), mais il existe aussi des radicaux libres appelés métaux de transition, tels que le peroxynitrite ($ONOO^\bullet$) et le radical peroxyde (ROO^\bullet).

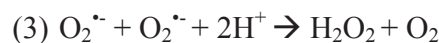
L'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$)

L'anion superoxyde est produit par la mitochondrie et certaines oxydases (que nous verrons plus tard) à partir de la molécule d'oxygène (1) et entraîne une dismutation spontanée ou peut-être catalysé par des ions ferreux en peroxyde d'hydrogène. Il n'est pas particulièrement agressif en tant qu'agent oxydant, cependant, il peut être plus puissant en tant qu'agent réducteur lorsqu'il attaque des sites actifs de certaines enzymes contenant des complexes ferriques (2) (Betteridge 2000). Son temps de demi-vie est long (> quelques dizaines de secondes).



Le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)

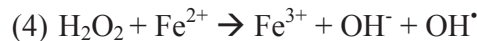
Le peroxyde d'hydrogène est produit à partir de la dismutation de deux anions superoxydes (3) ou par des enzymes comme la xanthine oxydase.



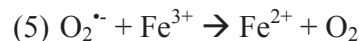
Ce n'est pas un radical libre, mais il fait partie des dérivés actifs de l'oxygène. Bien qu'il soit peu réactif, il a un temps de demi-vie d'environ une minute et a la capacité de traverser les membranes, lui permettant d'atteindre l'ADN cellulaire.

Le radical hydroxyle (OH[•])

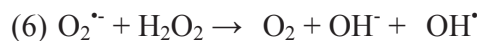
Le radical hydroxyle, avec une demi-vie extrêmement courte (10^{-9} seconde), est le plus toxique et le plus réactif des ROS. Il réagit directement sur son site de formation en attaquant les molécules biologiques et en entraînant une propagation en chaîne des radicaux libres. Il va, par exemple, réagir avec l'ADN mitochondrial, ce qui modifie sa structure et entraîne des mutations (Evans et Halliwell 1999). Il peut également participer aux réactions de peroxydation des lipides. Il est principalement produit à partir du peroxyde d'hydrogène et en présence d'ions ferreux, par la réaction de Fenton (4).



Cette réaction peut se répéter indéfiniment en présence de certaines molécules capables de recycler le Fe^{3+} en Fe^{2+} , telle que l'anion superoxyde.



La somme des réactions (4) et (5), nommée réaction d'Haber-Wess (6), décrit la formation du radical hydroxyle à partir de la décomposition du peroxyde d'hydrogène par un métal (Halliwell 2006).



L'interaction entre l'anion superoxyde et le peroxyde d'hydrogène est à l'origine de la plupart des dommages tissulaires, en raison de la haute toxicité du radical hydroxyle et de sa production répétitive.

Principaux producteurs de ROS

La mitochondrie

L'oxygène est indispensable pour la respiration cellulaire et pour produire l'énergie nécessaire au bon fonctionnement de la cellule, sous forme d'adénosine triphosphate (ATP). Cette production d'ATP, nommée phosphorylation oxydative, se fait principalement au niveau mitochondrial, par la chaîne de transport des électrons présente dans la membrane interne des mitochondries. La phosphorylation oxydative se passe en deux étapes : la première consiste à produire un gradient électrochimique de protons et la deuxième à phosphoryler l'adénosine diphosphate (ADP) en ATP en utilisant le gradient électrochimique et l'ATP synthétase. Pour cela, la chaîne de transport des électrons est composée d'une série de transporteurs protéiques (flavoprotéines, ubiquinones, cytochromes) disposés selon leur potentiel redox et organisés en quatre complexes : le complexe I ou NADH déshydrogénase, le complexe II ou succinate déshydrogénase, le complexe III ou cytochrome-c réductase et le complexe IV ou cytochrome-c oxydase (**figure 11**).

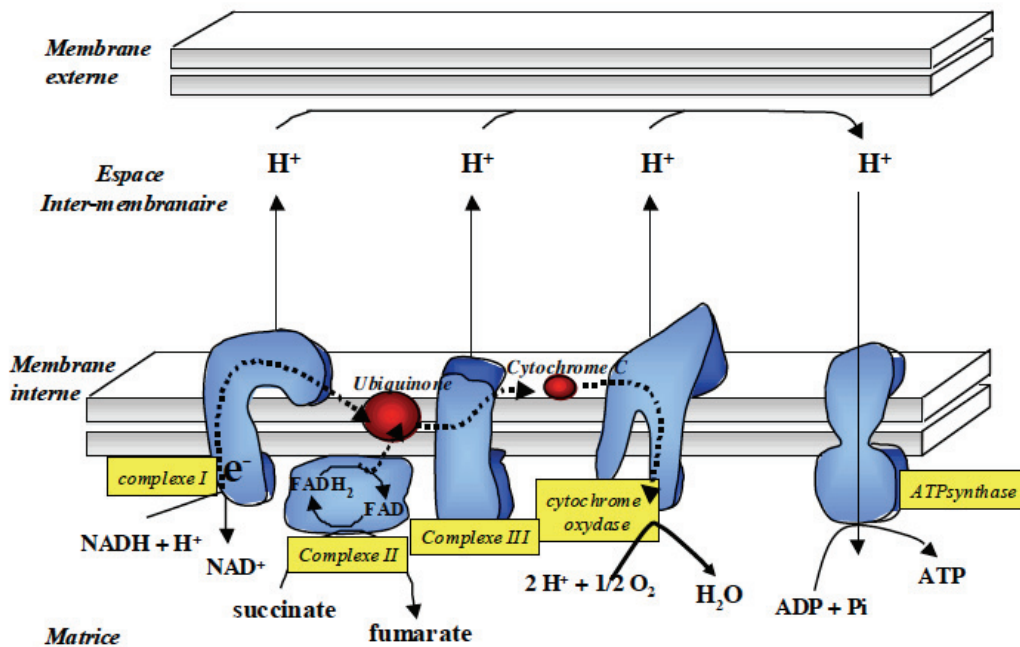


Figure 11 : Représentation schématique de la chaîne de respiration mitochondriale. D'après Pialoux V. Stress oxydatif et entraînement en altitude. In : Millet G.P. et Schmitt L. (eds), *S'entraîner en altitude*. Bruxelles, De Boek., pp 46-50.

La chaîne de transport des électrons est reconnue comme l'un des principaux producteurs cellulaires de ROS, notamment du peroxyde d'hydrogène et de l'anion superoxyde. La production d'anions superoxydes par la mitochondrie est de l'ordre de 0,2 à 0,4% de l'oxygène consommé (Sanz et Stefanatos 2008). Lors du processus biologique de réduction de l'oxygène en eau et de production de l'ATP, il a été constaté que certains électrons, traversant la chaîne mitochondriale, s'échappaient de l'oxygène moléculaire pour former des anions superoxydes : on parle alors de fuite des électrons (Liu, Fiskum, et Schubert 2002). Cette fuite se fait essentiellement au niveau des complexes I et III (Chen et al. 2003). Les ROS produites via cette chaîne de transport sont, en condition physiologique, rapidement dismutées par la superoxyde dismutase mitochondriale en peroxyde d'hydrogène (Liu, Fiskum, et Schubert 2002). Cependant, dans certaines conditions de stress, comme c'est le cas lors de la réoxygénation après une exposition en hypoxie, des niveaux toxiques d'oxygène entraînent la formation de ROS supplémentaires qui peuvent endommager les membranes lipidiques, les protéines et les acides nucléiques. De plus, il a été démontré sur des cellules en culture, des animaux et sur des patients atteints du SAHOS, que l'hypoxie induit un dysfonctionnement mitochondrial qui engendre une augmentation du stress oxydatif (McGown et al. 2003)(Peng et al. 2003)(Yuan et al. 2004). Ce dérèglement s'explique par des modifications structurales de la chaîne respiratoire mitochondriale qui entraînent une fuite des électrons, alors en trop grande quantité pour être pris en charge par les enzymes anti-oxydantes. Par conséquent, il y a une augmentation d'anions superoxydes et, en présence de Fe^{2+} , la réaction de Fenton engendre une surproduction du radical hydroxyle.

La mitochondrie est également la cible des ROS produites. L'anion superoxyde produit peut interagir avec le NO et former le peroxynitrite (comme vu précédemment dans le paragraphe sur la dysfonction endothéliale). Ce peroxynitrite endommage les complexes de la chaîne de transport des électrons et l'ADN mitochondrial (Shiva et al. 2004). Les modifications fonctionnelles et morphologiques de la mitochondrie entraînent une production excessive de ROS.

La NADPH oxydase

En parallèle de la production de ROS par la chaîne respiratoire mitochondriale, la plupart des cellules ont une activité NADPH oxydase. La NADPH oxydase (NOX) est un complexe enzymatique, localisé sur la membrane cytoplasmique, qui génère des anions superoxydes en transférant un électron du nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADPH) à une molécule d'oxygène, selon l'équation suivante :



Initialement, la NOX a été étudiée dans les cellules phagocytaires, où elle joue un rôle primordial dans la défense contre les pathogènes (Lambeth 2004). Puis ont été découverts sept isoformes de cette enzyme, présentées dans le **tableau 3** (Paravicini et Touyz 2008).

La NOX2 est la forme la plus étudiée et est constituée de deux sous-unités principales présentes dans deux compartiments cellulaires distincts (Bedard et Krause 2007) :

- Le site catalytique, dans la membrane, est composé du cytochrome b_{558} avec les sous-unités $gp91^{\text{phox}}$ et $p22^{\text{phox}}$. La $gp91^{\text{phox}}$ contient un site de fixation pour le NADPH, le FAD (flavine adénine di-nucléotide) et deux domaines hèmes qui peuvent subir des réactions d'oxydoréduction.
- Les protéines régulatrices, dans le cytosol, composées par la $p47^{\text{phox}}$, $p40^{\text{phox}}$ et $p67^{\text{phox}}$.

L'activation de la NOX2, initiée par un stress, nécessite la translocation des protéines du cytosol et de Rac (sous famille des Rho GTPases) vers la membrane pour se lier au cytochrome b_{558} . Une première étape permet le transfert d'électrons entre le NADPH du côté cytosolique et le FAD puis une seconde étape permet le transfert d'un électron du FADH_2 à l'hème interne. Ensuite, un électron est transféré à l'hème externe avant d'être accepté par l'oxygène moléculaire pour former l'anion superoxyde. Cette ROS peut alors être convertie en peroxyde d'hydrogène par la superoxyde dismutase (**figure 12**) (Lambeth 2004). Au repos, les sous-unités du cœur catalytique sont dissociées, ce qui rend la NOX2 inactive. Ce processus d'activation-inactivation représente une importante étape de régulation des NOX (Bedard et Krause 2007)(Wang, Zhang, et Gozal 2010).

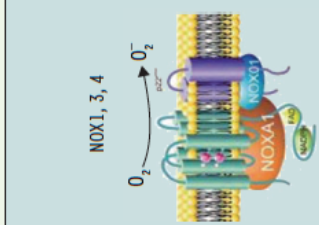
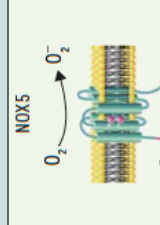
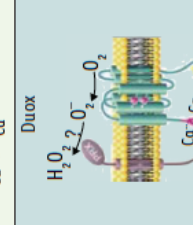
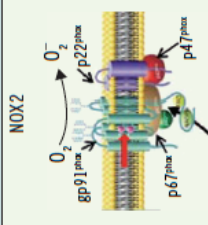
Structure	NOX isoformes	Stimulus	Voies de signalisation	Fonction(s)	Type(s) cellulaire(s) localisation	
 <p>NOX1, 3, 4</p>	NOX1	H ₂ O ₂	Erk 1/2 / cycline D1	Prolifération	Fibroblastes	
		Thrombine	n.d.			Cellules épithéliales pulmonaires
		Angiotensine II	p38 MAPK / MAPKAPK2 / Akt	Hypertrophie		Cellules musculaires lisses vasculaires
		PDGF	(1) c-Scr / PDK1 / PAK1 (2) SSH1L / cofiline	Migration		Cellules musculaires lisses vasculaires
		FGF	JNK / paxilline			
		TNF-α	JNK / p38 MAPK / AP-1	Nécrose		
		LPS – Flagelline	n.d.	Défense de l'hôte		Cellules épithéliales du côlon
		cisplatine	canal TRPV1	Ototoxicité		Oreille interne
		IGF-1	MMP2			
		PDGF	Adhésion focale	Migration		Cellules musculaires lisses vasculaires
 <p>NOX5</p>	NOX4	Angiotensine II	Akt	Survie et croissance	Cellules mésangiales	
		TGF-β	pRb / cdc2			Cellules musculaires lisses des voies aériennes
		Insuline	MKP-1 / Erk 1/2			Adipocytes
		IL-4	IP ₃ / calcium	Expression génique		Cellules épithéliales alvéolaires
 <p>Duox1/Duox2</p>	NOX2	PDGF	JAK2 / STAT3	Prolifération	Cellules musculaires lisses vasculaires	
		n.d.	n.d.			Thyroïde
		n.d.	Bactéricide via lactoperoxydase	Défense et inflammation		Voies aériennes
		Micro-organismes Cytokines ATP TNF-α	H ₂ O ₂ → ·OH ASK1 / p38 MAPK NF-κB	Défense de l'hôte Apoptose Nécrose		Neutrophiles Macrophages Fibroblastes
 <p>NOX2</p>	NOX2	VEGF	c-Scr / Akt / VE-cadhérine	Angiogenèse	Cellules endothéliales	

Tableau 3 : Les différentes isoformes de la NADPH oxydase. D'après *Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant*, de Camille Migdal et Mireille Serres, 2011.

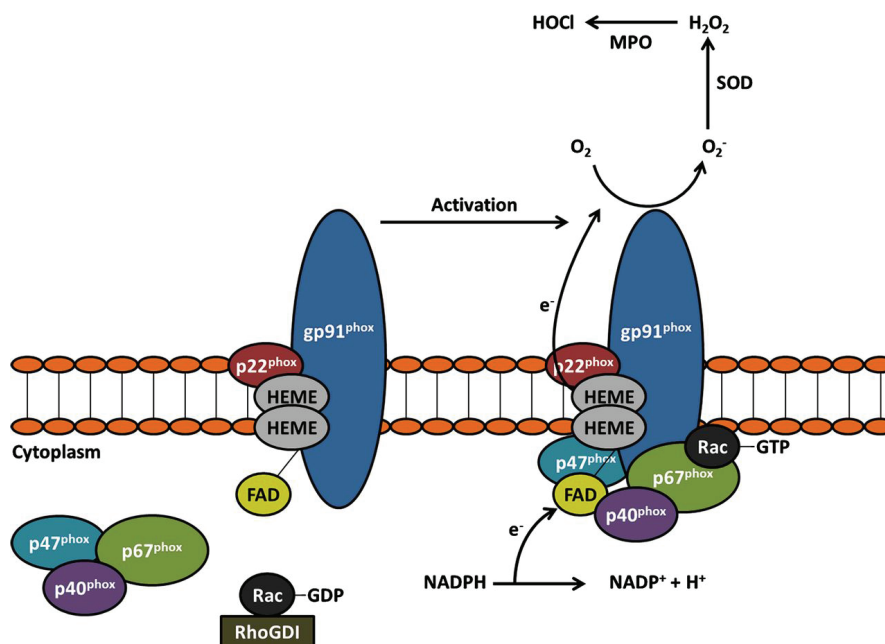


Figure 12 : Représentation schématique de la NOX2 et de son mécanisme d'activation (Singel et Segal 2016).

C'est la NOX, et particulièrement la NOX2, qui est la source de ROS la plus étudiée dans le SAHOS, et qui a été principalement décrite dans des modèles de rongeurs mimant cette pathologie. Au niveau cardiaque, c'est également la première source de production de ROS (Zhang et al. 2006). Des études antérieures, sur des rats et des souris exposés en HIC (5% O₂ ; 8 h/jour pendant 10 jours), ont révélé une augmentation de l'activité de la NOX dans les tissus tels que le cerveau et les corps carotidiens (Peng et al. 2009). Il a aussi été prouvé chez des souris placées en HIC (7% O₂ ; 8 h/jour, 5 j/semaine pendant 6 semaines) que le développement de l'HTA, induit par cette hypoxie, est médié par l'activation de la NOX2 (particulièrement sur la gp91^{phox}) qui favorise le stress oxydatif (Schulz et al. 2014). Bien que les études sur les NOX, chez les patients souffrant d'apnée du sommeil, sont limitées, probablement en raison de contraintes techniques et éthiques (dosages sur les cellules endothéliales), il est clair que son activité est augmentée et ceci contribue probablement au stress oxydatif (Lavie 2015) et au développement de l'HTA. Cependant, les voies de signalisations impliquées sont méconnues.

La xanthine oxydase

La xanthine oxydase (XO) est une enzyme cytosolique, source de stress oxydatif au niveau de l'endothélium vasculaire (Dopp et al. 2011). Elle catalyse l'hydroxylation de l'hypoxanthine en xanthine et la xanthine en acide urique en utilisant l'oxygène moléculaire (O_2) (**figure 13**). La réduction des molécules d' O_2 par cette enzyme entraîne la production d'anions superoxydes et de peroxydes d'hydrogènes (Wassmann, Wassmann, et Nickenig 2004). En condition physiologique, sa production de ROS est faible mais la XO est activée par l'hypoxie – réoxygénation ou par les phénomènes d'ischémies/reperfusions. Les ROS générées par la XO limitent la biodisponibilité du NO, ce qui engendre une réduction de la vasodilatation endothélium-dépendante (Price, Vita, et Keane 2000) et contribue au remodelage vasculaire (Zalba et al. 2005). Il a été observé chez des patients souffrant du SAHOS, une amélioration de la fonction endothéliale et de la réactivité vasculaire lors de l'utilisation d'inhibiteurs de la XO, suggérant l'implication de cette enzyme dans le dysfonctionnement de l'endothélium (El Solh et al. 2006). L'équipe de Dopp confirme cette observation en démontrant que l'allopurinol, inhibiteur de la XO, permet d'atténuer la dysfonction endothéliale induite par l'HIC (10% O_2 ; 12 h/jour pendant 14 jours) chez des rats (Dopp et al. 2011).

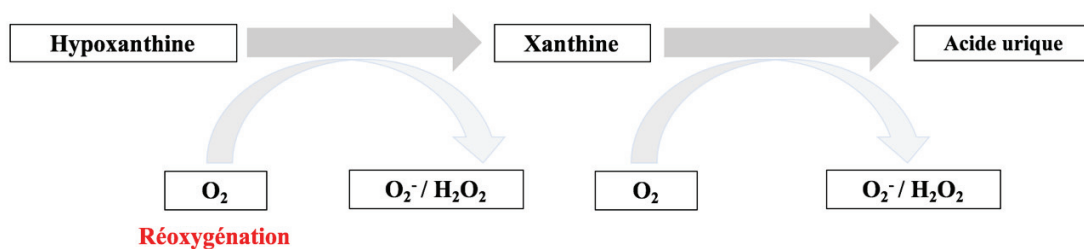


Figure 13 : Représentation schématique de la réaction de transformation de l'hypoxanthine en acide urique par la xanthine oxydase lors de phénomène de réoxygénation. Élaborée pour cette thèse.

Le découplage d'eNOs

La dysfonction endothéliale peut être engendrée par les mécanismes vus dans le **paragraphe « dysfonction endothéliale »** mais il est important de parler du découplage d'eNOs qui joue

un rôle sur la production du NO endothélial aux niveaux transcriptionnel et post-transcriptionnel. En situation hypoxique, eNOs va produire des ROS, au lieu du NO, ce qui va fortement perturber la fonction endothéliale et diminuer la biodisponibilité du NO (McQuillan et al. 1994)(Liao et al. 1995). Comme le montre la **figure 14**, dans une cellule endothéliale stimulée, l'eNOs est sous forme d'un homodimère actif. En condition physiologique, l'apport en BH4 et en arginine est suffisant, les deux sous-unités oxygénases de l'enzyme fonctionnent donc ensemble et produisent du NO (à gauche). En revanche, dans certaines conditions physiopathologiques (cas de l'hypoxie), la quantité de BH4 et/ou l'apport en arginine sont insuffisants, les deux sous-unités oxygénases de l'eNOs fonctionnent donc indépendamment et produisent simultanément du NO et des anions superoxydes ; c'est le mode découplé (à droite). Ces deux entités réagissent ensemble pour former le peroxynitrite (ONOO⁻), un pro-oxydant. Un cercle vicieux se met alors en place puisque cette surproduction de ROS cause un stress oxydatif excessif qui, à son tour, réduit et déstabilise l'ARN messenger d'eNOS, tout en limitant la biodisponibilité des cofacteurs (BH4 et NADPH) nécessaires à la production de NO (Kuzkaya et al. 2003)(Antoniades et al. 2006).

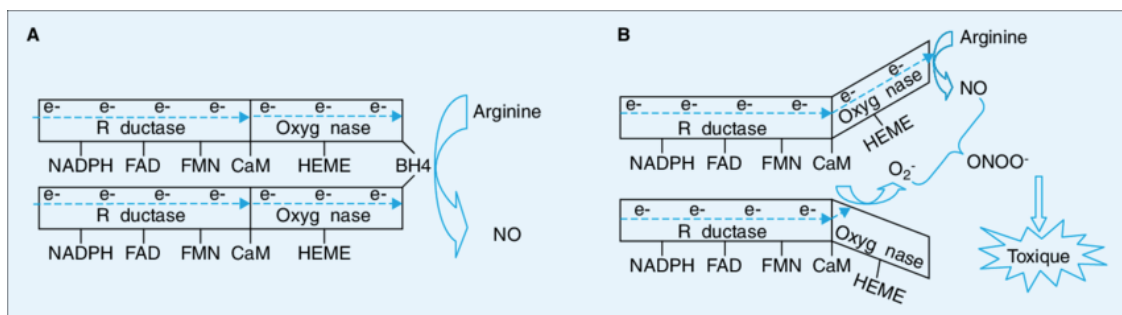


Figure 14 : Découplage de l'enzyme NO synthase (Rasmusen, Cynober, et Couderc 2005).

L'hypoxie – réoxygénation affecte, non seulement, la production de NO mais également le stress oxydatif qui diminue les quantités de NO et d'eNOS. Une étude de 2012, a démontré une amélioration de la dilatation des artères chez les patients atteints du SAHOS, après une injection intraveineuse de vitamine C, un antioxydant et capteur de radicaux, suggérant un rôle important du stress oxydatif sur la dysfonction endothéliale (Grebe et al. 2006).

L'angiotensine II (Ang-II)

La stimulation de la production de ROS peut également être induite par l'angiotensine I (Oparil, Zaman, et Calhoun 2003). Une étude a mis en évidence que l'HTA induite par l'Ang-II, chez les rats, active la NOX en augmentant l'expression de l'ARN messager de la p22^{phox} vasculaire, une sous-unité de cette enzyme (Fukui et al. 1997). L'activation de la NOX, dépendante du récepteur de l'Ang-II, est associée à une formation accrue d'anions superoxydes qui réagissent facilement avec le NO pour former du peroxyde d'azote oxydant. La diminution de la biodisponibilité de NO est un mécanisme permettant d'expliquer la potentialisation de la réponse vasoconstrictrice à l'Ang II dans les cas d'HTA. L'Ang-II engendre d'autres mécanismes toxiques pour les vaisseaux, qui sont liés à l'activation de la NOX. Par exemple, l'Ang-II participe à l'oxydation du cholestérol en lipoprotéines de basse densité (LDL) et augmente l'expression de l'ARNm de la molécule-1 d'adhésion des cellules vasculaires (VCAM-1) pouvant contribuer au développement de l'athérosclérose (Tummala et al. 1999). De plus, il a été démontré que les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'Ang-II et les antagonistes du récepteur AT₁R, limitent les réactions d'oxydation dans le système vasculaire en bloquant l'activation de la NOX (Oparil, Zaman, et Calhoun 2003). Une étude de 2011, réalisée chez l'humain, suggère l'implication de l'Ang-II dans l'augmentation du stress oxydatif et dans la baisse du taux de NO en HIC. En effet, l'inhibition des AT₁R, par le Losartan (antagoniste des récepteurs), annule en partie l'activité du peroxyde d'azote et la baisse du métabolisme de NO induit par une exposition en HI durant 6 heures (Pialoux et al. 2011).

Défenses anti-oxydantes

L'homéostasie des antioxydants est fortement régulée et est essentielle pour le maintien d'un bon fonctionnement cellulaire et biochimique. Le moindre dysfonctionnement peut engendrer des dommages cellulaires et tissulaires. Les cellules utilisent de nombreuses stratégies anti-oxydantes et consomment beaucoup d'énergie pour contrôler leur niveau de ROS. Les antioxydants peuvent être préventifs, c'est-à-dire qu'ils suppriment la formation de ROS ou être piègeurs de radicaux, pour supprimer les réactions initiales et/ou empêcher

la propagation en chaîne. Les antioxydants peuvent également réparer les dommages des ROS comme c'est le cas des enzymes protéolytiques et de réparation de l'ADN (Rahman, Biswas, et Kode 2006).

Les défenses anti-oxydantes sont classées en deux catégories selon si elles sont ou non enzymatiques. Parfois, la littérature parle des défenses anti-oxydantes endogènes (produites par le corps) et exogènes (apportées par la nourriture). Le **tableau 4** présente les principaux antioxydants :

	Antioxydant	Action
Enzymatiques	Superoxyde dismutase (SOD)	Dismute $O_2^{\bullet-}$ en H_2O_2
	Catalase (CAT)	Transforme H_2O_2 en H_2O et O_2
	Glutathion peroxydase (GPx)	Réduit H_2O_2 en H_2O
	Glutathion réductase (GR)	Recycle GSSG en GSH
Non enzymatiques	Glutathion	Réduit H_2O_2 en $ROOH$
	Vitamine C	Réduit $O_2^{\bullet-}$ et OH^{\bullet}
	Vitamine E	Neutralise ROO^{\bullet} et RO^{\bullet}
	Acide urique	Réduit OH^{\bullet}
	Flavonoïdes	Neutralise ROO^{\bullet} et RO^{\bullet}
	Caroténoïdes (lycopène)	Piège 1O_2 et peut réduire ROO^{\bullet}
	Coenzyme Q10	Réduit Fe^{3+} et $O_2^{\bullet-}$

Tableau 4 : Présentation des antioxydants enzymatiques et non enzymatiques. GSSG : glutathion oxydé ; GSH : glutathion réduit ; ROOH : hydroperoxyde ; ROO[•] : radical peroxyde ; RO[•] : radical alcoxyde ; ¹O₂ : oxygène singulet. Élaboré pour cette thèse.

Antioxydants enzymatiques

Les superoxydes dismutases

Les superoxydes dismutases (SOD) sont des métalloprotéines qui constituent la première ligne de défense contre le stress oxydatif. Les SOD permettent de convertir l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène (**figure 15**), qui sera ensuite converti en eau et oxygène

par la catalase (CAT) ou la glutathion peroxydase (GPx). Il existe trois isoformes largement répandus dans l'organisme : la SOD cytosolique (SOD1 ou SOD_{Cu-Zn}) située dans le cytoplasme, le noyau cellulaire et les peroxysomes; la SOD mitochondriale (SOD2 ou SOD_{Mn}) située dans la matrice mitochondriale à proximité de la chaîne de transport des électrons; et la SOD extracellulaire (SOD3 ou SOD_{Ec}) présente dans les liquides extracellulaires et la matrice extracellulaire (en particulier du cœur, pancréas et poumons) (Tsan 2001). Il semble que la SOD mitochondriale soit indispensable pour la survie. En effet, des études ont démontré que des souris, dont le gène codant pour la SOD_{Mn} a été invalidé, ne survivent qu'une dizaine de jours après leur naissance et présentent de nombreuses pathologies au niveau neurologique et cardiaque (Li et al. 1995)(Lebovitz et al. 1996). Une autre étude rapporte que l'absence de la SOD_{Cu-Zn} n'entraîne pas la mort des souris mais engendre le développement de nombreuses maladies (Melov et al. 1999). Plusieurs mutations de la SOD_{Cu-Zn} ont été observées dans les formes familiales de la sclérose latérale amyotrophique (Zelko, Mariani, et Folz 2002).

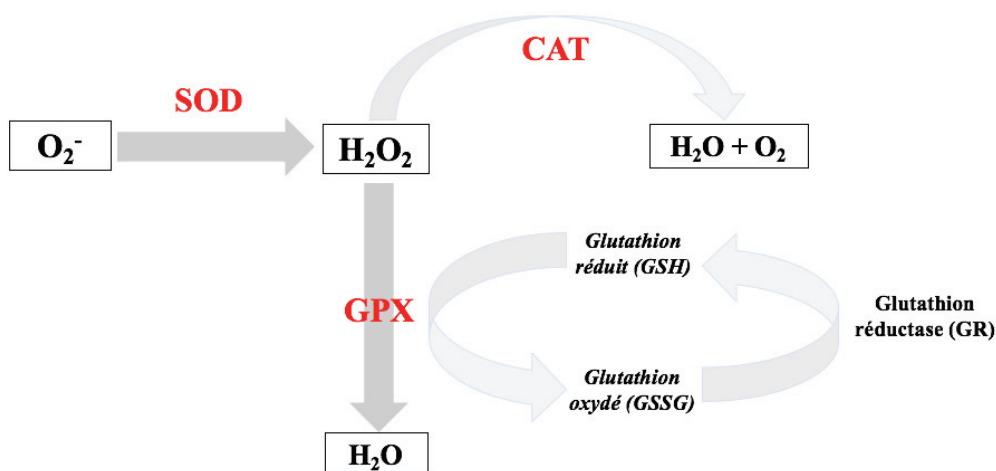


Figure 15 : Représentation schématique du système antioxydant enzymatique. SOD : superoxyde dismutase ; CAT : catalase ; GPx : glutathion peroxydase ; O_2^- : anion superoxyde ; H_2O_2 : peroxyde d'hydrogène ; H_2O : eau et O_2 : oxygène. Élaborée pour cette thèse.

Les glutathions peroxydases (GPx)

Elles permettent de prendre en charge le peroxyde d'hydrogène et de le réduire en eau (**figure 15**). Chez l'humain et les rongeurs, il y a cinq isoformes de la GPx, localisés dans le noyau, la mitochondrie et le cytoplasme (Matés et Sánchez-Jiménez 1999). Les GPx possèdent une sélénocystéine, indispensable pour leur activité enzymatique (Ding et al. 1998) et permettent la réaction d'oxydoréduction entre le glutathion réduit (GSH) et le glutathion oxydé (GSSG). Parallèlement, la glutathion réductase (GR) permet de recycler le GSSG en GSH grâce à la NADPH (**figure 16**).



Figure 16: Représentation schématique du cycle de la glutathion peroxydase (GPx) et la glutathion réductase (GR). GSH : glutathion réduit ; GSSG : glutathion oxydé. Élaborée pour cette thèse.

La catalase (CAT)

La CAT est une enzyme hémique qui accélère la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau et oxygène (**figure 15**). Elle est principalement présente dans le foie, les hématies et les reins, au niveau des peroxysomes (Deisseroth et Dounce 1970)(Kodydková et al. 2014). Elle permet la dégradation d'une concentration de peroxyde d'hydrogène plus importante que la GPx (Day 2009).

Antioxydants non-enzymatiques

Les composants antioxydants non-enzymatiques agissent principalement en piégeant les radicaux libres et en capturant l'électron célibataire pour les transformer en molécules ou

ions stables. En jouant un rôle de piègeurs, les composants antioxydants deviennent des radicaux mais seront détruits ou régénérés par un autre système (Krinsky 1989). Par exemple, l'acide ascorbique (vitamine C) réduit le radical hydroxyle et l'anion superoxyde et, en parallèle, permet la régénération de la vitamine E (tocophérol). Elle est elle-même recyclée grâce aux enzymes ascorbates réductases (Packer 1991). Même si la vitamine C est principalement connue pour son rôle antioxydant, il faut noter qu'elle peut également être pro-oxydante en réduisant l'ion Fe^{3+} en Fe^{2+} et ainsi favoriser la réaction de Fenton (Evans et Halliwell 1999). De plus, les vitamines C et E jouent un rôle important dans l'inhibition de la peroxydation des lipides. L'antioxydant non enzymatique et endogène le plus important est le glutathion car il protège contre les radicaux oxygénés en les réduisant et agit également contre les peroxydes (H_2O_2) ou le radical $NO\cdot$. De plus, il permet de recycler la vitamine C (figure 17).

Dans le cas du SAHOS, la vitamine C a déjà prouvé son efficacité contre le stress oxydatif et la dysfonction endothéliale développés chez les patients (Grebe et al. 2006).

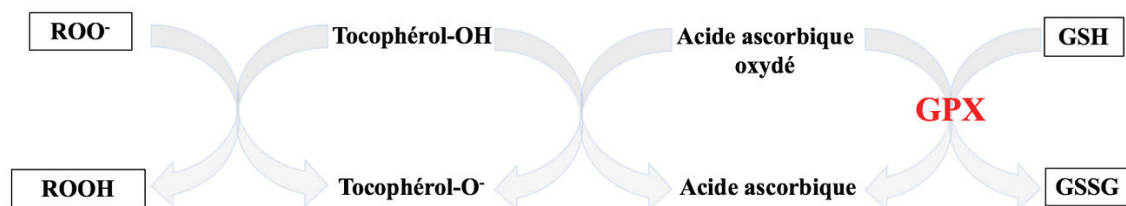


Figure 17 : Représentation schématique du cycle de recyclage entre la vitamine E (tocophérol), la vitamine C (acide ascorbique) et le glutathion peroxydase (GPx). GSH : glutathion réduit ; GSSG : glutathion oxydé ; ROOH : hydroperoxyde ; $ROO\cdot$: radical peroxyde. Élaborée pour cette thèse.

Cibles des ROS

L'ADN

L'ADN est souvent la cible des ROS. C'est la base guanine qui est principalement affectée par les phénomènes d'oxydations. En effet, la guanine interagit avec le radical hydroxyle et forme du 8-hydroxy-2'-désoxyguanosine. Ce composé peut, par la suite, se lier avec l'adénine au lieu de la cytosine et induire des mutations au sein de l'ADN (Haleng et al.

2007). Les groupements aromatiques des bases de l'ADN sont également la cible du radical (Nikitaki et al. 2015). Ces modifications de l'ADN peuvent entraîner des coupures de l'ADN simple brin et double brin.

La quantité de 8-hydroxy-2'-désoxyguanosine, retrouvée dans les urines, est plus élevée chez les patients avec SAHOS sévère que ceux avec un état modéré (Yamauchi et al. 2005).

Les lipides

Les lipides, et particulièrement les acides gras polyinsaturés, sont la cible des ROS. C'est principalement le radical hydroxyle qui oxyde les acides gras pour former un radical peroxy qui libère, à son tour, des aldéhydes toxiques pour les cellules (Davies 2000)(Haleng et al. 2007) ; on parle de peroxydation des lipides. Le malondialdéhyde (MDA) est un des principaux aldéhydes retrouvés dans le sang, qui peut être dosé par spectrométrie à l'aide de l'acide thiobarbiturique (TBA) qui réagit avec le MDA. La concentration de MDA est ainsi définie comme un marqueur de peroxydation des lipides pouvant servir pour quantifier le stress oxydatif (Janero 1990). L'oxydation peut se faire sur les acides gras polyinsaturés membranaires, entraînant une modification de la fluidité et la perméabilité de la membrane, et des variations de l'activité des récepteurs présents (Saad et al. 2006)(Lavie 2015). Les ROS peuvent également attaquer les lipides circulants et engendrer la formation de LDL oxydées qui vont indirectement causer des phénomènes inflammatoires (Saad et al. 2006).

Chez les patients avec un SAHOS la quantité des TBARS (*Thiobarbituric acid reactive substances*) dans le plasma et dans les vésicules de LDL est élevée (Lavie, Vishnevsky, et Lavie 2004) (Barceló et al. 2000). Cependant, avec la PPC, la peroxydation des lipides diminue et retrouve des valeurs proches des sujets sains (Barceló et al. 2000)(Lavie, Vishnevsky, et Lavie 2004).

Les protéines

Les protéines sont également sensibles à l'oxydation par les ROS. Ce sont principalement les acides aminés soufrés (cystéine et méthionine) et aromatiques (tyrosine) qui sont visés, et cette oxydation entraîne la formation de groupements carbonylés (Lavie 2015). Les

modifications, suite à ces oxydations, engendrent des changements structuraux et fonctionnels comme la perte d'activité enzymatique ou la non reconnaissance de la protéine par son récepteur. Par exemple, l'oxydation des groupements thiols permet la formation de ponts disulfures entre les résidus (Davies 2000). Enfin, la concentration d'AOPP (*advanced oxidation protein product*) est un marqueur de l'oxydation avancée des protéines dont la voie principale de production est les myéloperoxydases (Witko-Sarsat et al. 1996).

Stress oxydatif et hypertension artérielle induite par l'hypoxie intermittente

Comme nous en avons discuté précédemment, les principaux producteurs de ROS (mitochondries, NADPH oxydase et xanthine oxydase) sont fortement affectés par l'HIC. De nombreuses études ont mis en évidence que les cycles d'hypoxie – réoxygénation étaient un moteur dans l'augmentation du stress oxydatif (Lavie 2003)(Row et al. 2003)(Chen et al. 2005)(Pialoux et al. 2009). Dans cette partie, ce sont les liens qui existent entre le stress oxydatif et les mécanismes impliqués dans le développement de l'HTA induite par l'HIC qui nous intéressent. Les modèles animaux d'HIC ont permis de confirmer que les cycles d'hypoxie – réoxygénation, inhérents aux patients atteints du SAHOS, entraînent une augmentation de la PA systémique. Nous avons principalement parlé de la suractivité du système sympathique due à une augmentation de l'activité du chémoréflexe des corps carotidiens et de la dysfonction endothéliale due à une altération des facteurs vasoactifs, cependant, les ROS sont des espèces qui peuvent également activer ces mécanismes.

Au niveau vasculaire, il est connu qu'ET-1 est un des facteurs pouvant expliquer la dysfonction endothéliale et la mise en place de l'HTA induite par l'HIC. En effet, les études ont largement mis en avant, qu'en situation hypoxique, ce peptide est produit et relâché, par les cellules endothéliales, en trop grande quantité entraînant ainsi une vasoconstriction excessive qui diminue le tonus vasculaire (Kanagy, Walker, et Nelin 2001)(Allahdadi, Walker, et Kanagy 2005)(Guo et al. 2013). Or, il existerait une forte interaction entre ce peptide ET-1 et les ROS qui pourrait expliquer comment le stress oxydatif joue un rôle sur les mécanismes impliqués dans le développement de l'HTA. Une étude de 2000, a mis en évidence que l'ET-1 augmente le stress oxydatif, en stimulant la NOX2, pouvant entraîner

une dysfonction endothéliale et le développement de l'athérosclérose (Duerrschmidt et al. 2000). La réciproque fonctionne aussi puisqu'une autre étude a démontré que l'ET-1 peut être activé par le peroxyde d'hydrogène (Kaehler et al. 2002). Enfin, une étude plus récente, décrit une nouvelle voie de régulation qui explique que l'augmentation des ROS, due à l'exposition en HIC (5% O₂ ; 7 h/jour pendant 2 à 7 jours), active le facteur nucléaire des lymphocytes T activées (NFATc3), qui va potentialiser la réactivité vasoconstrictrice et les réponses au calcium et à l'ET-1 (Friedman et al. 2014). L'inhibition de NFAT semble avoir une pertinence clinique pour prévenir l'HTA chez les patients avec un SAHOS. De plus, pour mettre en évidence le rôle joué par les ROS sur les mécanismes impliqués dans la dysfonction endothéliale, des études se sont intéressées aux conséquences de traitements avec des antioxydants. En 2007, une équipe a rapporté qu'un traitement au TEMPOL, un mimétique de la superoxyde dismutase, chez des rats exposés à une HIC (5% O₂ ; 7 h/jour pendant 14 jours), permettait de diminuer les concentrations plasmatiques d'ET-1 et la production de superoxydes (Troncoso Brindeiro et al. 2007). Une autre étude de 2011, a utilisé un mimétique de la SOD mitochondriale, le mitoTEMPO et a démontré que les anions superoxydes produits par la mitochondrie jouent un rôle important dans le développement de l'HTA et que les traitements avec des antioxydants sont pertinents (Dikalova et al. 2010).

Au niveau du système nerveux périphérique, les ROS viennent également interagir sur les mécanismes impliqués dans le développement de l'HTA induite par l'HIC. L'exacerbation de l'activité de chémoréflexe des corps carotidiens est la principale cause de la suractivité du système sympathique et des études ont révélé que le stress oxydatif agit directement sur ces éléments. C'est principalement la NOX2 qui est mise en cause, puisque la quantité d'ARNm de la NOX2 est 30 fois plus importante dans les corps carotidiens, en condition d'HIC (5% O₂ ; 8 h/jour pendant 10 jours) (Peng et al. 2009). Par conséquent, l'activité de la NOX étant plus importante, elle produit plus de ROS, entraînant des dommages tissulaires. Une étude réalisée sur des rats placés en HIC durant 10 jours (5% O₂ ; 8h/jour) rapporte une augmentation de la peroxydation des lipides, avec une élévation de la concentration de MDA, dans les cellules chémoréceptrices de type 1 du corps carotidien (Peng et al. 2013). La NOX va également modifier la chaîne de transport des électrons mitochondriale en diminuant l'activité du complexe I et en augmentant la fuite d'électrons. Les ROS mitochondriaux seront, par conséquent, en plus grand nombre. Des études ont démontré cette surproduction

de ROS mitochondriaux en évaluant l'activité de l'aconitase (enzyme impliquée dans le cycle de Krebs) (Khan et al. 2011). L'activité de cette enzyme est fortement diminuée en présence de ROS et c'est ce qui a été observé sur des corps carotidiens de rats exposés à l'HIC (5% O₂ ; 8 h/jour pendant 10 jours) (Peng et al. 2003). Comme pour la dysfonction endothéliale, des études ont été réalisées en utilisant des antioxydants enzymatiques ou non et des inhibiteurs des pro-oxydants, pour mettre en avant l'implication du stress oxydatif dans le développement de l'HTA. Au cours de ces dernières années, les études se sont multipliées, en utilisant différents modèles et différents traitements pour comprendre l'implication des ROS dans la suractivité du chémoréflexe. Que ce soit avec des inhibiteurs de la NOX (apocynine) (Peng et al. 2009) ou de la XO (allopurinol) (Morgan et al. 2016)(Morgan et al. 2018), avec des antioxydants tels que la vitamine C (Del Rio, Moya, et Iturriaga 2010) ou des mimétiques de SOD (Peng et Prabhakar 2004), toutes les études ont conclu que l'augmentation de la réponse à l'hypoxie, au niveau des corps carotidiens, peut être évitée en bloquant la production du stress oxydatif. De plus, ces études ont également révélé que le développement de l'HTA, induit par l'HIC, peut être limité en utilisant ce type de traitement (Khan et al. 2011)(Nanduri et al. 2013a)(Prabhakar et al. 2015).

SYNTHÈSE

De nombreuses études, sur les modèles animaux et sur les patients souffrants du SAHOS, ont mis en évidence que les cycles d'hypoxie – réoxygénation induisaient le développement de l'HTA. Les mécanismes impliqués commencent à être au centre des études fondamentales et différents traitements se mettent en place pour empêcher l'apparition de cette HTA. Nous avons vu que le stress oxydatif joue un rôle clé dans l'augmentation de la PA induite par l'HIC et dans le SAHOS. La limitation de ce stress oxydatif pourrait être une voie thérapeutique pour limiter l'HTA associée au SAHOS. Cependant, de récentes études avertissent des risques de l'utilisation d'antioxydants car si la dose et la durée du traitement ne sont pas strictement contrôlées, la balance redox peut être perturbée (augmentation du phénotype pro-oxydant et/ou diminution des capacités anti-oxydantes (Schieber et Chandel 2014).

Les études, citées dans les parties I. et II., ont mis en évidence la corrélation entre la privation d'hormones ovariennes, lors de la ménopause, et le développement de l'HTA et du SAHOS. Les estrogènes joueraient un rôle protecteur du système cardiovasculaire, ce qui suggère que la supplémentation en estradiol pourrait être une bonne thérapie contre l'HTA induite par l'HIC. Cette hormone peut jouer un rôle direct sur la fonction vasculaire, et plus particulièrement sur les cellules endothéliales, pour éviter la mise en place de la dysfonction endothéliale (Miller et Duckles 2008). Elle possède également des capacités anti-oxydantes permettant de limiter le stress oxydatif.

Dans cette dernière partie, nous allons aborder, la notion de ménopause, comme élément déclencheur de l'HTA induite par l'HIC, et l'estradiol, comme élément défenseur contre les conséquences vasculaires de l'HIC.

LA MÉNOPAUSE ET L'ESTRADIOL

LA MÉNOPAUSE : UN FACTEUR DE RISQUE DE L'HYPERTENSION ARTÉRIELLE

Définition

La ménopause est l'arrêt définitif de la menstruation, suite à l'épuisement progressif du capital folliculaire ovarien (Spinelli 2004). L'âge de la ménopause semble être déterminé génétiquement et n'est pas affecté par le nombre d'ovulations antérieures. Cependant, certains facteurs, comme le tabagisme (Adena et Gallagher 1982), peuvent provoquer une ménopause précoce. La ménopause peut aussi être induite suite à une ovariectomie (ablation des ovaires) (Siddle, Sarrel, et Whitehead 1987).

Bien que la ménopause soit associée à des modifications des hormones hypothalamo-hypophysaire, qui régulent le cycle ovarien et menstruel, ce n'est pas un événement central, mais plutôt une insuffisance ovarienne primaire. Comme le nombre de follicules ovariens diminue avec l'âge, l'ovaire n'est plus en mesure de répondre aux hormones hypophysaires, à savoir l'hormone folliculostimulante (FSH) et l'hormone lutéinisante (LH). Par conséquent, la production ovarienne d'œstrogènes et de progestérone cesse (**figure 18 - gauche**). L'axe hypothalamo-hypophysaire-ovarien reste intact pendant la transition ménopausique ; ainsi, les taux de FSH et LH augmentent en réponse à une insuffisance ovarienne et en l'absence de rétroaction négative de l'ovaire (**figure 18 - droite**). L'atrésie de l'appareil folliculaire, en particulier des cellules de la granulosa, entraîne la réduction de la production d'œstrogène et d'inhibine (hormone inhibitrice de la FSH), engendrant une augmentation des taux de FSH, signe cardinal de la ménopause (Dalal et Agarwal 2015).

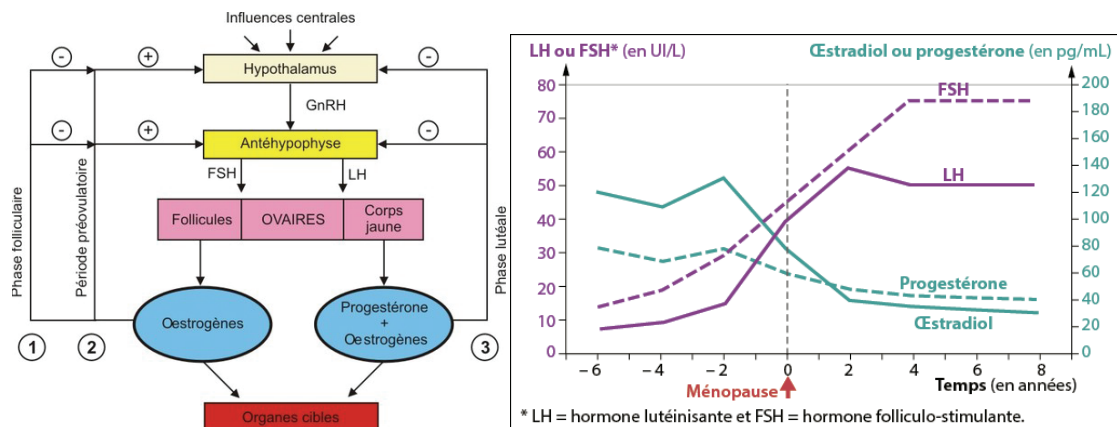


Figure 18 : Représentation schématique de l'interaction hormonale dans l'axe hypothalamo-hypophysaire, régulant le cycle ovarien (à gauche). Graphique présentant les concentrations des hormones centrales (LH et FSH) et des hormones ovariennes (progestérone et œstrogène) avant et après la ménopause (à droite).

Il faut cependant noter que les femmes ménopausées continuent d'avoir de faibles taux d'œstrogènes en circulation et ceci grâce à trois sources : principalement par l'aromatase périphérique, via les surrénales ; de l'androstènedione circulant (Dalal et Agarwal 2015), par l'aromatase d'autres précurseurs plasmatiques de l'estrone (E1) et de l'œstrogène (E2) ; et par la sécrétion glandulaire d'E1 et E2 (Grodin, Siiteri, et MacDonald 1973). Le tissu adipeux est également un site majeur d'aromatase, suggérant que la prise de poids, lors de la ménopause, peut venir augmenter le taux d'hormones circulantes et favoriser les risques de cancers gynécologiques (Siiteri 1987)(Rose et Vona-Davis 2010).

SAHOS lors de ménopause

La qualité du sommeil se détériore généralement avec le vieillissement, et la ménopause semble favoriser ce processus progressif (Dennerstein et al. 2000). Les femmes signalent environ deux fois plus de difficultés de sommeil (insomnies) que les hommes (Manber et Armitage 1999). La perturbation du sommeil est un signe clinique partagée par la ménopause et le SAHOS. Dans cette thèse, ce symptôme est particulièrement intéressant car il peut expliquer, en partie, pourquoi les femmes ménopausées sont souvent sous-diagnostiquées pour le SAHOS.

À plus long terme, la ménopause engendre une augmentation des risques de maladies cardiovasculaires comme l'accident vasculaire cérébral, l'HTA, la coronaropathie, à tel point que les affections vasculaires représentent la première cause de mortalité chez les femmes ménopausées (Thom et al. 2006).

Traitements hormonaux de la ménopause.

La ménopause ne nécessite aucun traitement mais les médecins peuvent prescrire des médicaments pour soulager les symptômes. Ces traitements peuvent inclure un traitement hormonal (TH) visant à contrer le déficit hormonal de la ménopause.

Il est important de préciser que l'hormonothérapie a une histoire assez particulière. Tout d'abord, dans les années 1980-1990, l'utilisation de traitement oestrogénique et progestatif est fortement suggérée (en outre par The American College of Physicians (« Guidelines for Counseling Postmenopausal Women about Preventive Hormone Therapy. American College of Physicians » 1992)) pour soulager les femmes ménopausées, suite aux conclusions de multiples études montrant des effets bénéfiques contre les maladies coronariennes et l'ostéoporose (Stampfer et Colditz 1991)(Grady et al. 1992)(Grodstein et al. 1997). Cependant, à la fin des années 1990 et au début des années 2000, d'autres études, réalisées sur des femmes plus âgées et ayant reçues le TH dix ans ou plus après le début de leur ménopause, rapportaient une augmentation des maladies cardiovasculaires et des risques supérieurs (cancers du sein) aux avantages (Hulley et al. 1998)(Rossouw et al. 2002). Après la publication des données de The Women's Health Initiative (WHI) (Rossouw et al. 2002), les prescriptions de TH ont diminué drastiquement. Par la suite, de nouvelles analyses ont été faites, à partir des anciennes données, mais en utilisant la stratification par âge (Klaiber, Vogel, et Rako 2005)(Lobo et al. 2016). Elles ont permis de démontrer que, lorsque le TH était initié chez des femmes plus jeunes (50 à 59 ans) ou moins de dix ans après le début de la ménopause, il diminuait les maladies coronariennes et la mortalité associée. De plus, aucune relation avec le cancer du sein n'a été perçue.

Actuellement, le traitement recommandé aux femmes ménopausées est une association d'un modulateur sélectif des récepteurs aux estrogènes, les SERMs (le bazédoxifène) et d'œstrogènes conjugués (Lobo et al. 2009)(Umland, Karel, et Santoro 2016).

Modèle animal de la ménopause : ovariectomie

Étant donné que chez les rongeurs on parle de sénescence reproductive et non de ménopause, l'utilisation des rates, comme modèle animal pour comprendre les mécanismes sous-jacents de la ménopause, nécessite une intervention médicamenteuse ou chirurgicale (Barlet et al. 1994). Il est possible de bloquer la synthèse et l'action des estrogènes, en utilisant des inhibiteurs de l'aromatase (Brodie, Lu, et Long 1999) ou des antagonistes aux récepteurs des estrogènes (Brodie, Jelovac, et Long 2003). Cependant, les traitements médicamenteux n'assurent pas un arrêt total de la production des estrogènes et peuvent engendrer le blocage d'autres voies de signalisation. L'ablation des deux ovaires ou ovariectomie, reste un bon moyen de mimer les conséquences de la ménopause. En enlevant les ovaires, la principale source de production des estrogènes est éliminée, assurant une privation d'hormones, comme observée chez la femme ménopausée. Il est important de noter que d'autres organes, comme les glandes surrénales, le foie, le tissu adipeux et le système nerveux vont continuer à produire des estrogènes. Le modèle du rat ayant subi une ovariectomie a été initialement mis en place pour étudier l'ostéoporose, une maladie des os et une conséquence majeure de la ménopause (Kalu 1991)(Lelovas et al. 2008). Il est maintenant largement utilisé pour étudier les autres conséquences de la ménopause tels que les conséquences neurologiques ou cardiovasculaires (Baeza et al. 2010)(Rocca, Grossardt, et Shuster 2011).

L'ESTRADIOL : UNE DÉFENSE CONTRE L'HYPERTENSION ARTÉRIELLE

Les œstrogènes sont synthétisés par les ovaires, les glandes surrénales, le système nerveux et le placenta, et nous les retrouvons sous trois formes : l'estrone (E1), l'estradiol (E2) et l'estriol (E3). Chez la femme, l'E2 ou 17 β -estradiol est la principale forme d'œstrogène en circulation et les taux de testostérone sont relativement faibles. À l'inverse, chez les hommes, c'est la testostérone, le principal androgène circulant, et les taux d'œstrogènes dans le sang sont beaucoup plus bas que chez la femme (Miller et Duckles 2008). La testostérone est un intermédiaire clé car elle est convertie en œstrogène par l'action de l'aromatase et en dihydrotestostérone, un androgène puissant, par la 5 α -réductase (**figure 19**).

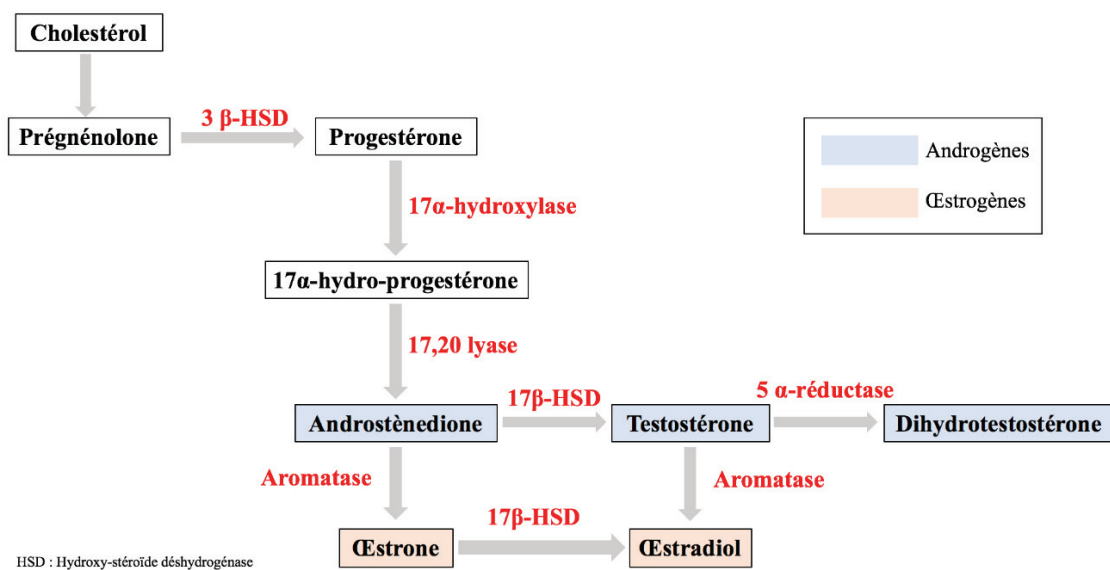


Figure 19 : Représentation schématique de la synthèse de l'estradiol. Élaborée pour cette thèse.

Les œstrogènes ciblent principalement les organes en lien avec la reproduction, tels que l'utérus, les glandes mammaires et le vagin, mais ils peuvent également jouer un rôle sur le système cardiovasculaire.

Les études suggèrent qu'il existe au moins deux types de récepteurs distincts pour les œstrogènes :

- Les récepteurs aux œstrogènes classiques (ER), qui sont des facteurs de transcription activés par le ligand. Il y en a deux formes : ER α et ER β .
- Un récepteur couplé à la protéine G, le GPER, également appelé GPR30 (Hasbi, O'Dowd, et George 2005).

Récepteurs de l'estradiol

Le premier récepteur aux œstrogènes, ER α , a été découvert à la fin des années 1950 mais il a fallu attendre les années 1990 pour découvrir le deuxième récepteur, nommé ER β (Kuiper et al. 1996). ER α et ER β sont tous les deux membres de la superfamille des récepteurs d'hormones nucléaires, qui sont des facteurs de transcription activé par un ligand (ici l'estradiol). Ils sont codés par des gènes distincts ayant des localisations chromosomiques différentes (Dahlman-Wright et al. 2006). Ils présentent un degré élevé de similitudes au niveau structural. L'homologie de la séquence d'acides aminés entre ER α et ER β est d'environ 97% dans le domaine de liaison à l'ADN et d'environ 55% dans le domaine de liaison au ligand (AF2) (Dahlman-Wright et al. 2006) (**figure 20**).

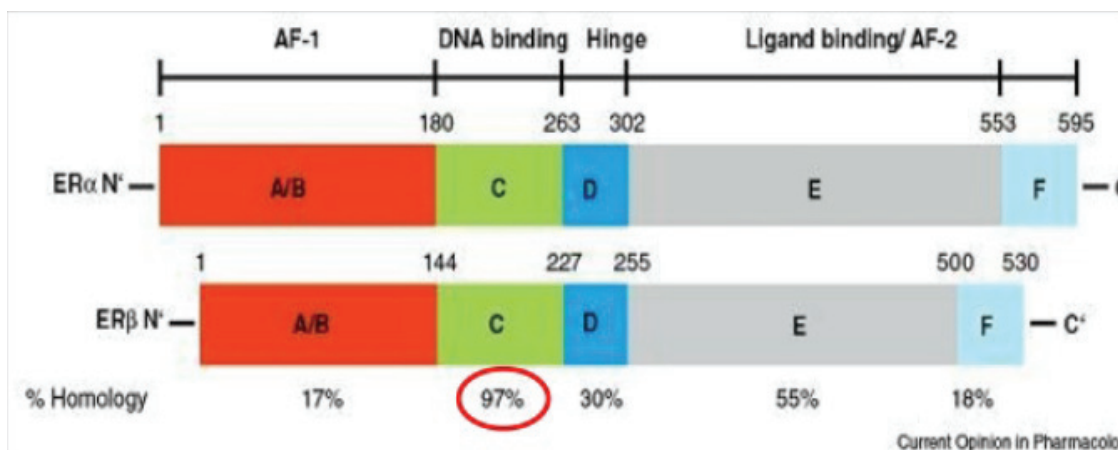


Figure 20 : Représentation schématique des récepteurs ER α et ER β . D'après *Current Opinion in Pharmacology*.

Outre les actions des œstrogènes par les ER classiques, de nombreuses observations ont démontré qu'ils pouvaient également agir via un récepteur couplé à la protéine G situé sur la membrane plasmique (Hasbi, O'Dowd, et George 2005). Le GPR30 est identifié à l'origine comme un récepteur orphelin couplé à la protéine G mais est, par la suite, reconnu comme

une protéine localisée dans le réticulum endoplasmique et pouvant se lier spécifiquement à l'œstrogène. Ce récepteur a donc ensuite été nommé GPER (Miller et Duckles 2008).

Les œstrogènes exercent une partie de leurs effets par le biais de l'action des ER classiques sur l'expression des gènes, on parle de signaux génomiques. Cependant, un certain nombre d'effets des œstrogènes sont si rapides qu'ils ne peuvent pas dépendre de la synthèse d'ARN et de protéines, on parle alors des signaux non génomiques (Björnström et Sjöberg 2005).

Signaux génomiques

Les principaux effets de l'E2 sont induits par la fixation de la molécule sur les ER α et ER β par des signaux génomiques et selon trois mécanismes différents :

- ***Le mécanisme d'action classique (figure 21 – point 1)*** : Étant donné que ces ER sont des facteurs de transcription, la fixation de l'œstrogène va entraîner un changement de conformation des récepteurs et une dimérisation, avant d'être transportés jusqu'au noyau. Une fois au noyau, ils vont pouvoir se lier à des éléments spécifiques, appelés éléments de réponse aux œstrogènes (ERE) situés sur les promoteurs des gènes cibles (Nilsson et al. 2001)(Björnström et Sjöberg 2005).
- ***L'action génomique ERE-indépendante (figure 21 – point 2)*** : D'autres études ont démontré que les ER peuvent réguler la transcription sans se lier directement à l'ADN. Les ER, dans de tels cas, peuvent moduler la fonction d'autres classes de facteurs de transcription par le biais d'interactions protéine-protéine. C'est le cas de l'interaction entre le facteur de transcription AP-1 (activator-protein-1) et les ER (Göttlicher, Heck, et Herrlich 1998).
- ***L'action génomique indépendante des ligands (figure 21 – point 3)*** : Les facteurs de croissance activent des cascades de réactions protéine-kinase, conduisant à la phosphorylation et à l'activation des ER nucléaires.

Les ER sont capables de s'activer avec la fixation de l'E2 mais également avec des composés non stéroïdiens comme les SERMs. Ce type de composés a permis de distinguer les ER α et

les ER β et aident à comprendre les actions distinctes des différents ER (α , β , nucléaires, non nucléaires) dans des contextes expérimentaux. Deux principaux agonistes synthétiques sélectifs tels que le propyl-pyrazole trisphenol (PPT) et le diarylpropionitrile (DPN) ont été mis au point (Harrington et al. 2003). Le PPT montre une sélectivité 400 fois plus importante pour les ER α que pour les ER β (Stauffer et al. 2000). Le DPN est, quant à lui, sélectif pour les ER β , même si sa sélectivité pour ER β n'est pas aussi grande que celle du PPT pour ER α (Meyers et al. 2001).

Signaux non génomiques

Les actions non génomiques sont une propriété commune des hormones stéroïdiennes et sont fréquemment associées à l'activation de différentes cascades par des protéines kinases (Lösel et Wehling 2003). Le GPER, situé sur les membranes plasmiques et les membranes du réticulum endoplasmique (Prossnitz et Barton 2011), est un des récepteurs qui peut être activé par l'E2 et déclencher une cascade de signalisation. La fixation de l'E2 active une protéine Gs qui permet de stimuler l'activité de l'adénylate cyclase et la production de AMPc (Aronica, Kraus, et Katzenellenbogen 1994). De plus, le 17 β -estradiol peut également activer la voie de signalisation des MAPK et de la phosphoinositol (PI) 3-kinase dans différents types cellulaires et particulièrement dans les cellules endothéliales (Chen et al. 1999). Parallèlement, certains auteurs ont suggéré que des signaux non génomiques pourraient être générés lors de la fixation des œstrogènes aux récepteurs classiques, situés au niveau de la membrane plasmique, les mER α et mER β (Pappas, Gametchu, et Watson 1995)(Razandi et al. 1999). Par exemple, dans les cellules endothéliales, des mER α et mER β ont été trouvés au niveau de cavéoles et permettraient l'activation de l'eNOs grâce à la phosphorylation induite par la protéine kinase (Chambliss et al. 2002) (**figure 21 – point 4**). De plus, les ER membranaires seraient capables d'activer directement les récepteurs membranaires de la protéine tyrosine kinase. Au niveau des cellules cancéreuses du sein, le mER α , activé par l'E2, interagit directement avec le récepteur de l'IGF-1, entraînant son activation et celle de la voie des MAPK (Kahlert et al. 2000). Il faut cependant noter que d'autres auteurs sont en

désaccord avec l'implication des ER classiques dans les signaux non génomiques (Toran-Allerand et al. 2002).

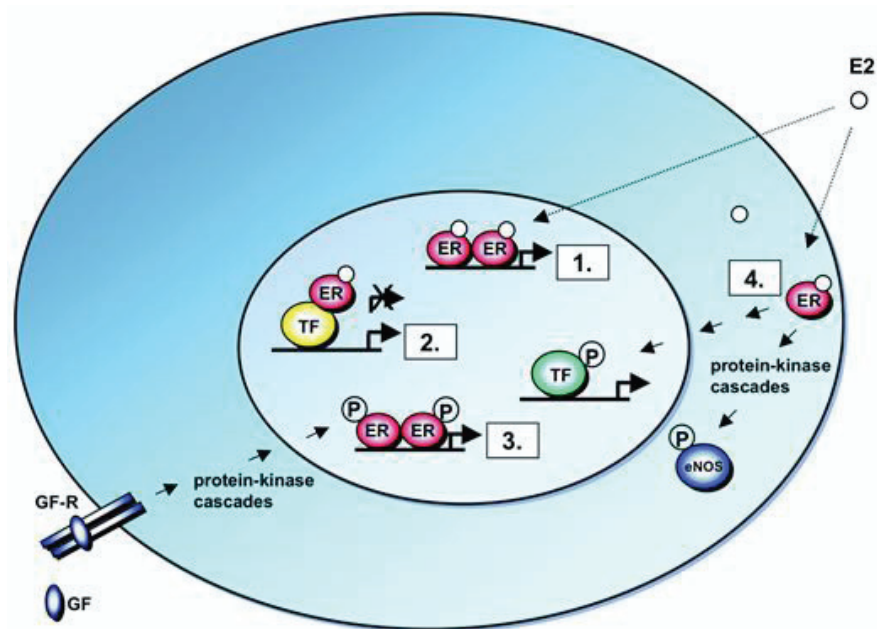


Figure 21 : Représentation schématique des mécanismes de signalisation des ER. 1-Mécanisme d'Action génomique classique ; 2- Mécanisme d'action génomique indépendant des ERE ; 3- Mécanisme d'action génomique indépendant des ligands ; 4- Mécanisme d'action non génomique (Björnström et Sjöberg 2005).

Rôle de l'estradiol sur l'hypertension artérielle

Les études épidémiologiques rapportent que l'HTA est la cause majeure de comorbidités et de mortalité chez les femmes ménopausées (Isles et al. 1992). Il a été largement démontré, dans la littérature que la ménopause engendre une forte augmentation de la prévalence de l'HTA, suggérant que les hormones ovariennes, et particulièrement l'E2, auraient un rôle vaso-protecteur (Miller et Duckles 2008)(Murphy 2011)(Buleishvili et al. 2016). Pour étudier les conséquences cellulaires de la ménopause, des modèles animaux, où l'ablation totale des ovaires est réalisée par chirurgie, sont utilisés. Dans ces modèles d'animaux ovariectomisés, l'élévation de la PA a également été observée, confortant l'idée que la privation des œstrogènes a un forte répercussion sur la régulation de la pression sanguine (Milsted et al.

1998)(Hernández et al. 2000). De plus, des études réalisées sur des rates ou souris ovariectomisées, ont démontré que le traitement transdermique par l'E2 (entre 4 et 8 semaines) permettait de diminuer la pression artérielle moyenne (Brosnihan et al. 1994)(Hernández et al. 2000). Ce sont des résultats qui ont également été observés lors d'études cliniques réalisées chez des femmes ménopausées. Le traitement transdermique à l'E2 a induit une augmentation significative du débit cardiaque et du volume systolique, ainsi qu'une diminution de la PA (Mercurio et al. 1997)(Alfie et al. 1997). Toutes ces études mettent en évidence que les œstrogènes ont des effets bénéfiques sur le système de contrôle cardiovasculaire.

Au niveau des mécanismes d'action de l'E2, outre ces effets directs sur la paroi vasculaire qu'on abordera dans le paragraphe suivant, l'E2 peut également agir sur le système nerveux autonome, composante essentielle pour maintenir l'homéostasie du tonus vasculaire et la PA. Dans le système nerveux central des animaux, les ER α et ER β sont ubiquitaires, sauf dans le cervelet (Vanderhorst, Gustafsson, et Ulfhake 2005). L'ER α semble être le récepteur prédominant, dans le cerveau, bien qu'il existe des différences d'expression de chaque récepteur selon le sexe et entre les femelles ovariectomisées et celles traitées à l'œstrogène (Vanderhorst, Gustafsson, et Ulfhake 2005). La stimulation par l'E2 de ces récepteurs, dans les neurones, active des voies intracellulaires génomiques et non génomiques (tel que décrit au-dessus) (McEwen 2001). Comme les fibres exprimant les ER sont co-localisées avec les cellules adrénergiques, cholinergiques et sérotoninergiques, dans les groupes de neurones contrôlant l'activité du système nerveux sympathique, l'E2 va affecter l'activité neuronale en induisant des modifications du rythme cardiaque et de la PA. Par conséquent, il n'est pas surprenant d'observer des perturbations lors de la réduction des taux d'œstrogènes au moment de la ménopause. Des études ont mis en évidence que le sevrage d'œstrogènes augmente l'activité neuronale sympathique périphérique et les concentrations circulantes de noradrénaline. Ceci conduisant à une élévation de la PA, en particulier en présence d'un facteur de stress (Owens, Stoney, et Matthews 1993)(Vongpatanasin et al. 2001)(Wyss et Carlson 2003). Une étude a également démontré que la suppression du gène codant pour le récepteur ER β chez la souris conduit à un phénotype d'HTA, suggérant que l'augmentation du tonus sympathique peut également résulter de la réduction des effets de ce récepteur (Zhu et al. 2002).

Rôle de l'estradiol sur la fonction endothéliale

La dysfonction endothéliale est un acteur majeur de l'HTA et est principalement induite lors de perturbations affectant les facteurs vasoactifs et vasorelaxants. Lors de la ménopause, la privation d'œstrogènes entraîne le développement de l'HTA et la dysfonction endothéliale. L'estradiol, est une puissante molécule vaso-protectrice exerçant des effets directs et indirects sur l'endothélium via ces deux récepteurs connus, ER α et ER β , qui sont exprimés dans les cellules endothéliales vasculaires et les cellules musculaires lisses (Mendelsohn et Karas 1999). Les effets indirects, tels que l'abaissement du taux de lipoprotéines plasmatiques, représentent environ un tiers des effets bénéfiques cardiovasculaires. Les actions directes de l'E2, sur la paroi vasculaire, sont principalement des modifications de l'expression et de la fonction des gènes des cellules endothéliales, contribuant de manière substantielle à ses effets vaso-protecteurs.

La principale action de l'E2 est la régulation positive de la production du NO, pouvant favoriser la vasodilatation des vaisseaux (Chambliss et Shaul 2002). Une étude a rapporté que l'E2 induisait une augmentation de la production du NO via l'activation de la eNOs dans les cellules endothéliales humaines (Nevzati et al. 2015). Cette action serait médiée par les ER α puisqu'une étude, réalisée sur des rates ovariectomisées et hypertendues, a rapporté des effets bénéfiques d'un traitement à l'E2, mais également d'un traitement avec un agoniste des ER α (Cpd1471). Ces deux traitements ont permis de prévenir la dysfonction endothéliale en augmentant l'expression d'eNOs dans les cellules endothéliales de l'aorte. Cette étude a également mis en avant que la relaxation NO dépendante de l'aorte, induite par l'acétylcholine, est améliorée lorsque les animaux reçoivent une supplémentation d'E2 ou de Cpd1471 (Widder et al. 2003). Une autre étude affirme que l'ovariectomie du rat entraîne une diminution de l'expression de l'enzyme eNOs et de la relaxation NO dépendante. Parallèlement, si les rates sont traitées avec de l'E2, une augmentation de l'expression d'eNOs et une amélioration de la vasorelaxation NO dépendante de l'artère pulmonaire et de l'aorte sont observables (Gonzales, Walker, et Kanagy 2001). De plus, il a été prouvé que l'E2 diminuait la réponse contractile de l'aorte de rat lors d'application de phényléphrine (Castillo et al. 2006). Toutes ces études mettent en évidence que l'estradiol va potentialiser les effets

vasodilatateurs et diminuer les capacités contractiles des vaisseaux pour assurer l'homéostasie du tonus vasculaire.

Les œstrogènes seraient également capables de réguler les facteurs vasoconstricteurs, tels que l'ET-1, sécrétées par l'endothélium (Dubey et al. 2001)(Miller et Duckles 2008). Dans les cellules du ventricule du myocarde des rates, l'ovariectomie entraîne une augmentation de l'expression des récepteurs ET-B qui est prévenue par une supplémentation en E2 (60 jours de traitement avec une pompe en sous cutanée) (Nuedling et al. 2003). Une autre étude démontre que l'E2 inhibe la synthèse de l'ET-1 via un mécanisme indépendant de ER (Dubey et al. 2001).

Rôle de l'estradiol sur le stress oxydatif

L'E2 et d'autres composés estrogéniques apparentés, sont connus comme des antioxydants en raison de leur structure phénolique du cycle A (deux groupements hydroxyles). Cependant, bien que cela puisse être vrai *in vitro*, la simple considération de la dose à laquelle l'E2 agit *in vivo* exclut la possibilité que sa fonction anti-oxydante soit basée strictement sur ses propriétés chimiques phénoliques (Borrás et al. 2010). Des études montrent que, *in vivo*, les effets antioxydants des estrogènes sont médiés par les ER. En effet, la liaison aux ER va permettre l'activation de la protéine kinase activée par le mitogène (MAPK) et du facteur nucléaire kappa B (NFκB) (Borrás et al. 2005) qui stimulent l'expression des gènes des enzymes anti-oxydantes et qui vont agir directement sur la mitochondrie, productrice de ROS (Borrás et al. 2010). De plus, il a été constaté que la production de peroxydes est significativement plus faible lorsque les mitochondries de rats mâles sont incubées en présence de 0,2 nM ou plus d'E2, ce qui correspond à la concentration physiologique estimée d'E2 dans les cellules (Borrás et al. 2010).

Des études ont rapporté que les rates ayant subies une ablation des ovaires (ovariectomie) présentent des niveaux de stress oxydatif plus important (Borrás et al. 2003)(Miller et Duckles 2008), suggérant un rôle antioxydant des hormones ovariennes. En parallèle, d'autres travaux ont mis en évidence que les estrogènes jouent un rôle sur le stress oxydatif,

induit lors de situations de stress comme l'ovariectomie ou l'HIC, par des actions sur les mitochondries et sur la chaîne de transport des électrons (**figure 22**). En effet, l'E2 peut stimuler la fonction mitochondriale, au niveau de l'endothélium vasculaire en potentialisant la phosphorylation oxydative (Stirone et al. 2005). Une étude de 2010, sur des mitochondries isolées de rats mâles, a démontré que l'estradiol (à 0,2 nM) empêche la libération de la cytochrome c par les mitochondries, permettant de diminuer la fuite d'électrons. L'E2 augmente aussi l'efficacité de la chaîne respiratoire en augmentant le potentiel de membrane et en diminuant la production de peroxyde d'hydrogène (Borrás et al. 2010). De plus, l'E2 peut se fixer sur les ER nucléaires, présents dans les mitochondries et activer des facteurs de transcription de certains gènes comme les facteurs nucléaires respiratoires (NRF-1 et NRF-2). Le NRF-1 est connu pour augmenter la respiration mitochondriale et diminuer le stress oxydatif mitochondrial, en favorisant la synthèse des enzymes anti-oxydantes, comme la SOD_{Mn} (Mattingly et al. 2008). Le NRF-2 va permettre l'activation de l'expression de la GPx et de la catalase par la voie de signalisation de la NADPH quinone oxydo-réductase (NQO1) et de l'hème oxygénase (HO-1) (Yu et al. 2012)(Li et al. 2014).

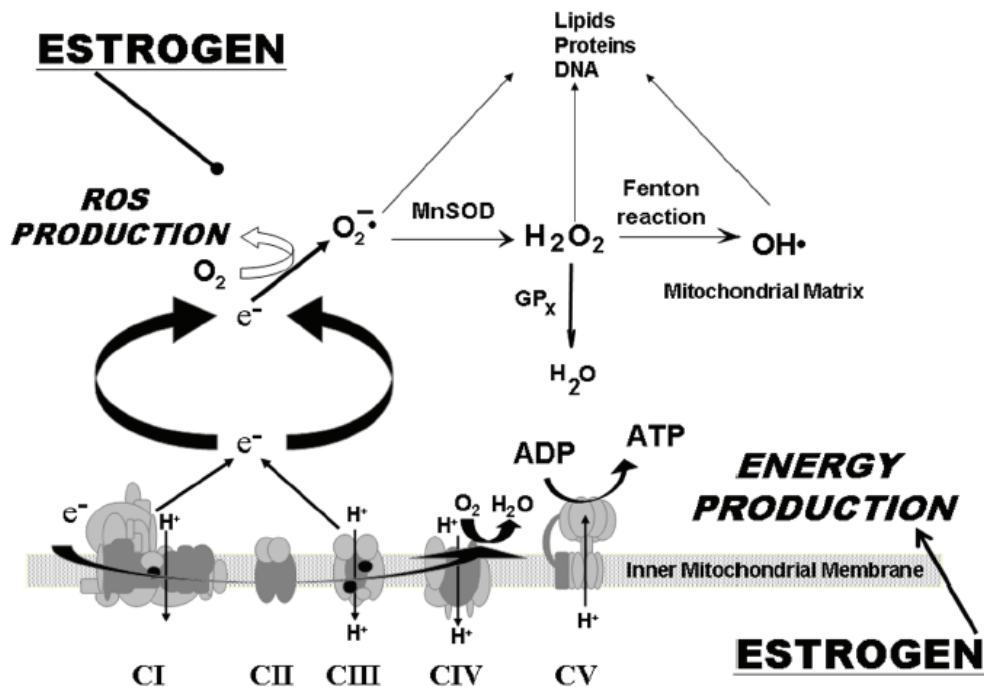


Figure 22 : Représentation schématique des effets des estrogènes sur la fonction mitochondriale (Duckles et al. 2006).

Les œstrogènes peuvent diminuer les ROS par d'autres mécanismes que par les mitochondries. Par exemple, la supplémentation en E2 réduit la production des ROS, induite par l'angiotensine II, dans les cellules du muscle lisse vasculaire de l'aorte thoracique du rat (Strehlow et al. 2003). Les œstrogènes diminuent également l'activité de la NOX et la génération intracellulaire de ROS, dans les cellules endothéliales de la veine ombilicale humaine (Juan et al. 2004). C'est un mécanisme également observé sur des aortes de rates ovariectomisées. L'étude rapporte une activité diminuée de la sous unité de la NOX, p47^{phox}, lors du traitement à l'E2 et une chute de la production des anions superoxydes par la NOX (Florian, Freiman, et Magder 2004). De plus, dans les cellules musculaires lisses vasculaires, le traitement à l'E2 augmente les niveaux de la superoxyde dismutase mitochondriale (SOD_{Mn}) en augmentant son taux de transcription (Miller et Duckles 2008). Ceci a également été observé dans des vaisseaux sanguins cérébraux de rates ovariectomisés et traités avec des œstrogènes (Stirone et al. 2005).

SYNTHÈSE

La **figure 23** nous permet de conclure cette introduction et d'annoncer le travail expérimental réalisé durant ce doctorat. Elle met en évidence les différents mécanismes sous-jacents à la mise en place de l'HTA qui nous ont intéressés dans ce projet.

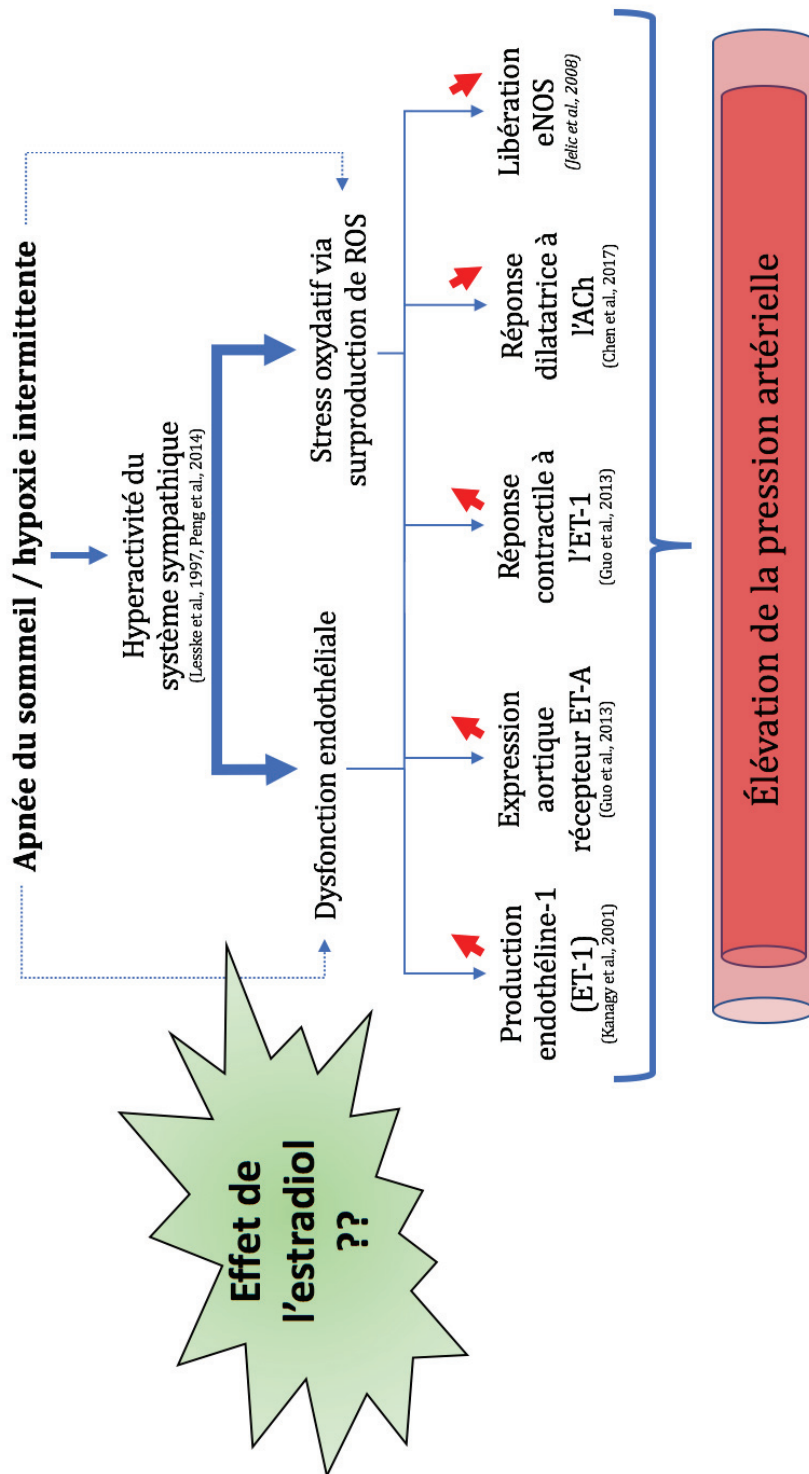


Figure 23 : Représentation schématique du développement de l'hypertension artérielle via la dysfonction endothéliale et le stress oxydatif, dans le cas de l'apnée du sommeil ou d'une exposition en hypoxie intermittente. ROS : espèces réactives oxygénées; ET-1 : endothéline-1; ET-A : récepteur de l'endothéline-1; ACh : acétylcholine; eNOS : enzyme de synthèse de l'oxyde nitrique endothéliale. Élaborée pour cette thèse.

HYPOTHÈSE GÉNÉRALE ET OBJECTIFS

Hypothèse générale

Après l'analyse de la littérature que nous avons effectuée, nous sommes partis des constats suivants pour formuler l'hypothèse générale de cette thèse :

- 1- L'apnée du sommeil obstructive et l'hypoxie intermittente, induite par cette pathologie, augmentent le risque de développer de l'HTA (Torres, Sánchez-de-la-Torre, et Barbé 2015).
- 2- La fonction endothéliale (réactivité vasculaire et modulateurs biochimiques) et le stress oxydatif sont fortement impliqués dans la mise en place de l'HTA (Atkeson et al. 2009).
- 3- La prévalence de l'HTA et les désordres vasculaires associés, augmentent chez la femme après la ménopause (Zhou et al. 2015).
- 4- Les estrogènes, et particulièrement l'estradiol, jouent un rôle crucial dans le maintien du tonus vasculaire et de l'homéostasie des substances vasoactives sécrétées par l'endothélium (Miller et Duckles 2008).

Ainsi, l'hypothèse générale de cette thèse est que **la supplémentation en estradiol permettrait de prévenir le développement de l'hypertension artérielle induit par l'hypoxie intermittente en agissant sur la fonction endothéliale, la réactivité vasculaire et le stress oxydatif.**

Objectifs

Pour répondre à cette hypothèse, nous avons divisé ce travail de doctorat en différents objectifs :

1. Est-ce que la supplémentation en estradiol prévient l'augmentation de la pression artérielle induite par l'HIC dans notre modèle animal ?
2. Est-ce que la supplémentation en estradiol reverse les effets de l'HIC sur la réactivité vasculaire de l'aorte, un vaisseau de conductance ?
3. Est-ce que l'HIC et la supplémentation en estradiol affectent la sécrétion de l'endothéline-1, une substance vaso-active impliquée dans l'hypertension artérielle ?

4. Est-ce que l'HIC augmente le stress oxydatif au niveau vasculaire et est-ce que l'estradiol a un rôle protecteur contre ce stress cellulaire ?
5. Est-ce que l'HIC augmente le stress oxydatif au niveau du tissu pulmonaire et est-ce que l'estradiol a un rôle protecteur contre ce stress cellulaire ?

Modèle animal de notre projet

Des rates adultes Sprague-Dawley (250-270g) ont été utilisées pour répondre aux objectifs de cette thèse. Les animaux ont été ovariectomisés (ablation des deux ovaires, OVX) ou non (incision du muscle abdominal mais pas de retrait des ovaires, SHAM) et ont été implantés d'une pompe osmotique en sous cutanée qui distribuait du solvant ou de l'estradiol, durant tout le protocole. Après 14 jours de récupération, les animaux ont été placés soit en normoxie (21% O₂ ; RA) soit en HIC (21%-10% O₂ ; 10cycles/h ; 8h/jour). Deux durées d'exposition ont été testées : une période courte de 7 jours consécutifs et une période plus longue de 35 jours. Les animaux ont été répartis en 6 groupes : SHAM-RA, SHAM-HIC, OVX-VEH-RA, OVX-VEH-HIC, OVX-E2-RA et OVX-E2-HIC.

À partir de ce modèle animal HIC, nous avons réalisé différentes expérimentations, réparties en trois temps.

- 1- L'étude de Tahawi, en 2001, a démontré qu'une exposition prolongée (35 jours) à une hypoxie intermittente sévère (21%-3% O₂ ; 8h/jour) engendre une augmentation de la pression artérielle des rats, une diminution de la relaxation endothélium-dépendante des artérioles et une baisse de la production du NO, substance vaso-relaxante sécrétée par l'endothélium (Tahawi et al. 2001). Dans cette première série d'expérimentations, nous avons voulu comprendre les conséquences d'une HIC plus modérée (21%-10% O₂) et selon deux durées (7 et 35 jours) sur la pression artérielle. Pour cela, les pressions artérielles (moyenne, systolique et diastolique) ont été mesurées avant et après l'exposition en HIC ou en RA (7 ou 35 jours). Nous avons également étudié les conséquences de l'HIC sur la fonction endothéliale d'un vaisseau de conductance, l'aorte. La réactivité vasculaire *ex vivo* de l'aorte a été enregistrée pour étudier (1) la réponse contractile du vaisseau en présence de phényléphrine (réponse α -adrénergique), (2) la réponse vasodilatatrice endothélium-dépendante en présence d'acétylcholine et (3) la

réponse vasodilatatrice endothélium-indépendante en présence de sodium nitroprusside. Enfin, la concentration d'ET-1 a été dosée dans le plasma, prélevé après les protocoles d'exposition, au moment du sacrifice de l'animal. Ces premières expérimentations nous ont permis d'étudier le rôle de l'estradiol sur la fonction endothéliale de l'aorte.

- 2- Dans ce deuxième temps, des expérimentations ont été faites pour comprendre le rôle de l'estradiol sur le stress oxydatif induit au niveau vasculaire. Les activités des enzymes pro-oxydantes, la NADPH oxydase et la xanthine oxydase, ainsi que des enzymes anti-oxydantes endogènes, la superoxyde dismutase, la catalase et la glutathion peroxydase, ont été analysées dans des échantillons d'un vaisseau de conductance, l'aorte. La concentration du marqueur du stress oxydatif AOPP (advanced oxidation protein end products) a également été dosée dans les fragments d'aorte.

Ces deux séries d'expérimentations ont permis de répondre aux quatre premiers objectifs de la thèse et sont présentées dans le **chapitre 1** qui réfère à un **article publié dans Acta Physiologica en 2018**. Cet article a fait l'objet **d'un éditorial dans Acta Physiologica** (O'Halloran 2019).

- 3- La dernière série d'expérimentations nous a permis d'étudier le stress oxydatif induit par l'HIC au niveau des poumons et de comprendre le rôle de l'estradiol sur ce stress oxydatif. Il nous a semblé intéressant d'aller comprendre comment l'HIC affectait la balance redox au niveau du tissu pulmonaire puisque l'hypoxie a une forte répercussion sur les poumons (développement de l'hypertension pulmonaire) (Tuder et al. 2007). De plus, une étude de 2008 a conclu que le niveau de stress oxydatif induit par l'HIC est organe spécifique et dépend de la durée de l'exposition (Jun et al. 2008). Pour comprendre si, dans notre modèle animal d'HIC, le stress oxydatif augmente dans le tissu pulmonaire, nous avons reproduit les mêmes dosages d'activités enzymatiques (pro et anti-oxydantes) et de concentration du marqueur du stress oxydatif que dans l'expérimentation 2, en utilisant des échantillons de poumons prélevés sur nos animaux au moment du sacrifice et conservés à -80°C. Nous avons également étudié les effets de la supplémentation en estradiol sur ce stress oxydatif pulmonaire.

Les résultats de cette série d'expérimentations sont présentés dans le chapitre 2 qui réfère à un article en préparation de soumission.

1 Chapitre I

Protective roles of estradiol against vascular oxidative stress in ovariectomized female rats exposed to normoxia or intermittent hypoxia

Alexandra Ribon-Demars^{1,2}, Vincent Pialoux^{2,3}, Anaëlle Boreau², François Marcouiller¹, Richard Larivière⁴, Aida Bairam¹ and Vincent Joseph¹.

1 : Centre de Recherche de l'Institut Universitaire de Cardiologie et de Pneumologie du Québec, Université Laval, Québec, QC, Canada.

2 : Laboratoire Inter-Universitaire de biologie de la motricité, Université Claude Bernard Lyon1, Villeurbanne, France.

3 : Institut Universitaire de France, Paris, France.

4 : Centre de Recherche du Centre Hospitalier Universitaire de Québec, Hôtel-Dieu de Québec, Université Laval, Québec, QC, Canada.

Keywords: Estradiol, female rats, sleep apnea, vascular oxidative stress

1.1 Résumé en français

Objectif : Nous avons testé l'hypothèse que l'estradiol (E2) réduit le stress oxydatif aortique et dysfonctionnement endothélial chez des rates ovariectomisées (OVX) exposées à une hypoxie intermittente chronique (HIC) ou en normoxie (RA).

Méthodes : Nous avons utilisé des rates intactes (SHAM) ou OVX, traitées avec du solvant ou de l'E2 (0,5 mg/kg/jour) et exposées en RA ou en HIC (21% -10% O₂, 10 cycles/h, 8h/j) pendant 7 ou 35 jours. Nous avons mesuré la pression artérielle, la fréquence cardiaque et déterminé la concentration plasmatique d'endothéline-1. Sur des échantillons d'aorte thoracique, nous avons également mesuré les activités des enzymes pro-oxydantes, la NADPH (NOX) et la xanthine oxydase (XO), des enzymes anti-oxydantes, la superoxyde dismutase (SOD), la catalase, la glutathion peroxydase (GPx), et la concentration d'AOPP (marqueur du stress oxydatif). Enfin, nous avons utilisé des anneaux aortiques pour évaluer la réponse contractile à la phényléphrine et les effets vasodilatateurs en réponse à l'acétylcholine.

Résultats : Après 7 ou 35 jours d'exposition à une HIC, la supplémentation en E2 a réduit la pression artérielle. L'E2 a diminué les concentrations plasmatiques d'endothéline-1 après 7 jours d'HIC, mais pas après 35 jours. L'ovariectomie, mais pas l'exposition à l'HIC, a augmenté le stress oxydatif, phénomène qui est totalement annulé par la supplémentation en E2. Étonnamment, chez les animaux en RA, l'E2 réduit les activités de la NOX et de la XO, mais chez les animaux exposés en HIC, la diminution du stress oxydatif par l'E2 se fait en augmentant l'activité de la catalase. Chez les rates OVX, exposées pendant 7 jours d'HIC, la supplémentation en E2 a amélioré la vasodilatation médiée par l'oxyde nitrique. Après 35 jours d'HIC, les activités enzymatiques, la concentration en AOPP et la réactivité aortique étaient similaires dans tous les groupes.

Conclusion : Une thérapie basée sur une supplémentation en E2 pourrait aider à prévenir les conséquences vasculaires de l'HIC chez les femmes apnéiques.

1.2 Abstract

Aim: We tested the hypothesis that estradiol (E2) reduces aortic oxidative stress and endothelial dysfunction in ovariectomized (OVX) female rats exposed to room air (RA) or chronic intermittent hypoxia (CIH).

Methods: We used intact or OVX female rats treated with vehicle or E2 (0.5 mg/kg/d) and exposed to RA or CIH (21%-10% O₂, 10 cycles/h, 8 h/d) for 7 or 35 days, and measured the arterial pressure, heart rate and plasma endothelin-1 levels. We also measured in thoracic aortic samples, the activities of the pro-oxidant enzymes NADPH (NOX) and xanthine oxidase (XO), the antioxidant enzymes superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase and the advanced oxidation protein products (AOPP—oxidative stress marker). Finally, we used aortic rings to assess the contractile response to phenylephrine and the vasodilatory response to acetylcholine.

Results: After 7 or 35 days of CIH, E2 supplementation reduced arterial pressure. E2 reduced plasma endothelin-1 levels after 7 days of CIH, but not after 35 days. Ovariectomy, but not CIH for 7 days, increased aortic oxidative stress and E2 treatment prevented this effect. Remarkably, in animals exposed to RA, this was achieved by a reduction in NOX and XO activities, but in animals exposed to CIH this was achieved by increased catalase activity. In OVX female rats exposed to CIH for 7 days, E2 supplementation improved the NO-mediated vasodilation. After 35 days of CIH, enzymatic activities, AOPP and aortic reactivity were similar in all groups.

Conclusion: E2-based therapy could help prevent the vascular consequences of CIH in apneic women.

1.3 Introduction

One of the main features of obstructive sleep apnea (OSA) is the chronic intermittent hypoxia (CIH) that leads to oxidative stress, inflammation, and associated pathological responses (Lavie et Lavie 2009)(Lavie 2015)(Lévy et al. 2015). Many studies suggest a bidirectional relationship between OSA and hypertension since OSA is present in 70 to 85% of patients with resistant hypertension (Cohen et Townsend 2013)(Konecny, Kara, et Somers 2014)(Torres, Sánchez-de-la-Torre, et Barbé 2015). It is well established that exposure to CIH increases the arterial blood pressure in healthy humans or in animals (Lesske et al. 1997)(Foster et al. 2009)(Foster et al. 2010)(Tamisier et al. 2011). The mechanisms underlying high arterial blood pressure in response to CIH include hyperactivity of the sympathetic system mediated by the peripheral chemoreceptors (Lesske et al. 1997)(Peng et al. 2014), elevated cardiac output (Lucking, O'Halloran, et Jones 2014), a dysfunction of arterial endothelial cells as shown by increased circulating levels of endothelin-1 (ET-1 – a potent vasoconstrictor) and increased aortic expression of ET_A receptors and contractile responses to ET-1(Kanagy, Walker, et Nelin 2001)(Guo et al. 2013). In addition, some studies have reported that CIH exposure reduced the dilatory response to acetylcholine in capillaries (Tahawi et al. 2001)(Phillips et al. 2004) and aorta (Hung et al. 2013)(Chen et al. 2017). One of the most likely mechanisms underlying the elevated sympathetic activity and potential endothelial dysfunction is the profound effect of CIH on the synthesis of reactive oxygen species (ROS) in the pathways of the sympathetic system, on the vascular walls, and in circulating cells that regulate endothelial functions (Peng et al. 2014)(Lavie 2015)(Laouafa, Ribon-Demars, et al. 2017).

Sex is a risk factor for OSA, and all epidemiological studies report a higher occurrence of OSA in men than in women (Young et al. 1993)(Valipour 2012)(Heinzer et al. 2015). For example, a study conducted between 2009 and 2013, reported a mean incidence of moderate-to-severe frequency of sleep apneas (>15 apneas/hour) of 49,7% in men and 23,4% in women, with a median age of 57 years (range 40-85) (Heinzer et al. 2015). In women, the incidence of OSA increases with age, especially after menopause (Bixler et al. 2001)(Valipour 2012), and early studies (Bixler et al. 2001) documented a 6- to 7-fold higher prevalence of moderate sleep apnea (>10 apneas/hour with daytime symptoms) in

postmenopausal compared to premenopausal women. In this context, it was suggested that the reduction of female sex hormones after menopause may contribute to the increased frequency of apneic events (Shahar et al. 2003)(Valipour 2012). Furthermore, a recent study showed that the risk of clinically relevant hypertension in OSA patients is higher in men than in women (Cano-Pumarega et al. 2017b). We recently showed that in ovariectomized female rats, 17 β -estradiol (E₂) supplementation protects against hypertension induced by CIH and prevents oxidative stress damage in the brain (Laouafa, Ribon-Demars, et al. 2017). The effect of E₂ against hypertension during CIH exposure was apparently related to an attenuation of peripheral chemoreceptor activity, suggesting that E₂ likely reduces the activation of the sympathetic system during CIH exposure. On the other hand, it is well known that E₂ regulates the vascular tone (Murphy 2011)(Yeasmin et al. 2017), reduces the synthesis and release of endothelin-1 (ET-1) from endothelial cells (Bilsel et al. 2000), and increases nitric oxide (NO) and antioxidant enzymes synthesis (Gonzales, Walker, et Kanagy 2001)(Bolego et al. 2005)(Ceylan-Isik et al. 2009), thereby contributing to key differences in cardiovascular health between pre- and postmenopausal women (Weiss 1972)(Amigoni et al. 2000).

To address the hypothesis that E₂ protects against the vascular effects of CIH, we used female rats with intact ovaries (SHAM), ovariectomized (OVX), or ovariectomized with E₂ supplementation and exposed to CIH or RA for 7 or 35 days. We measured arterial pressure and heart rate, and plasma levels of ET-1. We used samples of the thoracic aorta to assess the activity of the main cytosolic pro-oxidant enzymes (NADPH oxidase and xanthine oxidase – that produce high levels of anion superoxide O₂⁻) and the antioxidant enzymes superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX) and estimated oxidative stress damage by measuring the level of advanced oxidation of protein products (AOPP). We also used isolated aortic rings to assess the contractile response to a selective α 1-adrenergic receptor agonist (phenylephrine – reflecting contractile response to sympathetic activity), and the dilatory response to acetylcholine, or sodium nitroprusside (SNP) to assess endothelial-dependent NO-mediated vasodilation.

1.4 Material and methods

1.4.1 Ethical approval

All procedures have been approved by the Animal Protection Committee of the Centre de Recherche du CHU de Québec in accordance with the Canadian Council on Animal Care in Science. We used a total of 106 Sprague-Dawley female rats (57-70 days old) purchased from Charles River Laboratories (Saint-Constant, QC, Canada). All animals had access to food and water ad-libitum and were maintained under standard laboratory conditions (21°C, 12:12 h dark–light cycle: lights on at 7:00 AM and off at 7:00 PM).

1.4.2 Experimental groups

In the first series of experiments we exposed female rats (initial body weight 250 to 300 g) to room air (RA) or CIH for 7 days (short-term). The rats were separated into the following groups: sham-operated rats (SHAM) exposed to RA (SHAM-RA – n=14) or CIH (SHAM-CIH – n=10), ovariectomized (OVX) rats treated with vehicle (VEH – dimethyl sulfoxide – Bioshop and propylene glycol – J.T. Baker) *via* an osmotic pump and exposed to RA (OVX-VEH-RA – n=14) or CIH (OVX-VEH-CIH – n=12), and OVX rats treated with 17 β estradiol (E₂ – Sigma-Aldrich), *via* an osmotic pump and exposed either to RA (OVX-E₂-RA – n=10) or CIH (OVX-E₂-CIH – n=10).

In a second series of experiments, we exposed female rats to RA or CIH for 35 days (long-term) with the following groups: SHAM-RA (n=8), SHAM-CIH (n=7), OVX-VEH-RA (n=8), OVX-VEH-CIH (n=7) and OVX-E₂-CIH (n=6). In this series, the OVX-E₂-RA group was not included because in the first series of experiments there was no specific effect of estradiol on arterial blood pressure in rats exposed to RA.

1.4.3 Surgical procedure

All rats were anesthetized with 2% isoflurane and the level of anesthesia was verified before and during the surgery by the lack of reflex response to frequent tail pinching. The ovaries were removed through bilateral flank incisions. In SHAM rats the ovaries were exposed, but

otherwise left intact. At the same time, the animals were implanted subcutaneously in the upper mid-back region with an osmotic pump (Alzet®; model 2ML4 (7 days), model 2006 (35 days)) filled with vehicle (50% propylene glycol and 50% dimethyl sulfoxide) or 17 β estradiol (0.5 mg/kg/day) as used previously (Laouafa, Ribon-Demars, et al. 2017). From the day of surgery, each pump delivered a regular flow of 57.8 μ l/day for 21 days (7 days) and 3.6 μ l/day for 49 days (35 days). All animals, received standard pre- and post-operative cares, including analgesics delivery via subcutaneous injection (2.5 ml/kg) and 2 consecutive days of caprofen (20mg/kg) according to our standard protocols.

1.4.4 Chronic intermittent hypoxia exposure

Exposure to chronic intermittent hypoxia was initiated after 2 weeks of recovery from the surgery. Each rat was housed in their cage (2 rats/cage) that was connected to an oxycycler (Biospherix, Redfield, NY, USA). Oxygen dropped from 21% to 10% in 90 seconds, was held at 10% for 30 seconds, then returned to 21% in 70 seconds and held at 21% for 120 seconds, at the rate of 10 cycles/hour for 8 hours/day from 9:00 AM to 5:00 PM during 7 or 35 consecutive days. Rats exposed to RA were placed in the same room as rats exposed to CIH.

1.4.5 Measurements of body weight and hemodynamic parameters

Body weight was measured the day of surgery and after 7 or 35 days of exposure. Arterial blood pressure was measured between 8:00 and 10:00 AM on the last day of exposure to RA or CIH. We used the tail cuff method (CODA system – Kent Scientific, Torrington, CT, USA) in conscious rats, as done previously (Laouafa, Ribon-Demars, et al. 2017). Each rat was placed for adaptation in a restrainer tube resting over a warmed blanket, and left undisturbed for 1 hour before 6 sequential measurements were taken from the tail-cuff. We used the mean of the 3 lowest value for heart rate (HR), systolic (SBP), diastolic (DBP), and mean arterial blood pressures (MAP). Tail cuff recording requires restraint of the animal, however, this method is recognized as a reliable and accurate measure of arterial blood pressure compared to simultaneous telemetry measurements with a chronic aortic catheter (Feng et al. 2008). Immediately following these measurements, the animals were returned to

their home cage, and exposed to RA or CIH for 8 consecutive hours. All tissue and plasma collection was performed on the morning of the following day.

1.4.6 Plasma and tissue collection

All rats were anesthetized with ketamine/xylazine; blood samples were collected by a cardiac puncture and placed in EDTA tubes on ice (no more than 30 minutes), centrifuged at 12000 rpm for 15 minutes and stored at -80°C . The thoracic aorta was rapidly dissected, a segment was stored at -80°C for further biochemical assays, and the other was immediately used for *ex vivo* measurements of vascular reactivity.

1.4.7 Biochemical assays

Plasma levels of ET-1 were measured using an enzyme-linked immunosorbent assay (Endothelin-1 Quantikine ELISA kit, R&D Systems, USA). Estradiol analyses were performed on the Analytics E170 immunoassay module (Roche Diagnostics, Laval, Qc, Canada) with the Estradiol II assay kit (REF 03000079 190). The lower detection threshold of the assay was 5 pg/mL, with a typical variability between assays below 5%.

1.4.8 Protein extraction

Proteins were extracted from frozen thoracic aorta. After homogenization in RIPA buffer with proteases and phosphatase inhibitors, the samples were centrifuged for 12 min at 5000 rpm, the supernatant was collected and stored at -80°C . The concentration of proteins was determined by a standard colorimetric BCA assay kit (Thermo Scientific, catalogue#23225) and all subsequent measurements were normalized to protein concentration.

1.4.9 Oxidative stress enzyme activities

Xanthine Oxidase (XO)

XO activity was assessed using a cocktail containing nitroblue tetrazolium (NTB - 2.2 mM in water), Tris-HCl pH 8 (2.8 mM), and diethylene-triamine-penta-acetic acid (DTPA - 1.3 mM in Tris-HCl) and a fresh solution of hypoxanthine (500 μM in Tris-HCl/well). Then, 20

µl of sample, 250 µl of cocktail and 30 µl of hypoxanthine solutions was added to each well. The absorbance of the complex (formazan blue) formed by NTB and the superoxide anion produced by XO in the sample was read at 560 nm every 50 seconds for 5 minutes. For this assay, 2 wells were used as blanks, with 20 µl of DTPA rather than samples, and 1mM of NaCN was added in all the wells to inhibit the dismutation of the superoxide anion by SOD_{Cu-Zn}. XO activity corresponded to the slope of the formation of formazan blue by time (Laouafa, Ribon-Demars, et al. 2017).

NADPH Oxidase (NOX)

NOX activity was assessed using the same cocktail solution as XO and a fresh solution of NADPH (100 µM in Tris-HCl/well). Then, 20 µl of sample, 250 µl of cocktail, and 30 µl of NADPH were added to each well and the absorbance was read at 560 nm every 50 seconds for 5 minutes. For this assay, 2 wells were used as blanks, with 20 µl of DTPA rather than samples, and 1mM of NaCN was added in all the wells to inhibit SOD_{Cu-Zn}. NOX activity corresponded to the slope of the formation of formazan blue by time (Laouafa, Ribon-Demars, et al. 2017).

Superoxide dismutase (SOD)

SOD activity was determined by the degree of inhibition of the reaction between superoxide radicals, produced by a hypoxanthine – xanthine oxidase system, and NTB. SOD activity was measured using the cocktail detailed for the XO and NOX activities, with hypoxanthine (0.19 mM) and a fresh solution of xanthine oxidase (1.02 units/ml). We added 20 µl of sample, 250 µl of cocktail and 20 µl of XO in each well, and mixed the plate for 4-5 seconds at room temperature. The absorbance was quickly read at 450 nm every 50 seconds for 5 minutes. For this assay, 4 wells were used as blanks, with 20 µl of PBS 1X rather than samples. SOD activity for each sample corresponded to the difference between the slopes of the formation of formazan blue by time and the blank (Oberley et Spitz 1984).

Catalase (CAT)

Catalase activity was determined by using hydrogen peroxide (H₂O₂) as a substrate, and

formaldehyde as a standard. Catalase activity was determined by the formation rate of formaldehyde induced by the reaction of methanol and H₂O₂ using catalase as the enzyme (Johansson et Borg 1988).

Glutathione peroxidase (GPX)

Activity of GPX was determined as the rate of oxidation of NADPH to NADP⁺ in a cocktail solution containing glutathione reductase, NADPH (1.7 mM) and reduced glutathione (1.6 mM in water) using H₂O₂ (0.036% in water) as a substrate (Paglia et Valentine 1967). We added 15 µl of sample, 200 µl of PBS 1X, 30 µl of the cocktail solution and 30 µl of H₂O₂ solution to each well and mixed the plate 4-5 seconds at room temperature. The absorbance was quickly read at 340 nm every 50 seconds for 5 minutes. GPX activity was measured as the slope of the NADPH extinction by time.

1.4.10 Marker of oxidative stress

Advanced oxidation protein products (AOPP)

AOPP are markers of protein oxidation; they were measured according to the semi-automated methods developed by Witko-Sarsat et al. (Witko-Sarsat et al. 1996). The cytosolic concentrations of AOPP were determined by spectrophotometry and were calibrated with a chloramine-T solution that absorbs at 340 nm in the presence of potassium iodide (KI). The absorbance of the reaction mixture was immediately read at 340 nm on the microplate reader against a blank containing PBS, KI and acetic acid.

1.4.11 *Ex vivo* measurements of vascular reactivity

Preparation of vessels

Vascular reactivity was assessed using the thoracic aorta, which was immediately removed and then placed in a Krebs-Henseleit physiological solution, containing (in mM): 118 NaCl, 4.7 KCl, 2.5 CaCl₂, 1.2 MgSO₄, 1.2 KH₂PO₄, 5.5 dextrose and 25 NaHCO₃. After cleaning the connective tissue, the vessel was cut into rings of 4 mm in length. The aortic rings were mounted onto stainless steel supports, suspended in the tissue bath containing Krebs-

Henseleit physiological solution, maintained at 37°C, and gassed with 95% O₂ – 5%CO₂. The hooks were connected to an isometric force transducer (Radnoti, tissue bath system, Monrovia, CA, USA), linked to an amplifier and a computerized acquisition system (IOX, EMKA technologies, Paris, France) to record changes in isometric force.

Calibration

After an initial period of equilibration (50 minutes), the resting tension was adjusted to 2 grams. First, the aortic rings were constricted using a high potassium solution (KCl; 60 mM), in order to obtain a reference contraction, which was used to normalize subsequent contractile responses. The baths were rinsed 6 times with fresh Krebs solution for 30 minutes and the resting tension was again stabilized at 2 grams. Then, to ensure that the endothelium of each vascular ring was not damaged, the responses to the endothelium–dependent vasodilator acetylcholine (Ach; 10⁻⁵ M; Sigma-Aldrich) was assessed after contraction with phenylephrine (PHE; 10⁻⁶ M; Sigma-Aldrich).

Drugs tested

To test the contractile response of aortic rings the dose–response curve to PHE was established (10⁻⁹ - 10⁻⁵ M). Then, we used PHE (10⁻⁶ M) to contract the rings and observe the vasodilatory effect of Ach (10⁻⁹ - 10⁻³ M) and sodium nitroprusside (SNP; 10⁻⁹ - 10⁻³ M; Sigma-Aldrich). These drugs were used to assess the endothelium–dependent and – independent ability of the smooth muscle to relax. Each curve was separated by a 30 minutes washout period.

Data analysis and presentation

For vascular reactivity, the contractile responses to PHE were normalized to the maximal response obtained with 60mM of KCl and presented as a function of log [PHE]. Similarly, the vasodilatory responses to Ach and SNP were normalized to the initial contraction induced by 10⁻⁶M of PHE and presented as a function of log [Ach] or log [SNP]. To estimate the maximum contraction with PHE and maximum relaxation with Ach we used nonlinear least-square regressions for a sigmoidal dose-response.

1.4.12 Statistical analysis

We used the GraphPad Prism software (version 7.0, La Jolla, CA, USA) for all analyses. For the experiments with 7 days of exposure, we used a two-way ANOVA with hormonal status (SHAM, OVX-VEH, OVX-E₂) and CIH as grouping variables. For the experiments with 35 days of exposure, we used a one-way ANOVA. In both cases, if the ANOVA revealed significant main effects ($p < 0.05$) or interactions between grouping variables for the 2-way ANOVA, we used a post-hoc Fisher Least Significance Difference test to assess significant differences between groups.

For the dose-response curves to PHE, Ach or SNP, we used a two-way ANOVA with repeated measures (using CIH as the grouping variable and dose as the repeated variable) for each hormonal status (SHAM, OVX-VEH, OVX-E₂). If a significant effect of CIH, or a significant interaction between CIH and dose appeared, we used a Fisher's LSD post-hoc test. To compare the maxima, we used an ANOVA analysis (two-way or one-way for 7 or 35 days of exposure – see above) followed by Fisher's LSD post-hoc test.

1.5 Results

1.5.1 Short and long-term effects of CIH, ovariectomy, and E₂ supplementation on weight gain

The concentrations of plasma E₂ were increased by E₂ supplementation in OVX female rats after 7 and 35 days of exposure to CIH (**figure 24**). After 7 days of exposure to RA, few OVX females still had detectable levels of circulating estradiol (3 out of 13). Surprisingly, there were relatively more OVX females with detectable levels of plasma E₂ after exposure to 7 days of CIH (8/11). This might reflect activation of extra-gonadal sites of E₂ synthesis (Barakat et al. 2016) during short-term exposure to CIH. After 35 days of exposure to CIH, all OVX females had no detectable levels of plasma E₂.

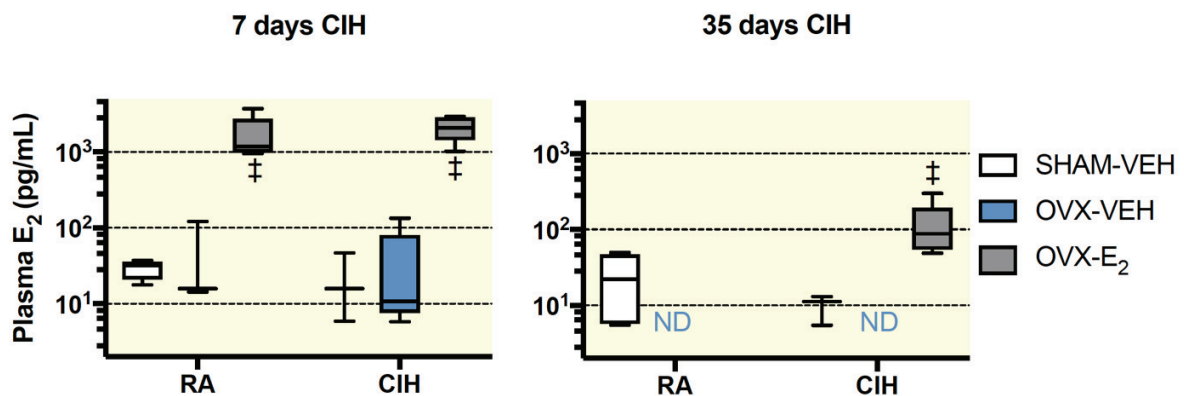


Figure 24 : Plasma concentrations of E₂ (pg/mL) after 7 (left panel) or 35 (right panel) days in RA or CIH for different hormonal status. Box and whisker plots show median (central line), 25th and 75th percentile (lower and upper box limits) and 10th and 90th percentiles (error bars). Values are the mean \pm SD. ‡: $p < 0.001$ vs other groups.

In female rats exposed to RA, ovariectomy increased weight gain, and this effect was abrogated by exposure to CIH for 7 days, or by E₂ supplementation (**figure 25**). However, exposure to CIH for 35 days reduced weight gain in both the SHAM and OVX female rats (figure 3). Weight gain during exposure to CIH was similar in SHAM and in OVX females with E₂ supplementation (**figure 26**).

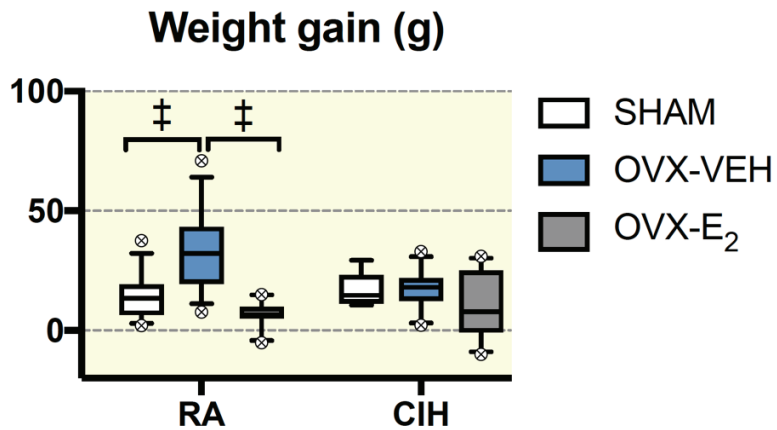


Figure 25 : Weight gain (grams) after 7 days in RA or CIH for different hormonal status. Box and whisker plots show median (central line), 25th and 75th percentile (lower and upper box limits) and 10th and 90th percentiles (error bars). Crossed-circles represent points above or below the percentiles. ‡*p*<0.001.

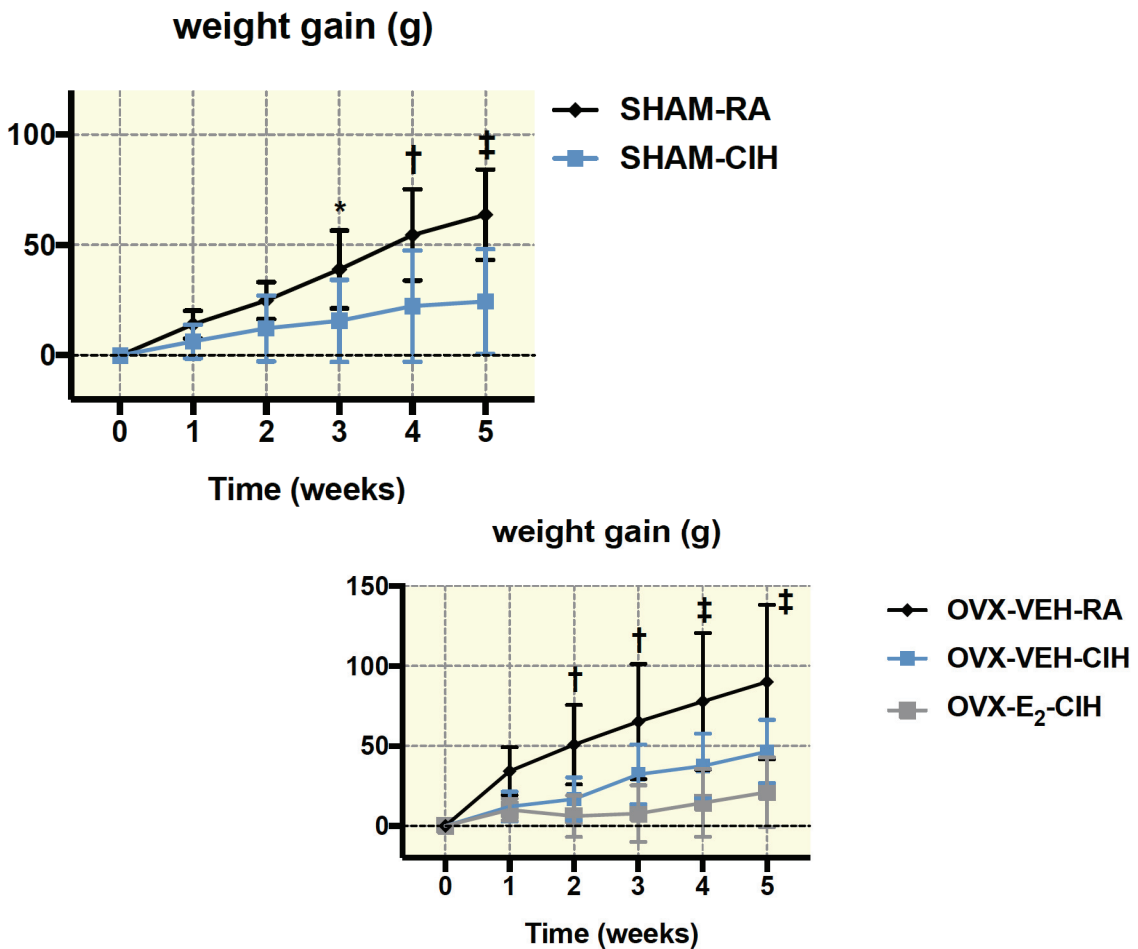


Figure 26: Weekly weight gain for SHAM groups (left panel) and for OVX-VEH and OVX-E₂ groups (right panel) during 35 days in RA or CIH. Values are the mean \pm SD. *, †, ‡: *p*<0.05, <0.01, and <0.001.

1.5.2 E₂ supplementation in ovariectomized female rats prevents the elevation of arterial blood pressure after short- and long-term exposure to CIH

Exposure to CIH for 7 days increased MAP, SBP and DBP in SHAM and OVX-VEH rats (ANOVA p-value for CIH<0.0001, 0.006 and <0.0001 respectively – **table 5**), but not in OVX-E₂ rats. In rats exposed to RA, MAP and DBP were higher in OVX-VEH than in SHAM rats, and this effect was not reversed by E₂ supplementation. In OVX rats exposed to CIH, E₂ supplementation reduced MAP, SBP and DBP (**table 5**). CIH exposure increased HR in all groups of rats (p-value for CIH<0.0001); ovariectomy had no effect on HR during exposure to RA or CIH, but E₂ supplementation reduced HR in rats exposed to RA or CIH (p-value for hormonal status<0.0001 – **table 5**).

Exposure to CIH for 35 days increased MAP, SBP and DBP in SHAM and OVX-VEH rats, and in OVX rats exposed to CIH, E₂ supplementation reduced these effects. HR was similar between all groups (**table 5**).

		RA			CIH		
		SHAM	OVX-VEH	OVX-E ₂	SHAM	OVX-VEH	OVX-E ₂
MAP (mmHg)	7 days	84.5 ± 8.9	96.7 ± 8.1 [#]	93.8 ± 10	109 ± 12 ^{***}	121 ± 16 ^{***}	100 ± 9 ^{††}
	35 days	83 ± 16	93.7 ± 14	-	104 ± 12 ^{**}	111 ± 9 ^{**}	93.8 ± 13 [†]
SBP (mmHg)	7 days	110 ± 24	119 ± 9	117 ± 12	131 ± 15 [*]	143 ± 17 ^{**}	123 ± 8
	35 days	104 ± 17	115 ± 16	-	129 ± 13 ^{**}	133 ± 6 [*]	115 ± 19 [†]
DBP (mmHg)	7 days	71.4 ± 4	85.5 ± 11 [#]	81.9 ± 6 [†]	98.1 ± 11 ^{***}	110 ± 17 ^{***}	88.7 ± 9 ^{††}
	35 days	75.5 ± 16	85.1 ± 15	-	96.2 ± 13 ^{**}	105 ± 7 ^{**}	85.4 ± 9 ^{††}
HR (bpm)	7 days	375 ± 21	376 ± 14	331 ± 30 ^{††††}	402 ± 19 [*]	402 ± 17 [*]	376 ± 12 ^{**†}
	35 days	390 ± 18	372 ± 41	-	392 ± 28	353 ± 20	382 ± 25

*Table 5 : Mean, systolic and diastolic arterial blood pressures (MAP, SDB, DBP: mmHg) and heart rate (HR: bpm) after 7 and 35 days in RA or CIH for different hormonal status (SHAM; OVX-VEH and OVX-E₂). Values are the mean ± SD; *, **, ***: p<0.05, <0.01, <0.001 vs RA; #: p<0.05 OVX-VEH vs SHAM. †, ††, †††† p<0.05, <0.01, <0.0001 OVX-E₂ vs OVX-VEH.*

1.5.3 E₂ supplementation reduces circulating ET-1 level in ovariectomized female rats after short-term exposure to CIH

The plasma level of ET-1 was elevated in OVX female rats after 7 days of exposure to CIH, and E₂ supplementation prevented this increase (p-value for the hormonal status < 0.05 - **figure 27**). However, after 35 days of exposure to CIH, the circulating concentration of ET-1 was similar in all groups (ANOVA p-value = 0.1 - **figure 27**).

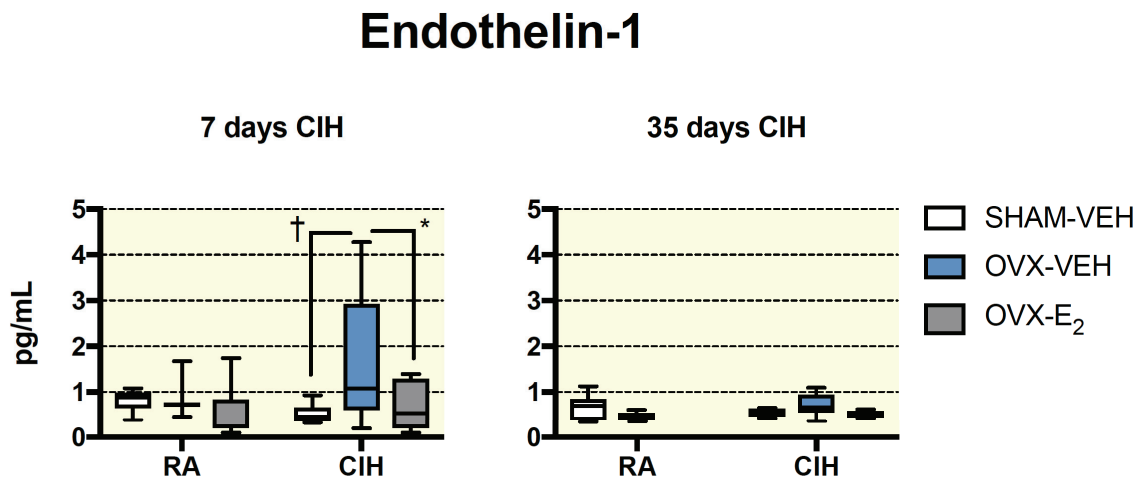


Figure 27 : Plasma endothelin-1 levels (pg/mL) after 7 (left panel) or 35 (right panel) days in RA or CIH for different hormonal status. Box and whisker plots show median (central line), 25th and 75th percentile (lower and upper box limits) and 10th and 90th percentiles (error bars). *, †: p < 0.05, and < 0.01.

1.5.4 E₂ supplementation reduces the pro-oxidant phenotype by increasing catalase activity in the aorta of ovariectomized female rats after short-term exposure to CIH

The activity of the pro-oxidant enzymes (NOX and XO) was reduced by E₂ supplementation only in the animals exposed to RA (NOX and XO: p-value for hormonal status = 0.0006 – XO interaction between hormonal status and CIH = 0.005 - **figure 28**). In OVX animals exposed to CIH, NOX and XO enzymatic activities were higher than in SHAM rats, but surprisingly E₂ supplementation during CIH exposure did not reduce these pro-oxidant enzymatic activities (**figure 28**). The antioxidant activity of SOD was not affected by the

hormonal status and CIH (**figure 28**), however E₂ supplementation increased catalase activity in OVX rats exposed to CIH (p-values: CIH – p = 0.001, hormonal status – p = 0.02, interaction between both factors – p = 0.03). GPX activity was increased by CIH exposure in SHAM and OVX-VEH rats (p-value for CIH = 0.0002) and E₂ supplementation reduced GPX activity during exposure to CIH (p-value for hormonal status = 0.04). The oxidative stress marker AOPP was higher in ovariectomized female rats compared to the SHAM animals (p-value for the hormonal status <0.0001), and E₂ supplementation prevented this effect in rats exposed to RA or CIH (**figure 28**).

In contrast, after exposure to CIH for 35 days, there was no significant effect of CIH exposure and hormonal status for the pro-oxidant (NOX and XO) and antioxidant (SOD, CAT, and GPX) enzymatic activities or concentration of AOPP (**figure 29**).

7 days CIH

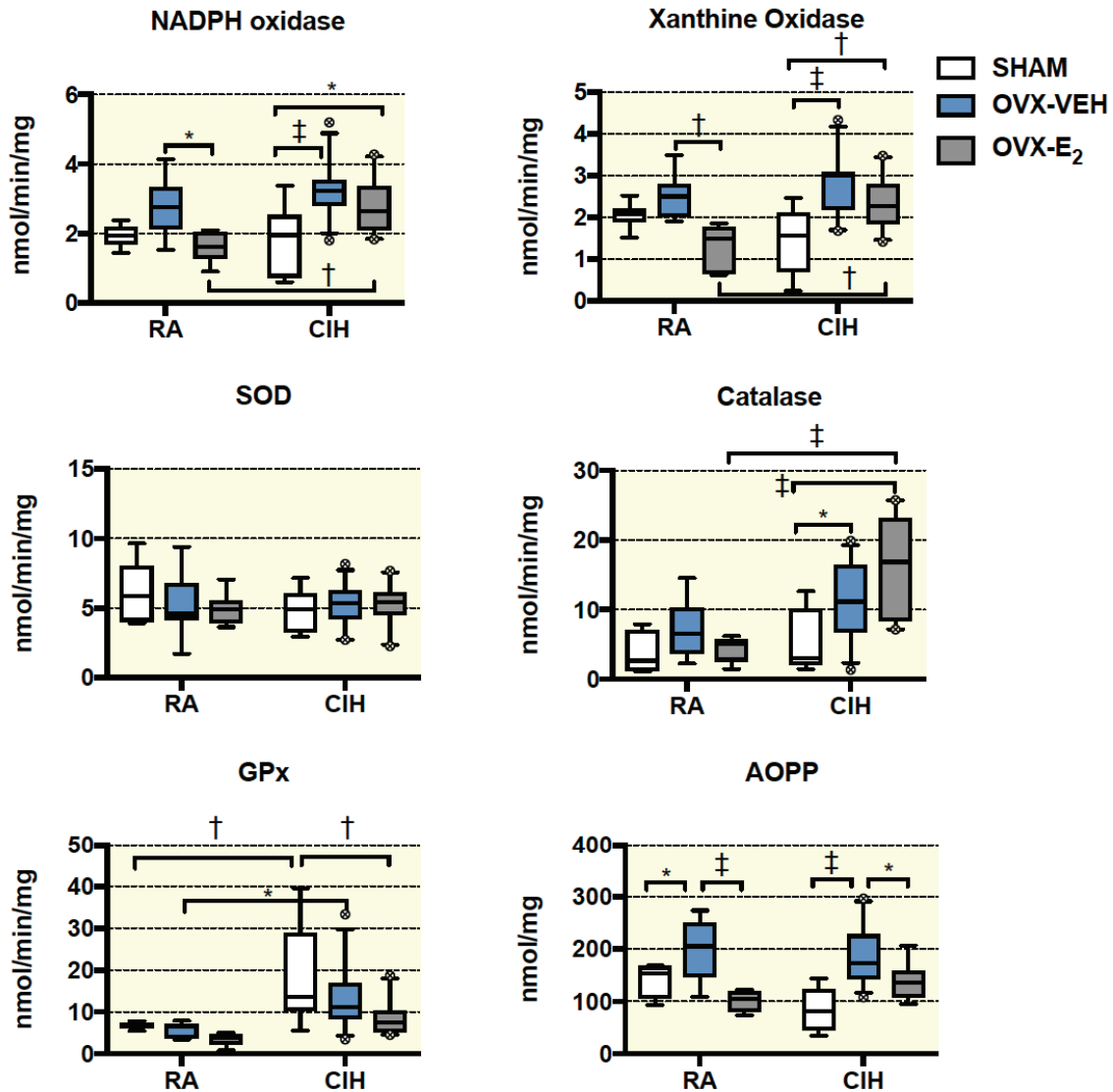


Figure 28 : Activities (in nmol/min/mg of protein) of NADPH oxidase (NOX), xanthine oxidase (XO), superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPX) and concentrations (in nmol/mg of protein) of advanced oxidation protein products (AOPP) in the aortic tissue of female rats exposed to 7 days in RA or CIH for different hormonal status. Box and whisker plots show median (central line), 25th and 75th percentile (lower and upper box limits) and 10th and 90th percentiles (error bars). Crossed circles represent points above or below the percentiles. *, †, ‡: $p < 0.05$, < 0.01 , and < 0.001 .

35 days CIH

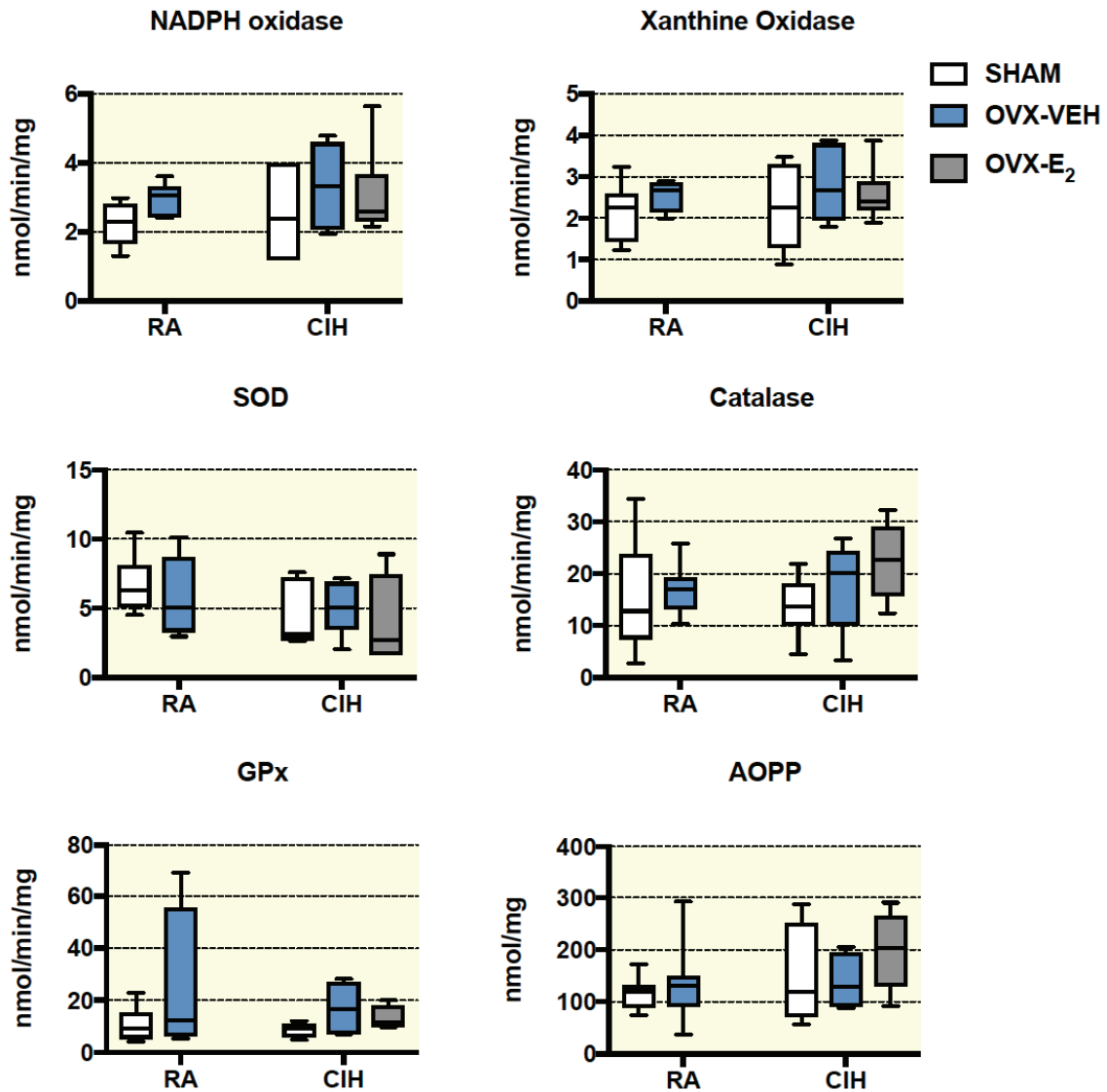


Figure 29 : Activities (in nmol/min/mg of protein) of NADPH oxidase (NOX), xanthine oxidase (XO), superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPX) and concentrations (in nmol/mg of protein) of advanced oxidation protein products (AOPP) in the aortic tissue of female rats exposed to 35 days in RA or CIH for different hormonal status. Box and whisker plots show median (central line), 25th and 75th percentile (lower and upper box limits) and 10th and 90th percentiles (error bars).

1.5.5 E₂ supplementation promotes in vitro NO-induced vasodilation on aortic rings after short-term exposure to CIH

After 7 days of exposure to CIH, the contractile response to PHE in SHAM rats was reduced (see the contraction response curves and the maximum contraction from the non-linear fit test - **figure 30**). This effect was not present in the OVX rats treated with vehicle and exposed to CIH. Surprisingly, in OVX rats exposed to CIH, E₂ supplementation increased the contractile response to PHE (**figure 30**). Nonetheless, E₂ treatment in the group exposed to RA reduced the contractile response to PHE compared to SHAM-RA.

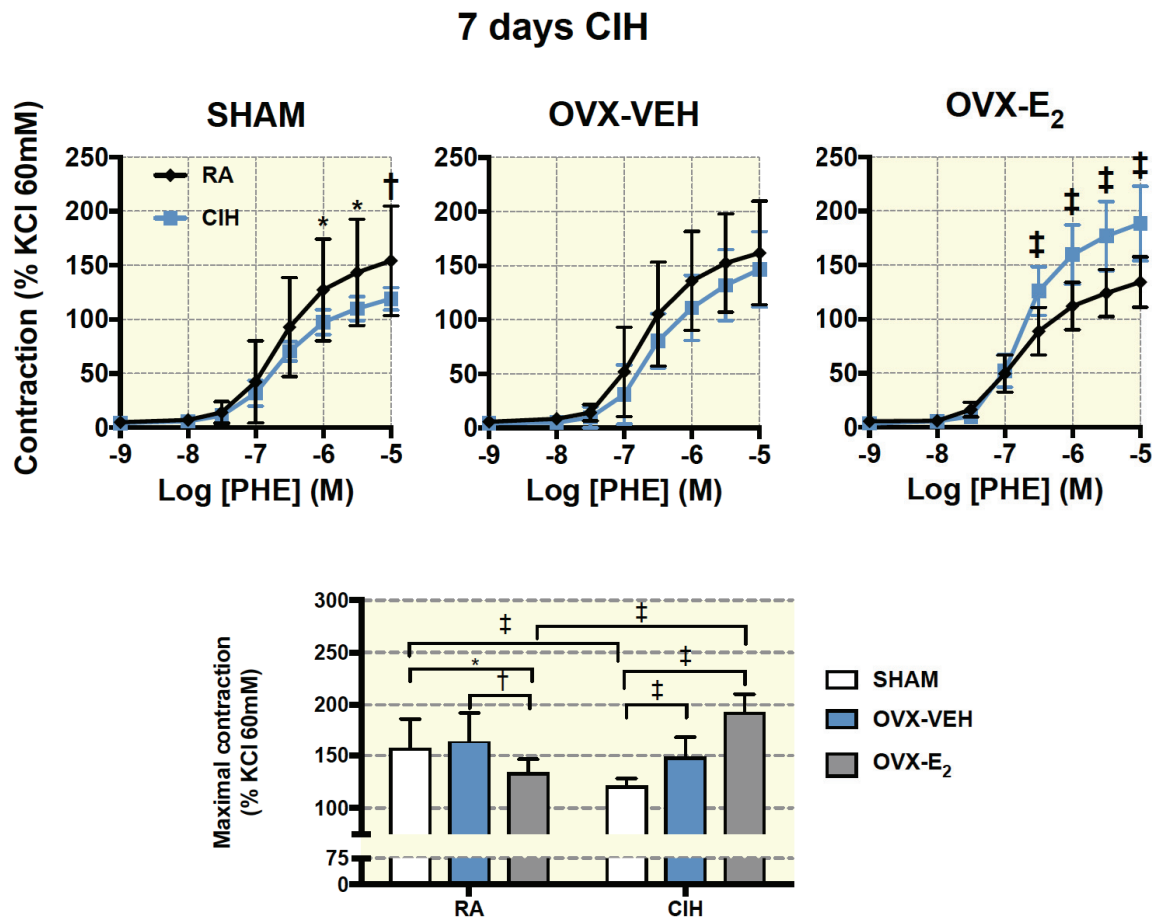


Figure 30 : Upper panels: cumulative concentration–response curves to phenylephrine (PHE; 10^{-9} - 10^{-5} M) after 7 days of exposure to CIH or RA in SHAM, OVX-VEH, OVX-E₂ rats. Lower panel: maximal contraction obtained with the highest dose of PHE in isolated aortic rings from rats after 7 days of exposure to CIH or RA. All values are expressed in percentage of contraction normalized with maximal response to 60mM KCl. Data are presented as mean \pm SD. *, †, ‡: $p < 0.05$, < 0.01 , and < 0.001 .

Exposure to CIH did not alter the vasodilatation response to Ach in the SHAM and OVX rats treated with vehicle (**figure 31**). However, the linear-fit test indicated that CIH exposure induced a lower maximum relaxation in the OVX rats treated with vehicle, and that in animals exposed to RA, the maximal relaxation in response to Ach was lower in OVX-E₂ rats than in SHAM rats (**figure 31**). In OVX rats exposed to CIH, E₂ supplementation increased the vascular relaxation (**figure 31**). The relaxation curves to SNP were similar for all groups, showing that the effects observed were mediated by endothelial cells (**figure 31**).

7 days CIH

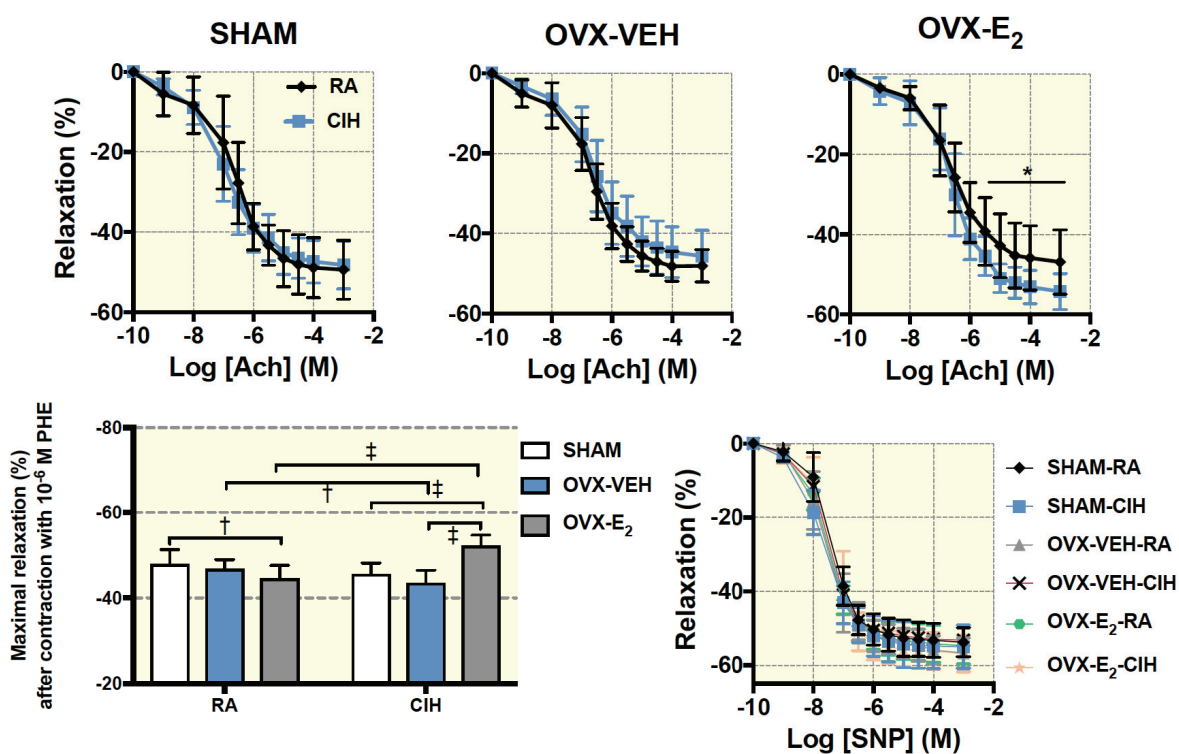


Figure 31 : Upper panels: cumulative concentration–response curves to acetylcholine (ACh; 10^{-9} - 10^{-3} M) after 7 days of exposure to CIH or RA in SHAM, OVX-VEH, OVX-E₂ rats. Lower panels, bar graph: maximal relaxation obtained with the highest dose of Ach in isolated aortic rings from rats after 7 days of exposure to CIH or RA. Lower panel, curves: Cumulative concentration-response curves to sodium nitroprusside (SNP; 10^{-9} - 10^{-3} M). All aortic rings were pre-contracted with 10^{-6} M of PHE. The relaxation curves and maximal relaxations are expressed as percent changes from initial pre-contraction. Data are presented as mean \pm SD. *, †, ‡: $p < 0.05$, < 0.01 , and < 0.001 .

After 35 days of exposure to CIH, the contractile responses to PHE (**figure 32**) or the relaxation responses to Ach or SNP were similar for all groups (**figure 33**).

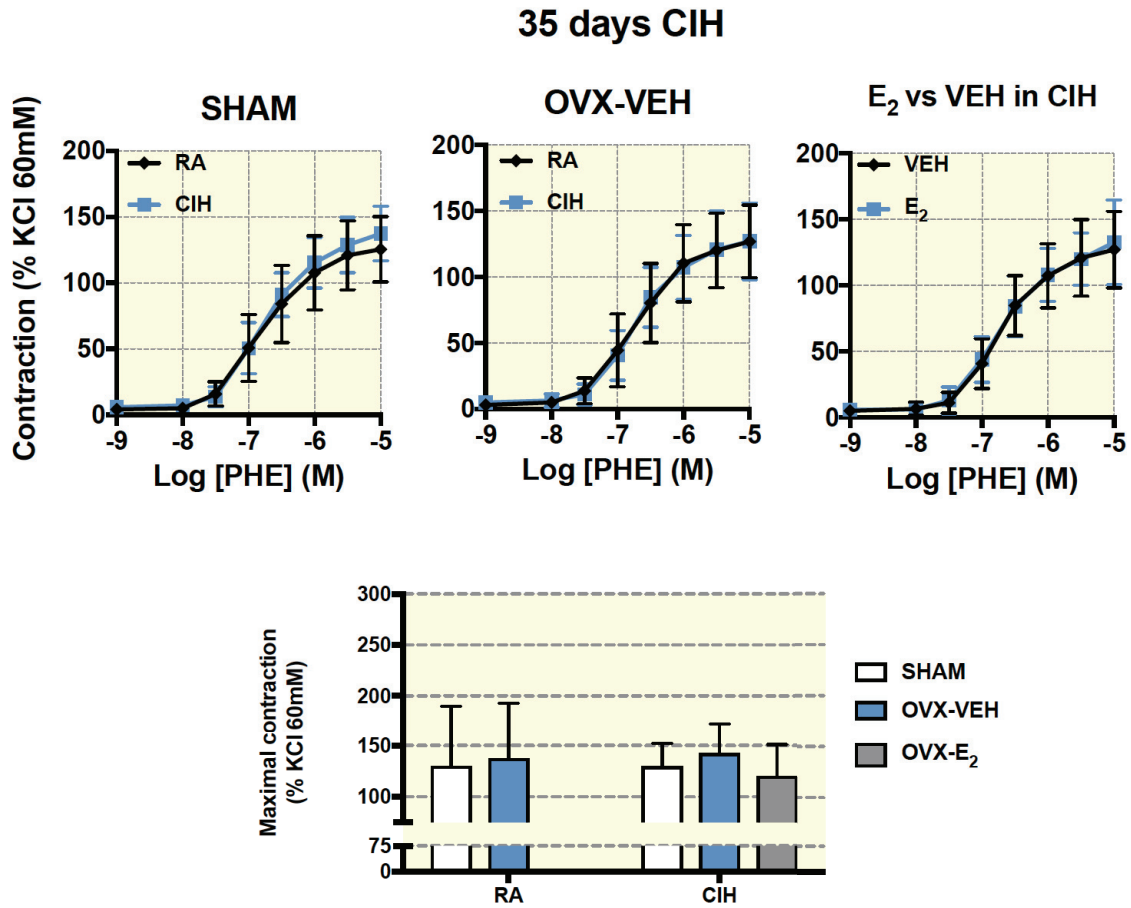


Figure 32 : Upper panels: cumulative concentration–response curves to phenylephrine (PHE; 10^{-9} - 10^{-5} M) after 35 days of exposure to CIH or RA in SHAM, OVX-VEH, OVX-E₂ rats. Lower panel: maximal contraction obtained with the highest dose of PHE in isolated aortic rings from rats after 35 days of exposure to CIH or RA. All values are expressed in percentage of contraction normalized with maximal response to 60mM KCl. Data are presented as mean \pm SD.

35 days CIH

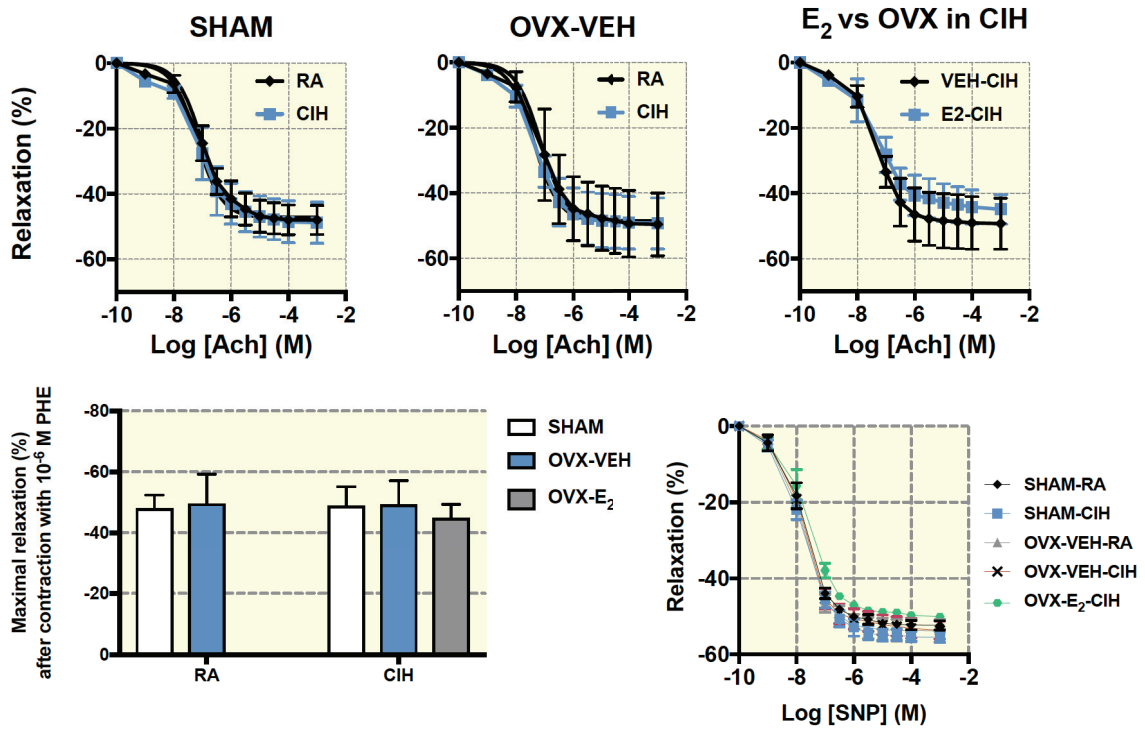


Figure 33 : Upper panels: cumulative concentration–response curves to acetylcholine (ACh; 10^9 - 10^3 M) after 35 days of exposure to CIH or RA in SHAM, OVX-VEH, OVX-E₂ rats. Lower panels, bar graph: maximal relaxation obtained with the highest dose of ACh in isolated aortic rings from rats after 35 days of exposure to CIH or RA. Lower panel, curves: Cumulative concentration-response curves to sodium nitroprusside (SNP; 10^9 - 10^3 M). All aortic rings were pre-contracted with 10^{-6} M of PHE. The relaxation curves and maximal relaxations are expressed as percent changes from initial pre-contraction. Data are presented as mean \pm SD.

1.6 Discussion

Overall, our results are consistent with the hypothesis that E₂ supplementation prevents the development of hypertension during short- and long-term exposure to CIH. Oxidative stress is one of the mechanisms underlying the development of hypertension and endothelial dysfunction during exposure to CIH (Jelic et al. 2008)(Hung et al. 2013)(Lavie 2015). However, our results show that CIH exposure did not induce excessive oxidative stress in the aorta of female rats, as shown by the levels of AOPP, a reliable marker of protein oxidation. Interestingly, E₂ supplementation was able to prevent oxidative stress damage induced by ovariectomy in rats exposed to RA or CIH, but this was achieved by different mechanisms under these two conditions. In females exposed to RA, E₂ supplementation reduced the activity of the pro-oxidant enzymes NOX and XO. However, after CIH exposure for 7 days, E₂ supplementation did not reduce NOX or XO activities, but rather increased catalase activity and reduced GPX activity. E₂ supplementation still provided efficient protection against oxidative stress damage as assessed by the reduced level of AOPP. Another mechanism explaining the effects of CIH exposure on arterial blood pressure is a reduced NO-dependent vaso-relaxation (Hung et al. 2013)(Chen et al. 2017). Our results also showed that in female rats, exposure to CIH for one week alters the aortic vascular reactivity, and that this effect is modulated by the hormonal status. The fact that we used a conductive vessel such as the aorta, rather than a resistive vessel to assess vascular reactivity, might be kept in mind when trying to interpret the present findings to understand the development of systemic hypertension. However, recent studies showed that exposure of male mice to CIH induces consistent remodeling and proliferation of macrophages in the aorta (Cortese et al. 2017)(Suarez-Giron et al. 2018), in line with the elevated cardiovascular risk in sleep apnea patients.

A notable finding is that after 35 days of CIH exposure, pro- and antioxidant enzyme activities, markers of oxidative stress and aortic vascular reactivity were similar in all groups. This is in contrast with previous results showing that exposure to CIH induces oxidative stress in males (Hung et al. 2013)(Chen et al. 2017), and thus can be interpreted as a specific response of female rats to CIH, but this effect would be independent of circulating hormones levels.

1.6.1 Weight gain during CIH exposure in SHAM and OVX female rats

Ovariectomized rats treated with vehicle have a significantly higher weight gain than SHAM or OVX-E₂ animals in agreement with several studies (Ainslie et al. 2001). CIH leads to metabolic alterations, including exaggerated lipolysis and decreased body weight (Carreras et al. 2015), and overall our results show that CIH limits the weight gain to a similar extent in females with intact ovaries or after ovariectomy. However, it is notable that the reduced weight gain is initiated faster in ovariectomized females compared to intact females, probably reflecting higher adiposity in the OVX females.

1.6.2 Supplemental E₂ reduces arterial blood pressure during exposure to CIH

As expected, exposure to CIH increases arterial blood pressure in OVX-VEH female rats, but also in females with intact ovaries. In ovariectomized females, E₂ supplementation prevented the increase of blood pressure during 7 and 35 days of exposure. The fact that arterial pressure was increased by CIH in females with intact ovaries contrasts with a previous study (Hinojosa-Laborde et Mifflin 2005), but agrees with another series of experiments showing a similar result (Souza et al. 2015). Such discrepancies between these studies could be due to the experimental conditions. Indeed, the first study was performed with Sprague-Dawley female rats exposed to CIH for 7 days (8 hours daily), with a moderate nadir of 10% O₂ and 10 cycles/hour (Hinojosa-Laborde et Mifflin 2005), while the second study was performed in Wistar female rats exposed to CIH for 35 days with a more severe nadir of 6% O₂ and 6.5 cycles/hour (Souza et al. 2015). Our experiments have been performed in Sprague-Dawley female rats exposed to CIH for 7 and 35 days with a nadir of 10% O₂ and 10 cycles/hour, thus more closely reproducing the studies performed by Hinojosa-Laborde and Mifflin, but our results are in line with those of Souza et al. Therefore, neither the length of exposure to CIH, the rat strains, nor the CIH profile does not explain the discrepancies between these studies.

1.6.3 E₂ supplementation reduces the pro-oxidant phenotype in the aorta of ovariectomized female rats after short-term exposure to CIH

The mechanisms underlying the elevated blood pressure in response to CIH exposure involve elevated sympathetic activity consecutive to an exaggerated sensitivity of the chemoreflex pathway and oxidative stress in the peripheral chemoreceptors, their central projection sites in the brainstem area, and in the adrenal glands (Peng et al. 2014). In parallel, a recent study showed that CIH increases cardiac output presumably through the cardiac branch of the sympathetic system, which is consistent with our results showing elevated heart rate after 2 weeks of CIH exposure (Lucking, O'Halloran, et Jones 2014). We have shown recently that E₂ supplementation in ovariectomized female rats was able to reduce the chemoreflex activation and oxidative stress in the brain cortex, brainstem and adrenal glands induced by exposure to CIH for 7 days, therefore describing a potential mechanism explaining the protective effect of E₂ (Laouafa, Ribon-Demars, et al. 2017). Likewise, the present results suggest that E₂ also prevents the activation of the cardiac branch of the sympathetic system to reduce cardiac output, heart rate and arterial pressure during short-term exposure to CIH. Another mechanism likely explaining the high blood pressure is an oxidative stress response in endothelial cells, which can be further exacerbated by increased expression of ET-1 (Li et al. 2003)(Lavie et Lavie 2009). Oxidative stress in the vasculature has been associated with inflammation, and a decreased activity of endothelial NO synthase leading to reduced NO production (Jelic et al. 2008)(Lavie et Lavie 2009). In male rats exposed to CIH, endothelial oxidative stress and reduced NO-mediated relaxation are clearly apparent in large conductance blood vessels such as the aorta (Hung et al. 2013)(Chen et al. 2017). Contrasting with these studies, our results from adult female rats show that ovariectomy, rather than exposure to CIH, increases the activities of NADPH and xanthine oxidases, and increases the levels of protein oxidation in the aorta, a clear sign of tissue damage due to oxidative stress. Indeed, in intact as well as in ovariectomized female rats, exposure to CIH had no effect on these enzymatic activities. Estradiol supplementation in OVX female rats was able to reduce the level of protein oxidation, but interestingly this was achieved by different mechanisms when the animals were exposed to RA or CIH. Consistent with previous studies (Budhiraja et al. 2003)(Florian, Freiman, et Magder 2004), E₂ supplementation under room air conditions reduced the activities of NOX and XO in OVX female rats, while after exposure

to CIH, E₂ supplementation increased the activity of catalase (while reducing the activity of GPX), but did not reduce NOX or XO activity. This is a striking contrast, that might be related to CIH-induced dysregulation of E₂ signalling in the vasculature. This pattern of protection against oxidative stress is different from what we previously reported in the brain or adrenal glands in ovariectomized female rats exposed to CIH. In the brain, CIH exposure increased NOX activity and decreased SOD activity, and these effects were reversed by E₂ supplementation during exposure to CIH (Laouafa, Ribon-Demars, et al. 2017). Furthermore, while in the present study there is an evident effect of ovariectomy on aortic oxidative stress in female rats exposed to RA, this was not the case for brain oxidative stress in our previous study (Laouafa, Ribon-Demars, et al. 2017).

In line with our results after 7 days of CIH, a previous study reported an important elevation of catalase mRNA expression induced by E₂ supplementation that protected against light-induced retinal degeneration in ovariectomized female rats (Wang et al. 2015). However, and contrasting with the present findings, it has also been reported that E₂ could increase the activity of GPX in bovine aorta (Si et al. 2001). Nevertheless, this increase only happens after 7 days of CIH. It is noteworthy that CIH exposure affects mitochondrial functions (Lavie et Lavie 2009)(Lavie 2015)(Laouafa, Bairam, et al. 2017) and likely alters the intracellular redox balance. In this context, it could be hypothesized that E₂ supplementation in OVX female rats exposed to CIH may contribute to maintain the intracellular redox balance via the regulation of GPX activity. Indeed, GPX activity is tightly linked to metabolic function and cellular redox balance through the NADPH/NAD⁺ pool (Robaczewska et al. 2016), and overexpression of GPX *in vivo* or *in vitro* has been shown to lead to fat accumulation, insulin resistance (McClung et al. 2004) and altered mitochondrial function (Handy et al. 2009).

1.6.4 E₂ supplementation reduces circulating ET-1 level in ovariectomized female rats after short-term exposure to CIH

Several studies indicated that the effects of CIH on arterial blood pressure in male rats are linked to a disruption of the balance between vasoactive factors (such as ET-1) and the vasorelaxant effect of NO (Tahawi et al. 2001)(Phillips et al. 2004)(Hung et al. 2013)(Chen et al. 2017). In patients with OSA, impaired endothelial dysfunction is thought to play an

important role in the development of the cardiovascular manifestations and elevated arterial blood pressure (Poredos 2002)(Budhiraja, Parthasarathy, et Quan 2007)(Atkeson et Jelic 2008). Elevated ET-1 levels are a key contributor to high arterial blood pressure (Touyz et Schiffrin 2003)(Larivière et Lebel 2003) and ET-1 plasma concentration was found to be elevated in postmenopausal women with hypertension (Buleishvili et al. 2016). It has been previously reported that E₂ modulates ET-1-induced contraction of cerebral arteries (Tsang et al. 2004), regulates the expression of ET-1 receptors in the heart (Nuedling et al. 2003) and inhibits endothelin synthesis by an estrogen receptor-independent mechanism in porcine coronary endothelial cells (Dubey et al. 2001). Therefore, our results suggest that E₂ prevents the elevation of arterial blood pressure in female rats exposed to CIH by reducing ET-1 expression and release by endothelial cells, at least during a short-term exposure to CIH.

1.6.5 E₂ supplementation promotes in vitro NO-induced vasodilation after short-term exposure to CIH

Vascular function in aortic rings was evaluated by measuring the vasoconstriction induced by phenylephrine (a selective α_1 adrenergic receptor agonist) and the vasodilation induced by acetylcholine (endothelium-dependent) or sodium nitroprusside (endothelium-independent). After 7 days of exposure to CIH, the contraction induced by phenylephrine was reduced in females with intact ovaries, but not in OVX females. The response observed in females with intact ovaries is consistent with previous studies in rats exposed to CIH (Phillips et al. 2006) and with studies showing that increased sympathetic activity induced by aortic barodenervation reduces the contractile aortic response to PHE (el-Mas et al. 1997), presumably by reducing the number of α_1 adrenergic receptor at the surface of smooth muscle cells. On the other hand, sympathetic denervation increases the aortic response to PHE (Slovut et al. 2004). Since our results show that during exposure to CIH, E₂ supplementation also increases the aortic response to PHE, this indirectly supports the hypothesis that E₂ contributes to reduce sympathetic activation during exposure to CIH. Our data also show that the maximum relaxation in response to Ach was slightly reduced by CIH in ovariectomized females, and was increased by E₂ treatment in females exposed to CIH, therefore providing evidence that during short-term exposure to CIH, E₂ supplementation in OVX female rats improves NO-mediated vasorelaxation in the aorta.

1.6.6 Long-term CIH exposure in female rats does not alter oxidative stress in the aorta, circulating ET-1 level, or the vascular reactivity of aortic rings

After 35 days of exposure to CIH, pro- or antioxidant enzymatic activities, oxidative stress markers, and *in vitro* vascular responses to PHE or Ach were similar in all groups. The arterial blood pressure remained elevated, but interestingly heart rate had returned to normal levels, as it was after 7 days of exposure to CIH. As mentioned above, these findings are intriguing and contrasts with several other studies that have consistently reported an alteration of NO-induced vasorelaxation in rats exposed to CIH for several weeks and up to 35 days (Tahawi et al. 2001)(Phillips et al. 2004)(Hung et al. 2013)(Chen et al. 2017), or in patients with sleep apnea (Poredos 2002)(Budhiraja, Parthasarathy, et Quan 2007)(Atkeson et Jelic 2008)(Lavie et Lavie 2009)(Lavie 2015). Since we used female rats, it is possible that a sex-specific effect of CIH exposure on the aorta explains these differences, but if this is the case, this effect should not be related to the presence of ovarian sex-steroids in females. Interestingly, the fact that heart rate is not reduced after exposure to CIH for 35 days could indicate that compensatory responses that avoid excessive activation of the sympathetic system have developed. This assertion is also supported by the fact that the altered aortic response to PHE is no longer apparent after 35 days of exposure to CIH. It could be an interesting avenue to establish how these compensatory responses develop in female rats, if they are sex-specific, and if so, what could explain these sex-specific responses to long-term CIH exposure.

We conclude that E₂ supplementation reduces arterial hypertension and plasma endothelin-1 levels during exposure to CIH. Our results also show that ovariectomy, but not exposure to CIH increases oxidative stress in the aorta. E₂ supplementation prevented this effect, but remarkably this was achieved by different mechanisms in animals exposed to RA or CIH, suggesting an alteration of E₂ signaling in blood vessels during exposure to CIH. Finally, we have observed only a small reduction of NO-mediated vasodilation in OVX female rats exposed to CIH, while E₂ treatment improved the NO-dependent relaxation. Overall, these results suggest that E₂ supplementation during exposure to CIH exerts important effects on the vasculature, and this could underlie some of its protective effects against hypertension induced by CIH.

Acknowledgements: Alexandra Ribon-Demars is supported by Région Rhône-Alpes Auvergne (programme Explora'Doc). This study was funded by the Canadian Institutes of Health Research (AB: MOP-119272 and VJ: MOP-102715). The authors are thankful to Tara Adele Janes for careful editorial revisions, Mélanie Pelletier for her assistance with animal care, and Sylvain Demars for his help with statistical analyses.

Conflict of interest: None

2 Chapitre II

Roles of estradiol against oxidative stress in the lungs of ovariectomized female rats exposed to chronic intermittent hypoxia

Alexandra Ribon-Demars^{1,2}, Anaëlle Boreau², François Marcouiller¹, Vincent Joseph¹, Aida Bairam¹ and Vincent Pialoux^{2,3}.

1 : Centre de Recherche de l'Institut Universitaire de Cardiologie et de Pneumologie du Québec, Université Laval, Québec, QC, Canada.

2 : Laboratoire Inter-Universitaire de biologie de la motricité, Université Claude Bernard Lyon1, Villeurbanne, France.

3 : Institut Universitaire de France, Paris, France.

Keywords: Estradiol, female rats, sleep apnea, lung, oxidative stress

2.1 Résumé en français

Objectif : Nous avons testé l'hypothèse selon laquelle l'estradiol (E2) réduit le stress oxydatif au niveau des poumons sur des rates ovariectomisées (OVX) exposées à l'air ambiant (RA) ou à une hypoxie intermittente chronique (HIC).

Méthodes : Nous avons utilisé des rates intactes ou OVX traitées avec du solvant ou de l'E2 (0,5 mg/kg/j) et exposées en RA ou en HIC (21% à 10% d'O₂, 10 cycles/h, 8 h/j) pendant 7 ou 35 jours, et mesuré sur des échantillons de poumons, les activités des enzymes pro-oxydantes NADPH (NOX) et xanthine oxydase (XO), les enzymes anti-oxydantes superoxyde dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathion peroxydase (GPx) ainsi que la concentration des produits protéiques d'oxydation avancés (AOPP).

Résultats : L'exposition en HIC pendant 7 jours a induit une augmentation du marqueur de stress oxydatif, AOPP, dans les poumons de rates intactes, mais pas chez les rates OVX. Après 7 jours d'exposition à une HIC, la supplémentation en E2 diminue l'activité des enzymes pro-oxydantes et augmente l'activité de la CAT mais diminue les activités de la SOD et de GPx. La supplémentation en E2 a également diminué la concentration plasmatique en AOPP après l'exposition à une HIC. Fait remarquable, chez les animaux exposés en RA, le stress oxydant a augmenté avec la supplémentation en E2. Après 35 jours d'exposition à une HIC, les activités enzymatiques et AOPP étaient similaires dans tous les groupes.

Conclusion : Nous avons démontré que la supplémentation en E2 entraîne une diminution du stress oxydatif induit par une HIC dans les poumons de rates ovariectomisées.

2.2 Abstract

Aim: We tested the hypothesis that estradiol (E2) reduces pulmonary oxidative stress in ovariectomized (OVX) female rats exposed to room air (RA) or chronic intermittent hypoxia (CIH).

Methods: We used intact or OVX female rats treated with vehicle or E2 (0.5 mg/kg/d) and exposed to RA or CIH (21%-10% O₂, 10 cycles/h, 8 h/d) for 7 or 35 days, and measured in lung, the activities of the pro-oxidant enzymes NADPH (NOX) and xanthine oxidase (XO), the antioxidant enzymes superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx) and the advanced oxidation protein products (AOPP—oxidative stress marker).

Results: CIH exposure for 7 days induced an increase of the oxidative stress marker AOPP in the lungs of intact female rats, but not in ovariectomized female rats. After 7 days of CIH, E2 supplementation decreased the activities of pro-oxidant enzymes and increased the activity of the CAT but decreased the activities of the SOD and GPx. E2 supplementation also decreased the concentration of AOPP under CIH conditions. Remarkably, in animals exposed to RA, oxidative stress has increased with E2 supplementation. After 35 days of CIH, enzymatic activities and AOPP were similar in all groups.

Conclusion: We have demonstrated that E2 supplementation mediates a decrease of oxidative stress induced by CIH in lungs of ovariectomized female rats.

2.3 Introduction

Pulmonary hypertension (PH) is characterized by elevated pulmonary vascular resistance and progressive right ventricle hypertrophy. PH can be found in multiple clinical conditions and frequently coexists with sleep-disordered breathing and may sometimes be a direct consequence of this disease (Sajkov et McEvoy 2009). One of the main sleep-disordered breathing is obstructive sleep apnea (OSA) which affects 9 to 38 % of the overall population (apnea – hypopnea index ≥ 5 events/hour) (Senaratna et al. 2017). OSA is characterized by recurrent episodes of upper airway inspiratory collapse during sleep, causing transient and repeated hypoxemia and hypercapnia. The major consequence of these recurrent episodes is chronic intermittent hypoxia (CIH) that leads to multiple comorbidities, including cardiovascular diseases, and neurocognitive and metabolic dysfunctions (Lavie et Lavie 2008)(Somers et al. 2008).

A recent review has reported that prevalence of PH among patients with OSA could vary between 17% and 70%, depending of age, sexe, BMI and longer duration of nocturnal desaturation (Ismail et al. 2015). A study indicated that about 20% of OSA patients (without lung or heart disease) develop mild PH that can be partially or completely reversed after 6 months of continuous positive airway pressure (CPAP) treatment (Alchanatis et al. 2001). This suggests OSA constitutes an independent risk factor for the development of PH.

In patients with OSA (Lavie 2003) and rodents exposed to CIH, the production of reactive oxygen species (ROS) is increased (Yuan et al. 2004) and antioxidant capacities are decreased (Lavie 2015). Redox signaling has been suggested to be involved in the regulation of hypoxic pulmonary vasoconstriction (HPV) under acute hypoxia (Schumacker 2011)(Sylvester et al. 2012). The ROS derived from NADPH oxidase, a superoxide anion-generating enzyme, directly contributes to several cardiorespiratory pathophysiological responses induced by CIH such as arterial and pulmonary hypertension (Nisbet et al. 2009)(Schulz et al. 2014). On the other hand, the xanthine oxidase (XO) – hypoxanthine system is an important pathways to generate oxidative stress in vivo, and XO can be activated by hypoxia in cultured pulmonary arterial endothelial cells (Dopp et al. 2011).

By contrast, it appears that the incidence of PH is greater in women than men in the context of OSA or systemic arterial hypertension (McGoon et al. 2013). The female predisposition to PH suggests that female sex hormones, primarily estrogens, may play a major role in the

development of this disease (Mair et al. 2014). However, the roles of estrogens in PH remains paradoxical since animal experiments suggest that estrogens may have favorable effects in PH. Proliferative estrogens may lead to PH or worsening preexisting PH via pulmonary vascular remodeling in human disease whereas animal model are characterized by less proliferative pulmonary vascular environment. Indeed, the increase of circulating E2 during menstrual cycle attenuates pulmonary arteries contraction (vasoconstrictor response after stimulation with KCl and phenylephrine), in female rats (Lahm et al. 2007). Moreover, ovariectomy exacerbates hypoxic pulmonary hypertension (HPH), whereas E2 supplementation in ovariectomized animals attenuates the disease. In fact, the ovarian hormone attenuates HPH by decreasing pulmonary expression of the vasoactive and mitogenic peptide endothelin-1 (Resta, Kanagy, et Walker 2001)(Earley et Resta 2002).

Interestingly, we showed previously that E2 supplementation prevents oxidative stress damage induced by ovariectomy in the aorta of rats exposed to CIH or room air (Ribon-Demars et al. 2018). Consequently, the aims of this study were to investigate whether CIH induces oxidative stress in the lungs of female rats and whether E2 influences this oxidative stress response. To address this hypothesis, we used different groups of female rats: with intact ovaries (SHAM), ovariectomized with vehicle (OVX-VEH) and ovariectomized with E2 supplementation (OVX-E2), and we exposed them to different conditions: CIH or room air (RA), for 7 or 35 days. We assessed the activities of pro-oxidant enzymes (NADPH oxidase and xanthine oxidase) and antioxidant enzymes (superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase) in the lungs. We also estimated oxidative stress damage by measuring the level of advanced oxidation of protein products.

2.4 Material and methods

2.4.1 Ethical approval

All procedures have been approved by the Animal Protection Committee of the Centre de Recherche du CHU de Québec in accordance with the Canadian Council on Animal Care in Science. We used a total of 106 Sprague-Dawley female rats (57-70 days old) purchased from Charles River Laboratories (Saint-Constant, QC, Canada). All animals had access to food and water ad-libitum and were maintained under standard laboratory conditions (21°C, 12:12 h dark–light cycle: lights on at 7:00 AM and off at 7:00 PM).

2.4.2 Experimental groups

The samples used in these experiments come from the animals of the first study (**chapter I**). In a first series of experiments we exposed female rats (initial body weight 250 to 300 g) to room air (RA) or CIH for 7 days (short-term). The rats were separated into the following groups: sham-operated rats (SHAM) exposed to RA (SHAM-RA – n=14) or CIH (SHAM-CIH – n=10), ovariectomized (OVX) rats treated with vehicle (VEH – dimethyl sulfoxide – Bioshop and propylene glycol – J.T. Baker) *via* an osmotic pump and exposed to RA (OVX-VEH-RA – n=14) or CIH (OVX-VEH-CIH – n=12), and OVX rats treated with 17 β estradiol (E₂ – Sigma-Aldrich; 0.5mg/kg/jour), *via* an osmotic pump and exposed either to RA (OVX-E₂-RA – n=10) or CIH (OVX-E₂-CIH – n=10).

In a second series of experiments we exposed female rats to RA or CIH for 35 days (long-term) with the following groups: SHAM-RA (n=8), SHAM-CIH (n=7), OVX-VEH-RA (n=8), OVX-VEH-CIH (n=7) and OVX-E₂-CIH (n=6). In this series, the OVX-E₂-RA group was not included because in the first series of experiments, there was no specific effect of estradiol on arterial blood pressure in rats exposed to RA.

2.4.3 Surgical procedure and chronic intermittent hypoxia

The surgical procedure and the chronic intermittent hypoxia protocol are the same as for the experiments in **Chapter I**. They are also described in the article published in 2018 (Ribon-Demars et al. 2018).

2.4.4 Tissues collection and protein extraction

After anesthesia with ketamine/xylazine (0.1ml/100g), a cardiac puncture was realized and animals were perfused by the trachea with NaCl 0.9% for 30 minutes. Then, the lungs were removed and stored at -80°C . Protein were extracted from frozen lung as previously described (Ribon-Demars et al. 2018).

2.4.5 Oxidative stress enzyme activities and makers of oxidative stress

In this series of experiments, we measured the activity of pro-oxidative enzymes; NADPH oxidase (NOX) and xanthine oxidase (XO) in the lung samples. We also assessed the activities of antioxidant enzymes such as superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPx). Finally, we determined the concentration of oxidative stress marker, advanced oxidation protein products (AOPP). All these biochemical assays were performed under the same conditions and according to the same protocols than those made in **Chapter I**. See Ribon-Demars et al. for full a description of these assays (Ribon-Demars et al. 2018).

2.4.6 Statistical analysis

We used the GraphPad Prism software (version 7.0, La Jolla, CA, USA) for all analysis. For the experimentations with 7 days of exposure, we used two-ways ANOVA with hormonal status (SHAM, OVX-VEH, OVX-E₂) and CIH as grouping variables. For the experimentations with 35 days of exposure, we used a one-way ANOVA. In both cases, if the ANOVA revealed significant main effects ($p < 0.05$) or interactions between grouping variables for the 2-ways ANOVA, we used a post-hoc Fisher Least Significance Difference test to assess significant differences between groups.

2.5 Results

2.5.1 E2 supplementation reduces the pro-oxidant phenotype in the lung of ovariectomized female rats after exposure to CIH.

In the lung, activities of the pro-oxidant enzymes NADPH oxidase (NOX) and xanthine oxidase (XO) were increased by CIH for SHAM animals but not for OVX animals (NOX and XO: *P*-value for hormonal status < 0.05) (**figure 34**). Ovariectomy increased NOX activity only in female rats exposed to RA. Interestingly, in RA condition, E2 potentiated NOX and XO activities in lung of ovariectomized female rats, while in CIH condition, E2 decreased the activities of these two pro-oxidant enzymes (NOX and XO: *P*-value for interaction between hormonal status and CIH = 0.001).

In contrast, after exposure to CIH for 35 days, there was no significant effect of CIH exposure and hormonal status for these pro-oxidant enzymes. There was an increase of NOX and XO activities for SHAM-RA group after 35 days of exposure compared to 7 days of exposure (**figure 35**).

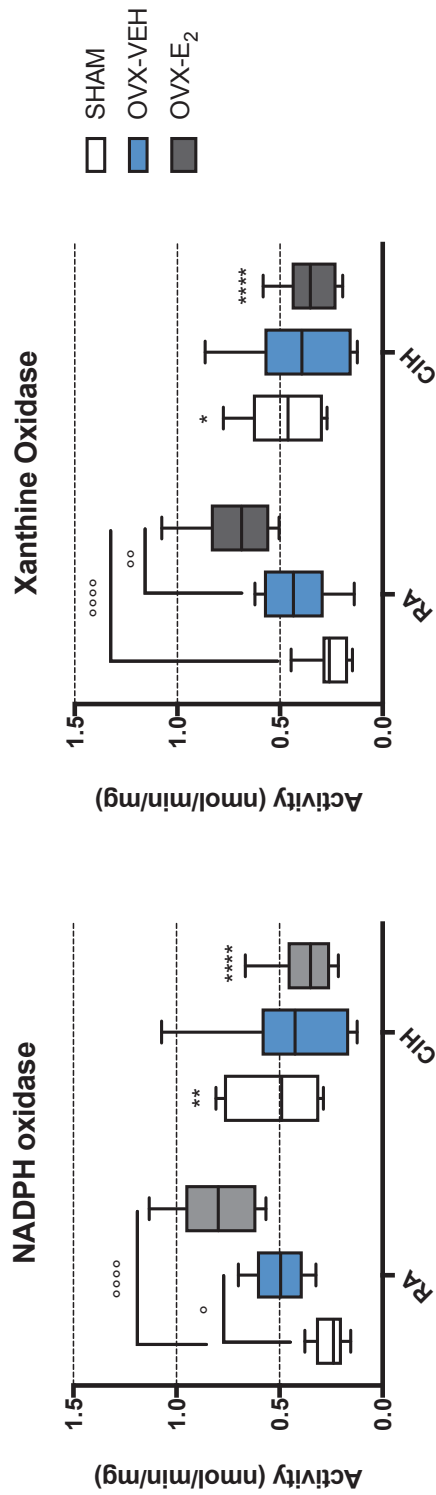


Figure 34: Activities (in nmol/min/mg of protein) of NADPH oxidase (NOX) and xanthine oxidase (XO) in the lung of female rats exposed to 7 days in RA or CIH for different hormonal status. Box and whisker plots show median (central line), 25th and 75th percentile (lower and upper box limits) and 10th and 90th percentiles (error bars). *, **, **** $P < 0.05, < 0.01$ and < 0.001 CIH vs. RA.

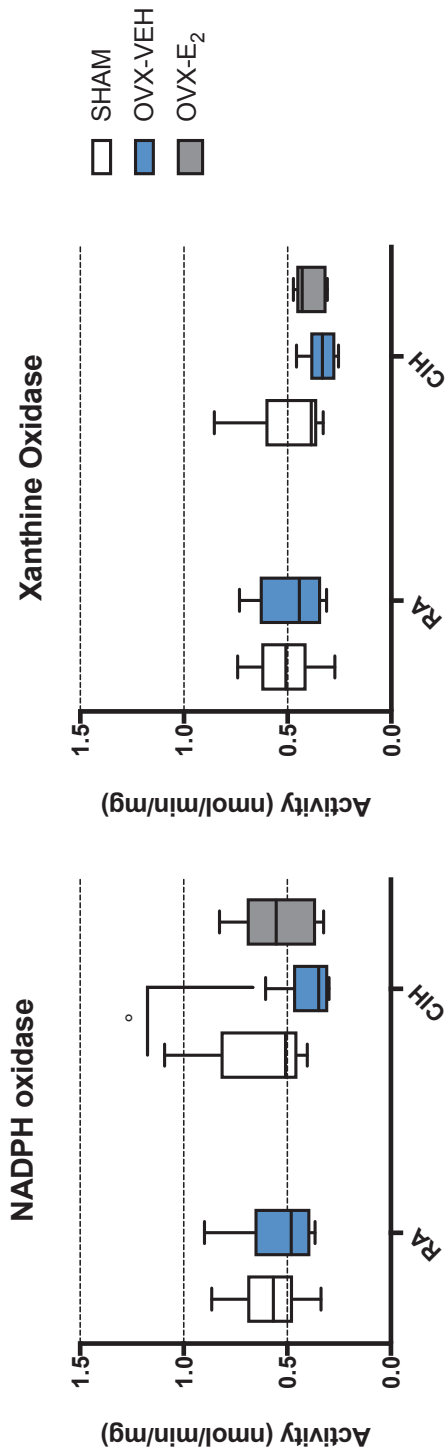


Figure 35: Activities (in nmol/min/mg of protein) of NADPH oxidase (NOX) and xanthine oxidase (XO) in the lung of female rats exposed to 35 days in RA or CIH for different hormonal status. Box and whisker plots show median (central line), 25th and 75th percentile (lower and upper box limits) and 10th and 90th percentiles (error bars).

2.5.2 E2 supplementation modulates in different ways the anti-oxidant phenotype in the lung of ovariectomized female rats after exposure to CIH.

The activity of SOD was increased by CIH for SHAM animals but not for OVX animals (SOD: P -value interaction between hormonal status and CIH = 0.001) (**figure 36**). Catalase and GPx activities were increased by CIH for SHAM and OVX-VEH animals (catalase: P -values for CIH— $P = 0.001$, hormonal status— $P = 0.01$; and GPx: P -value for interaction between hormonal status and CIH— $P = 0.005$). The activity of these enzymes was not affected by the ovariectomy. Interestingly, in RA condition, E2 supplementation increased the activities of SOD, catalase and GPx. Nonetheless, after exposure to CIH, catalase activity was increased by E2 supplementation but SOD and GPx activities were decreased.

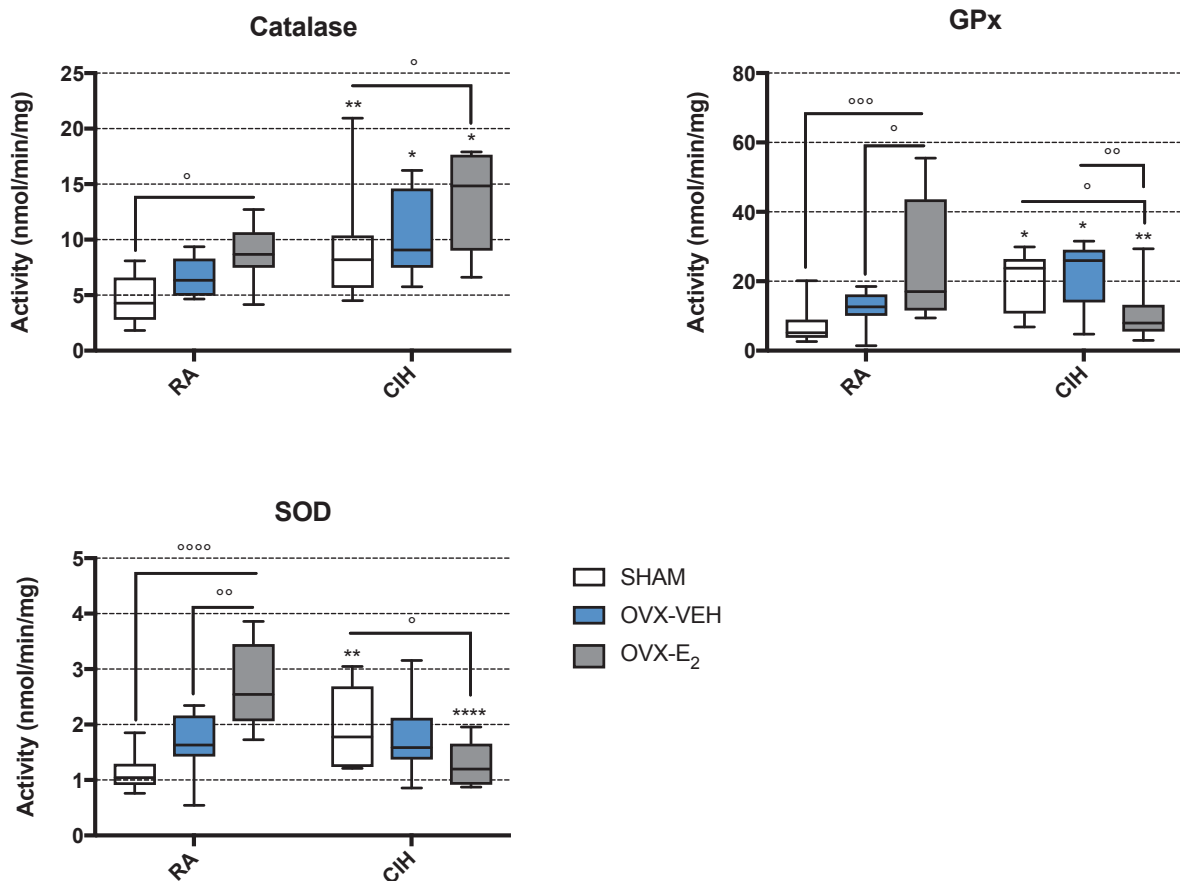


Figure 36: Activities (in nmol/min/mg of protein) of catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPX) and superoxide dismutase (SOD) in the lung of female rats exposed to 7 days in RA or CIH for different hormonal status. Box and whisker plots show median (central line), 25th and 75th percentile (lower and upper box limits) and 10th and 90th percentiles (error bars). *, **, **** $P < 0.05$, < 0.01 and < 0.001 CIH vs. RA.

After exposure to CIH for 35 days, there was no effect of CIH on the activities of antioxidant enzymes. Ovariectomy induces a decrease of catalase activity for female rats exposed to CIH, but SOD and GPx activities were not affected by hormonal status (**figure 37**).

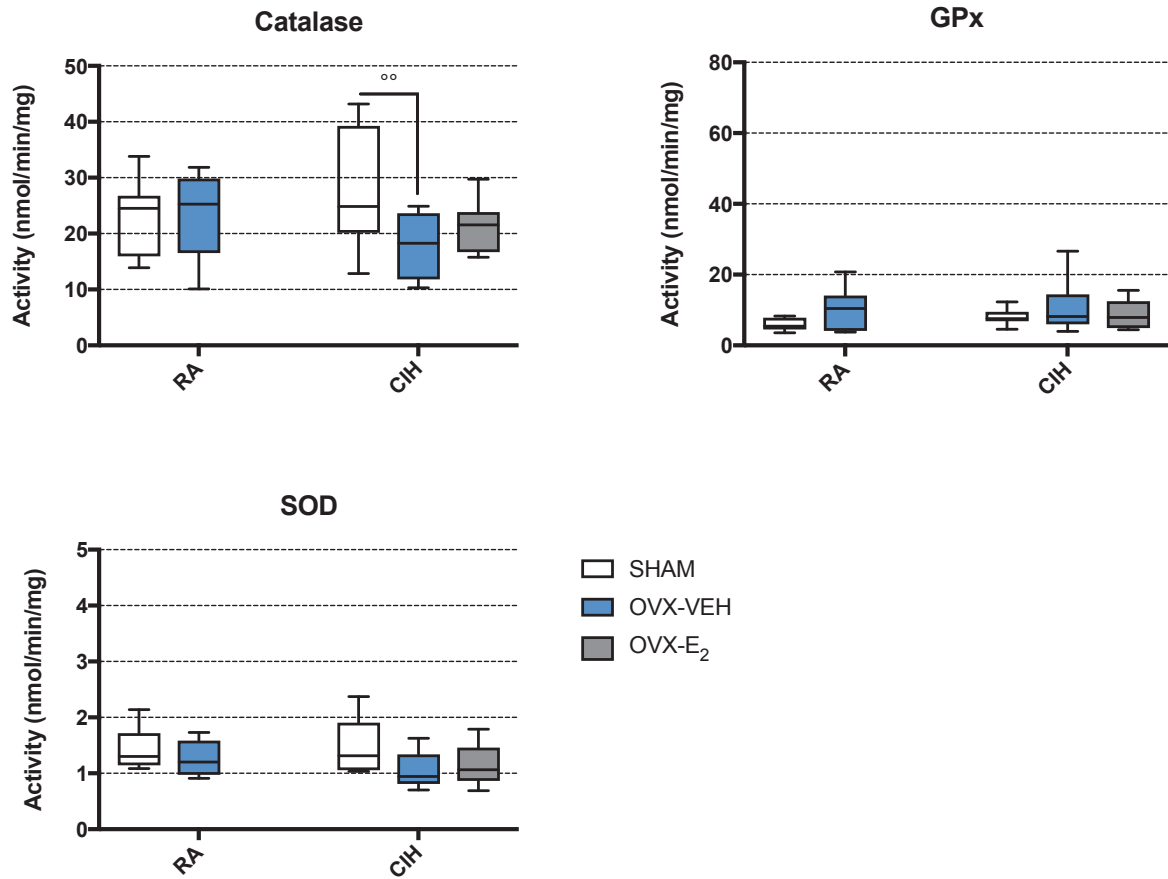


Figure 37: Activities (in nmol/min/mg of protein) of catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPX) and superoxide dismutase (SOD) in the lung of female rats exposed to 35 days in RA or CIH for different hormonal status. Box and whisker plots show median (central line), 25th and 75th percentile (lower and upper box limits) and 10th and 90th percentiles (error bars).

2.5.3 E2 supplementation decreases the oxidative stress marker AOPP in the lung of ovariectomized female rats after exposure to CIH.

AOPP was higher in SHAM animals exposed to CIH compared to SHAM animals exposed to RA (**figure 38**). In addition, ovariectomy and E2 supplementation increased the concentration of AOPP in the lung of animals exposed to RA condition. Nonetheless, after exposure to CIH, AOPP concentration was decreased by E2 supplementation (P -values for hormonal status— $P = 0.05$ and for interaction between hormonal status and CIH— $P = 0.001$).

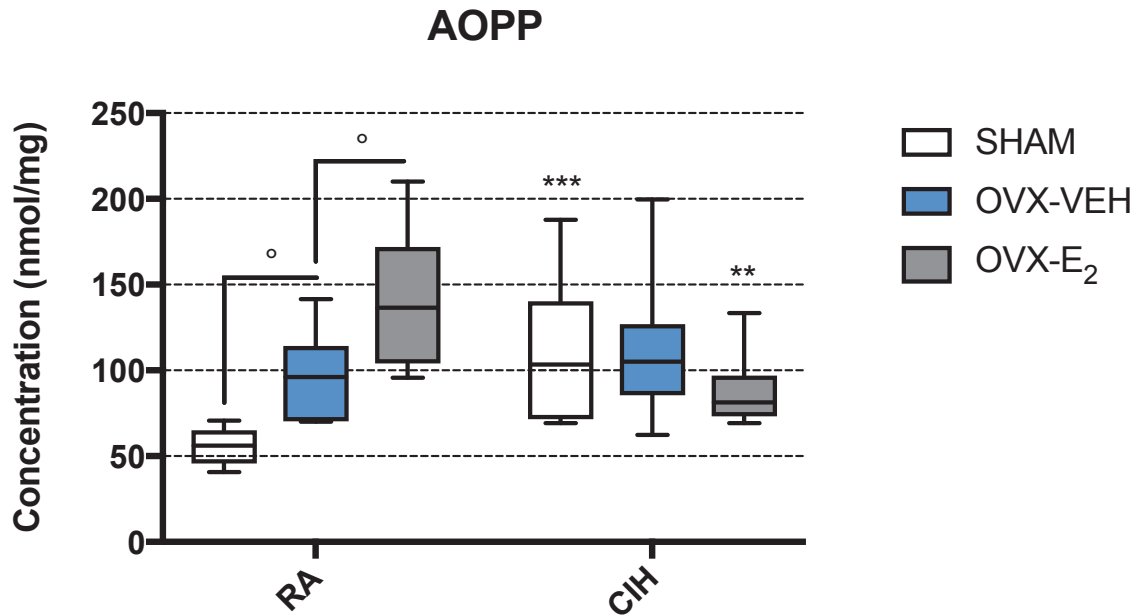


Figure 38: Concentrations (in nmol/mg of protein) of advanced oxidation protein products (AOPP) in the lung of female rats exposed to 7 days in RA or CIH for different hormonal status. Box and whisker plots show median (central line), 25th and 75th percentile (lower and upper box limits) and 10th and 90th percentiles (error bars). **, *** $P < 0.01$ and < 0.005 CIH vs. RA.

After 35 days of exposure, AOPP concentration was similar for all groups (figure 39).

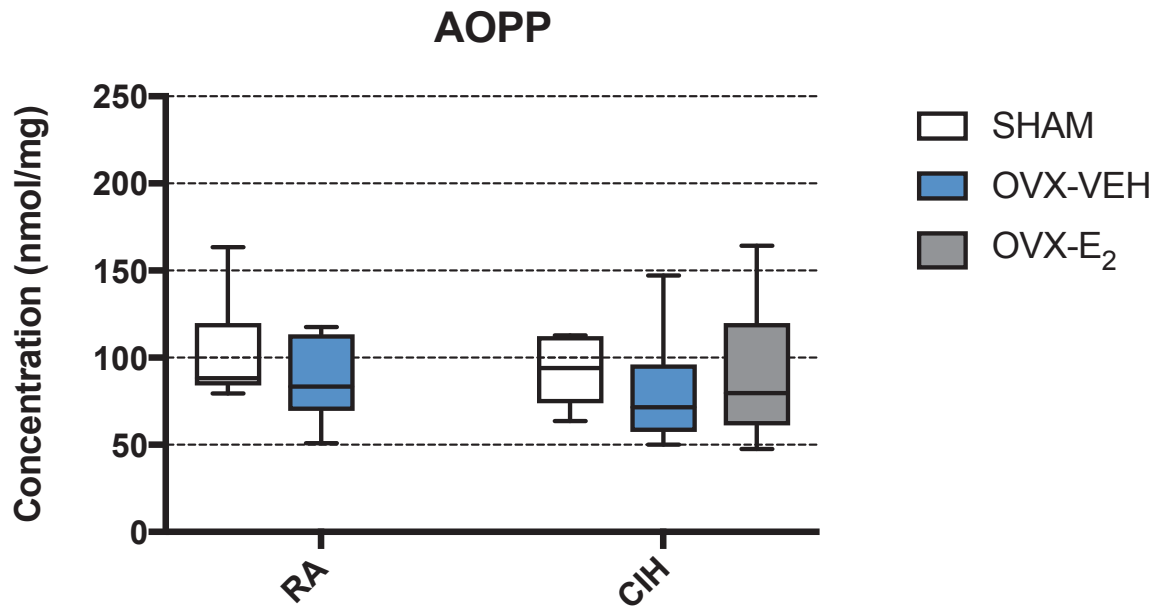


Figure 39: Concentrations (in nmol/mg of protein) of advanced oxidation protein products (AOPP) in the lung of female rats exposed to 35 days in RA or CIH for different hormonal status. Box and whisker plots show median (central line), 25th and 75th percentile (lower and upper box limits) and 10th and 90th percentiles (error bars).

2.6 Discussion

Afin de compléter nos résultats, des expérimentations complémentaires sur les échantillons de poumons de nos animaux sont en cours (Western Blot pour l'expression des enzymes pro et anti-oxydantes). Par conséquent, au moment du dépôt de la thèse, la partie discussion est en développement et est rédigée en français. Cette discussion sera travaillée en anglais pour soumettre l'article à un journal scientifique.

L'association entre l'hypertension artérielle pulmonaire (HTAP) et le syndrome d'apnée hypopnée obstructif du sommeil (SAHOS) a été longtemps controversée. La plupart des auteurs affirmaient que les apnées nocturnes ne pouvaient pas induire d'HTAP permanente et que cette HTAP était fortement liée à la présence d'un schéma ventilatoire obstructif, à une hypoxémie et à une hypercapnie, généralement associés à une maladie obstructive des voies respiratoires (Chaouat et al. 1996). Cependant, des études récentes ont rapporté des résultats différents suggérant un lien direct entre les apnées nocturnes et l'HTAP diurne (Ismail et al. 2015)(Wong, Williams, et Mok 2017)(Yu et al. 2018). L'une des causes du développement de l'HTAP serait l'HIC, qui a un effet important sur les poumons et sur les mécanismes régulant le tonus des artères pulmonaires. En outre, l'HIC peut augmenter le stress oxydatif en déséquilibrant la balance redox, ce qui pourrait avoir une incidence sur la morphologie et la fonctionnalité des poumons (Rahman et al. 2005). Ainsi, les ROS produites peuvent directement endommager les cellules épithéliales des voies respiratoires et les tissus pulmonaires, aggraver l'inflammation des poumons et initier une série de modifications pathologiques induisant les maladies pulmonaires (Chen 2011). Une étude rapporte que les ROS dérivées de la NADPH oxydase contribuent au développement du remodelage vasculaire pulmonaire et de l'HTAP provoquée par l'HIC (Nisbet et al. 2009). De plus, une autre équipe a démontré une augmentation des dommages oxydatifs et une diminution des activités enzymatiques anti-oxydantes au niveau des poumons de souris exposées à l'HIC (10% d'O₂; 8h/jour pendant 5 semaines) (da Rosa et al. 2012). Dans notre étude, les résultats indiquent que l'exposition en HIC (10% d'O₂; 8h/jour pendant 7 jours) induit une augmentation de la concentration du marqueur de stress oxydatif AOPP, s'expliquant par un phénotype pro-oxydant plus important que le phénotype antioxydant, dans les poumons des rates intactes, mais pas dans ceux des femelles ovariectomisées. Cela peut s'expliquer par un

stress oxydatif de base (en condition de normoxie) déjà plus élevé chez les animaux ayant été ovariectomisés comparativement aux animaux intacts. Ces résultats sont différents de notre première étude sur l'aorte de rates, qui rapporte que l'exposition à l'HIC (10% d'O₂; 8h/jour pendant 1 ou 5 semaines) n'induit pas de stress oxydatif excessif (Ribon-Demars et al. 2018), suggérant ainsi des réponses spécifiques au tissu étudié. Une autre équipe a également démontré que l'HIC (5% d'O₂; 12h/jour pendant 1 à 4 semaines) n'a pas d'incidence sur l'expression de la NADPH oxydase au niveau du cœur et de l'aorte de la souris (Jun et al. 2008). Par conséquent, ces différentes études suggèrent que le stress oxydatif induit par l'HIC serait organe spécifique. Une découverte notable dans cette étude est qu'après 35 jours d'exposition en HIC, les activités des enzymes pro et anti-oxydantes ainsi que le marqueur du stress oxydatif dans les poumons étaient similaires pour tous les groupes. Ceci est conforme à nos résultats précédents montrant que 35 jours d'exposition en HIC n'induit pas de stress oxydatif dans l'aorte des rates (Ribon-Demars et al. 2018).

Parallèlement, le niveau de stress oxydatif peut dépendre du sexe et des hormones sexuelles. Une étude a évalué les différences liées au sexe sur diverses enzymes anti-oxydantes chez la souris (Chen 2011). Les résultats démontrent qu'au niveau des poumons, les activités de la GPx et de la catalase ne sont pas influencées par le sexe, mais l'activité de la SOD est beaucoup plus importante chez les souris femelles que chez les mâles. Une seconde étude, plus récente, renforce ces résultats en montrant que chez des rates ovariectomisées, l'exposition en HIC (10% d'O₂ ; pendant 8 semaines) diminue l'activité de la SOD mitochondriale, mais que la supplémentation en E2 inverse cet effet (Wang et al. 2017). Dans notre étude, l'activité de la SOD au niveau des poumons n'est pas affectée par l'ovariectomie et est diminuée par la supplémentation en E2, en condition d'HIC. Ces différences de résultats peuvent être expliquées par des différences dans la méthodologie, telles que l'espèce (rat et souris), la durée (1 et 5 semaines pour notre étude et 8 semaines pour l'étude de Wang), le mode d'exposition (hypoxie chronique soutenue ou HIC), mais aussi la dose d'E2 injectée (20µg/kg/jour en injection sous-cutanée pendant 8 semaines pour l'étude de Wang et 0.5mg/kg/jour par pompe osmotique durant 3 ou 8 semaines pour la nôtre). Malgré cela, nos résultats démontrent que la supplémentation en E2 permet de prévenir l'augmentation du stress oxydatif induit par l'HIC au niveau des poumons des rates ovariectomisées. En effet,

le marqueur du stress oxydatif, AOPP, est diminué et ceci pourrait s'expliquer par l'augmentation de l'activité de la catalase et la diminution des activités pro-oxydantes, comparativement aux animaux exposés en normoxie. Nous avons montré récemment que la supplémentation en E2 était capable de réduire le stress oxydatif au niveau de l'aorte (Ribon-Demars et al. 2018), décrivant ainsi un mécanisme protecteur de l'E2 sur le système cardiovasculaire lors d'une exposition en HIC pendant 7 jours. Les résultats de cette étude démontrent que la supplémentation en E2 prévient également le stress oxydatif induit par l'HIC dans les poumons des rates.

Discussion, conclusions et perspectives

Principales observations et constatations

L'objectif de ce travail de thèse était de comprendre les mécanismes pouvant expliquer la mise en place de l'HTA chez la femme ménopausée avec un syndrome d'apnée du sommeil. Nous avons émis l'hypothèse que la supplémentation en E2 permet de prévenir le développement de l'HTA, induit par l'HIC, en agissant sur les mécanismes tels que la fonction endothéliale, la réactivité vasculaire et le stress oxydatif. Pour répondre à nos objectifs, nous avons utilisé des rates ovariectomisées et exposées à un protocole d'HIC de 7 et 35 jours.

Dans le **chapitre I**, nos résultats ont montré que la supplémentation en E2 prévient le développement de l'HTA lors d'une exposition à court (7 jours) et long (35 jours) terme en HIC. Le stress oxydatif est l'un des mécanismes à la base du développement de l'HTA et du dysfonctionnement endothélial lors d'une exposition à l'HIC. Cependant, nos résultats ne montrent pas de stress oxydatif excessif dans l'aorte des rates après 7 et 35 jours d'HIC. Il est intéressant de noter que la supplémentation en E2 est capable de prévenir les dommages du stress oxydatif induits par l'ovariectomie selon différents mécanismes en fonction de la condition d'exposition (RA ou CIH). Un autre mécanisme expliquant les effets de l'HIC sur la PA est la relaxation NO-dépendante. Nos résultats ont montré que chez le rate, l'exposition en HIC pendant 7 jours modifiait la réactivité vasculaire aortique et que cet effet est modulé par le statut hormonal.

Dans le **chapitre II**, nos résultats rapportent que la supplémentation en E2 permet de réduire le stress oxydatif au niveau des poumons des rates ovariectomisées exposées à 7 jours d'HIC. Le résultat inattendu est que la supplémentation en E2 n'induit pas le même effet sur les enzymes pro et anti-oxydantes au niveau des poumons des rates selon la condition d'exposition (RA ou CIH). En effet, après l'exposition en normoxie, le traitement à l'E2 entraîne une augmentation du stress oxydatif avec une suractivité des enzymes pro-oxydantes et une concentration élevée du marqueur du stress oxydatif AOPP. En revanche, en condition hypoxique, le traitement à l'E2 diminue l'activité des enzymes pro-oxydantes, augmente l'activité de la catalase et réduit la concentration d'AOPP.

Les limites de nos études

Dans ce travail de thèse, certains paramètres n'ont pas été étudiés durant les expérimentations; il est important de les prendre en compte lors de l'interprétation des résultats. Premièrement, le contexte de nos recherches étant la ménopause, nous avons uniquement utilisé un modèle animal de rates pour répondre à notre hypothèse générale. Les résultats que nous avons obtenus sont souvent en contradiction avec certaines études publiées, car ces dernières sont principalement réalisées sur le rat mâle (Hung et al. 2013)(Chen et al. 2017). Il est donc difficile de faire des comparaisons entre ces études et la nôtre.

Deuxièmement, nous avons travaillé avec des rates dites intactes (sans ablation des ovaires, pour servir de contrôle par rapport à nos animaux ovariectomisés), il aurait donc été intéressant de regarder le cycle ovarien de ces femelles avant chaque expérimentation. Ainsi, nous aurions pu séparer les femelles intactes en fonction de leur cycle ovarien et du taux d'hormones ovariennes. Il est probable qu'en prenant ce paramètre en considération, la variabilité des résultats pour ce groupe aurait pu diminuer. Des études ont démontré que le cycle ovarien peut influencer les paramètres cardiovasculaires, montrant que la PA moyenne varie durant la phase œstrus (de 97 à 100 mmHg) et diminue durant la phase pro-œstrus (environ 94 mmHg) (Hinojosa-Laborde et Mifflin 2005).

Enfin, concernant la réactivité vasculaire sur notre modèle animal, nous avons étudié l'aorte, un vaisseau de conductance, alors que beaucoup d'études se sont focalisées sur les conséquences de l'HIC au niveau des vaisseaux de résistance comme les artères iliaque et fémorale. C'est un facteur à prendre en compte lors de l'interprétation des résultats car les paramètres morphologiques ne sont pas les mêmes pour ces différents types de vaisseaux. Des études ont démontré que l'HTA n'induit pas les mêmes changements structuraux sur les vaisseaux de conductance et ceux de résistance. Pour les artérioles de résistance, l'HTA chronique entraîne une vasoconstriction exagérée suite à la réduction du diamètre de la lumière et à une hypertrophie de la paroi vasculaire (Levy, Kubis, et Safar 2006). En ce qui concerne les artères de conductance des sujets hypertendus, elles sont plus raides et plus épaisses que celles des sujets témoins avec une PA normale. Ces parois plus rigides sont responsables de l'augmentation de la PA systolique (Levy, Kubis, et Safar 2006). Des études

récentes ont démontré que l'exposition à une HIC, chez des souris mâles, induit un remodelage et une prolifération des macrophages dans l'aorte (Cortese et al. 2017)(Suarez-Giron et al. 2018), qui correspondent avec l'augmentation des risques cardiovasculaires rencontrés chez les patients souffrant d'apnée du sommeil. De plus, des études ont mis en évidence que l'élévation de la PA induite par l'HIC peut s'expliquer par un dysfonctionnement des cellules endothéliales artérielles, avec une augmentation des taux circulants d'ET-1, de l'expression aortique des récepteurs de l'ET-A et des réponses contractiles à l'ET-1 (Kanagy, Walker, et Nelin 2001). Enfin, certaines études ont rapporté que l'exposition à l'HIC réduit la réponse dilatatrice à l'acétylcholine dans l'aorte (Hung et al. 2013)(Chen et al. 2017).

Effet de l'estradiol sur la dysfonction endothéliale et le stress oxydatif induit par l'HIC

Les mécanismes impliqués dans l'élévation de la PA, en réponse à une exposition à une HIC, incluent la suractivité du système sympathique consécutive à une sensibilité accrue du chémoréflexe (Peng et al. 2014). Parallèlement, l'exposition à une HIC augmente le débit cardiaque par le biais de la branche cardiaque du système sympathique (Lucking, O'Halloran, et Jones 2014). Ceci a été mis en avant dans les résultats de notre première étude qui démontrent une augmentation de la fréquence cardiaque chez les rates après une semaine d'exposition en HIC (Ribon-Demars et al. 2018). Des études ont démontré que la supplémentation en E2 permet de réduire l'activation du chémoréflexe, induit par l'HIC, au niveau du cortex cérébral et des glandes surrénales (Laouafa, Ribon-Demars, et al. 2017). Notre étude n'a pas directement évalué l'activité du système sympathique, mais a démontré que l'E2 permet de diminuer le rythme cardiaque et la PA, qui sont augmentés par l'HIC.

Le second mécanisme pouvant expliquer l'augmentation de la PA est la dysfonction endothéliale, caractérisée par différentes modifications. Tout d'abord, plusieurs études ont démontré que l'HIC entraîne une perturbation de l'équilibre entre les facteurs vasoactifs, tels que l'ET-1 (Li et al. 2003) et l'effet vasorelaxant du NO (Phillips et al. 2004). Des

concentrations plasmatiques d'ET-1 élevées ont été rapportées dans une étude réalisée sur des femmes ménopausées souffrant d'HTA (Buleishvili et al. 2016). Ceci suggère que les taux élevés d'ET-1 sont un facteur déterminant dans l'élévation de la PA (Touyz et Schiffrin 2003). Les résultats de notre étude vont également dans ce sens avec une augmentation de la concentration plasmatique de l'ET-1 chez les rates ovariectomisées et exposées à 7 jours d'HIC. Cependant, la supplémentation en E2 permet de prévenir cette élévation d'ET-1, ce qui est cohérent avec d'autres études qui ont démontré que le traitement à l'E2 module la vasoconstriction induite par l'ET-1 dans les artères cérébrales (Tsang et al. 2004), régule l'expression des récepteurs de l'ET-1 dans le cœur (Nuedling et al. 2003) et inhibe la synthèse de ce facteur vasoactif dans les cellules endothéliales (Dubey et al. 2001) (**figure 40**). La dysfonction endothéliale est également caractérisée par une réduction des capacités de contraction des vaisseaux. Des études ont mis en évidence qu'après une exposition en HIC, la réponse contractile induite par la phényléphrine (PHE) est réduite (Phillips et al. 2006). Cette diminution peut s'expliquer par une réduction du nombre de récepteurs $\alpha 1$ adrénergiques au niveau de la surface des cellules musculaires lisses des vaisseaux. Les résultats de notre première étude montrent que, lors d'une exposition à une HIC, la réponse à la PHE est réduite chez les rates intactes et que la supplémentation en E2 chez les femelles ovariectomisées entraîne une amélioration de cette réponse au niveau de l'aorte (Ribon-Demars et al. 2018). Parallèlement, une étude a mis en avant que la dénervation sympathique augmente également la réponse aortique à la PHE (Slovut et al. 2004) ; nous pouvons donc émettre l'hypothèse que le traitement à E2 contribue à réduire l'activation sympathique lors de l'exposition en HIC. Enfin, la dysfonction endothéliale peut être induite par un stress oxydatif excessif au niveau des cellules endothéliales qui va réduire l'activité de la NO synthase endothéliale (eNOS) entraînant une réduction de la production du NO (Jelic et al. 2008). Des études réalisées sur le rat mâle exposé à une HIC rapportent une diminution de l'expression d'eNOS et de la formation du NO, ainsi qu'une réduction de la relaxation NO-dépendante sur des vaisseaux de conductance, tels que l'aorte (Hung et al. 2013)(Chen et al. 2017). Dans notre modèle animal, nous n'avons pas évalué l'expression d'eNOS ni la concentration du NO, mais la relaxation maximale en réponse à l'acétylcholine (relaxation NO-dépendante) a été enregistrée sur l'aorte et se révèle légèrement réduite par l'HIC chez

les rates ovariectomisées. De plus, le traitement à l'E2 améliore la vasorelaxation médiée par le NO dans l'aorte (**figure 40**).

Le stress oxydatif induit par l'HIC détériore la fonction endothéliale et est également directement lié à l'augmentation de la PA (Lavie 2015). Une étude réalisée sur des rats mâles exposés à 14 jours d'HIC rapporte une augmentation de l'expression de la NADPH oxydase et du niveau de malondialdéhyde au niveau de l'aorte (Hung et al. 2013). Cependant, dans notre modèle animal, l'HIC n'a pas induit un stress oxydatif excessif au niveau de l'aorte, mais la privation d'estrogènes (ovariectomie) a entraîné une augmentation des activités des enzymes pro-oxydantes (NOX et XO). La supplémentation en E2 a réduit le niveau d'AOPP (marqueur du stress oxydatif), mais il est intéressant de noter que cela a été obtenu par différents mécanismes lorsque les animaux ont été exposés à une normoxie ou une HIC. En condition de normoxie, la supplémentation en E2 a réduit l'activité de la NOX et de la XO, ce qui est cohérent avec des études précédentes qui ont démontré que les estrogènes modulent l'activité de la XO via un mécanisme récepteur-indépendant (Budhiraja et al. 2003), diminuent l'activation de la sous-unité p47phox et la production d'anions superoxydes par la NOX (Florian, Freiman, et Magder 2004). Après une exposition à une HIC, la supplémentation en E2 augmente l'activité de la catalase (tout en réduisant l'activité de la GPx), mais ne réduit pas l'activité de la NOX et de la XO. Nous pouvons émettre l'hypothèse que la signalisation de l'E2, dans le système vasculaire, est dérégulée par l'HIC. Ce schéma de protection contre le stress oxydatif diffère de celui obtenu dans le cerveau, les glandes surrénales (Laouafa, Ribon-Demars, et al. 2017) ou encore dans les poumons (**cf chapitre II**) des rates exposées à 7 jours d'HIC.

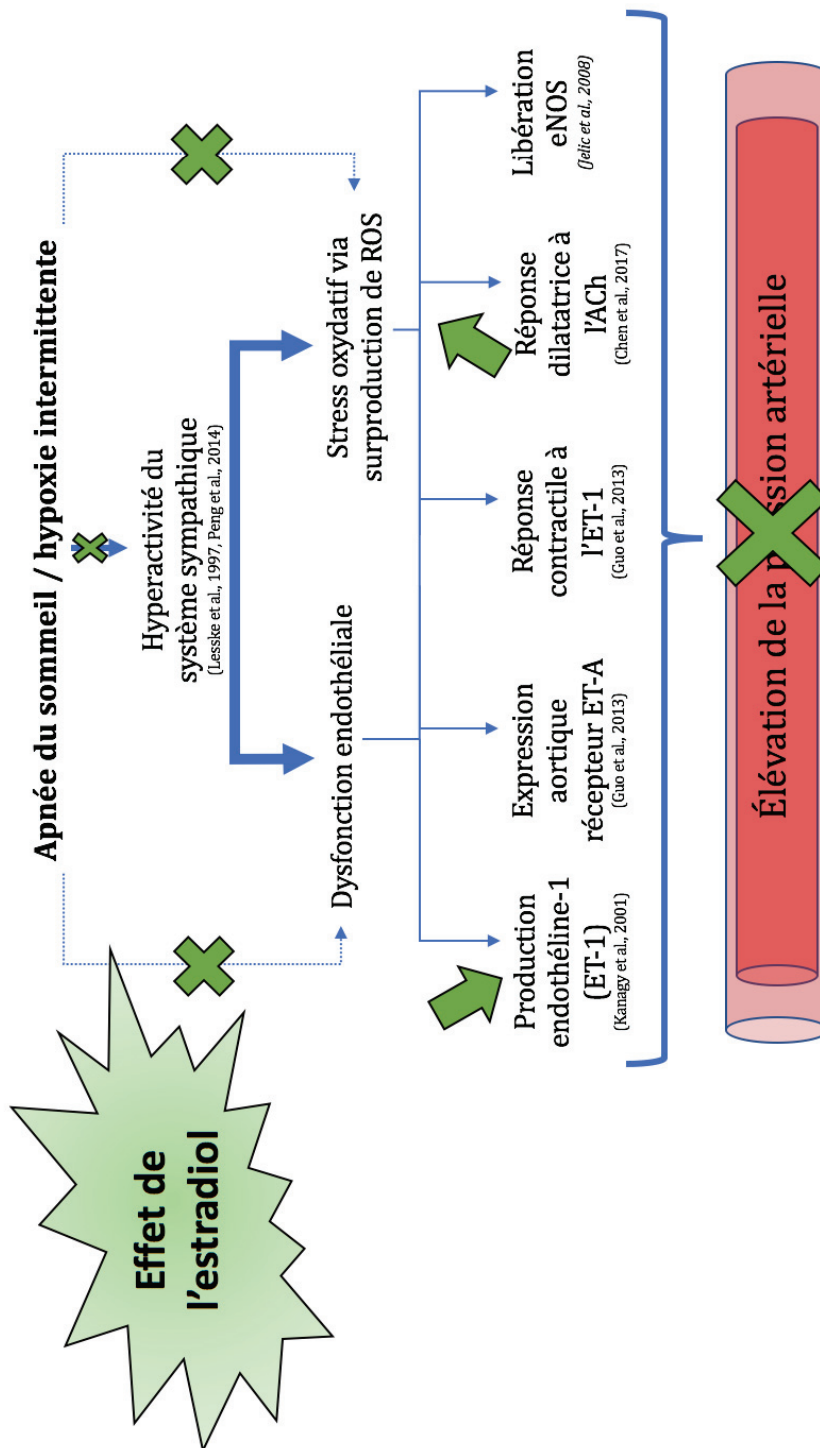


Figure 40 : Représentation schématique des effets de la supplémentation en estradiol sur la dysfonction endothéliale et le stress oxydatif, dans le cas de l'apnée du sommeil ou d'une exposition en hypoxie intermittente chronique. En vert, les effets de l'estradiol observés dans notre modèle animal. ROS : espèces réactives oxygénées; ET-1 : endothéline-1; ET-A : récepteur de l'endothéline-1; ACh : acétylcholine; eNOS : enzyme de synthèse de l'oxyde nitrique endothéliale. Élaborée pour cette thèse.

L'estradiol agit différemment sur la catalase et la GPx en condition d'HIC

Le rôle des enzymes anti-oxydantes est de prendre en charge les ROS produites par les mitochondries et les enzymes pro-oxydantes, afin de les transformer en molécules non réactives (**figure 41**). De nombreuses études réalisées sur des cellules en culture ou sur des animaux ont montré que la surexpression de SOD, de GPx et de la catalase permet de limiter les effets délétères du stress oxydatif (Comhair et Erzurum 2005).

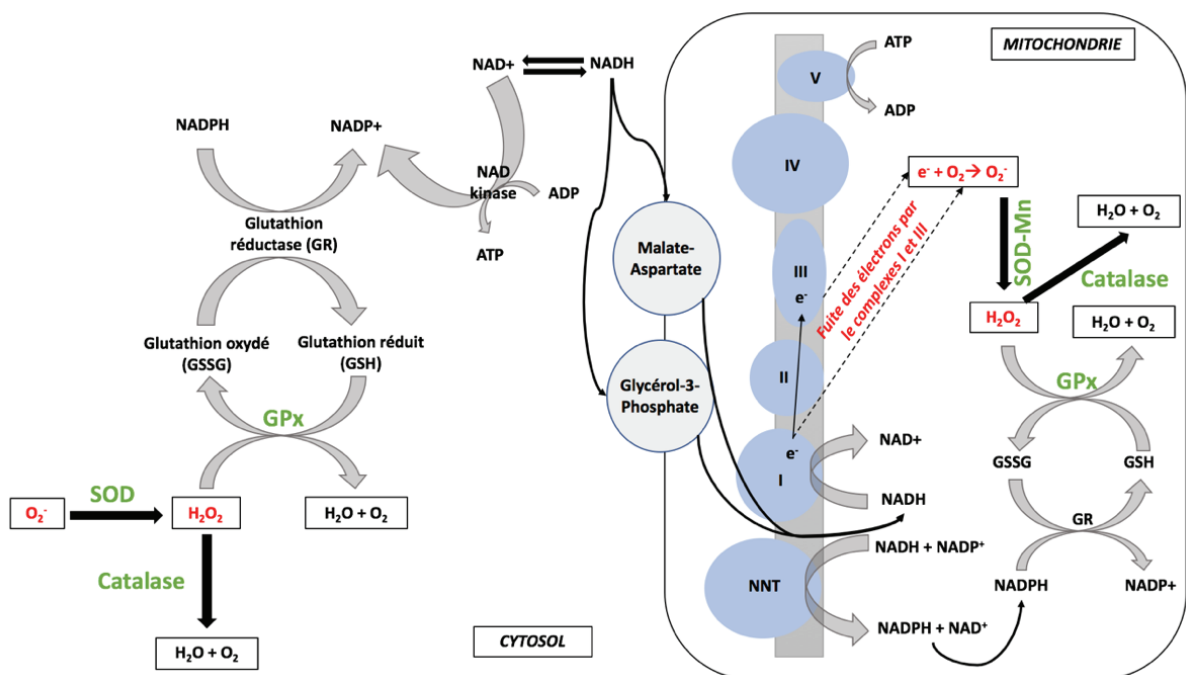


Figure 41 : Le stress oxydatif et les capacités anti-oxydantes au niveau de la mitochondrie, en condition physiologique. En vert, les enzymes anti-oxydantes: SOD : superoxyde dismutase, SOD-Mn : superoxyde dismutase mitochondriale, GPx : glutathion peroxydase, catalase. En rouge, les espèces réactives oxygénées: O_2^- : anion superoxyde et H_2O_2 : peroxyde d'hydrogène. Les cofacteurs : NADPH : β -nicotinamide adénine dinucléotide phosphate, NAD : nicotinamide adénine dinucléotide. *Élaborés pour cette thèse.*

La catalase et le GPx effectuent la même réaction en catalysant le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en eau et en oxygène. L'activité de ces enzymes est sensible à certains facteurs comme l'HIC (da Rosa et al. 2012). Les résultats de notre seconde étude, présentée dans le **chapitre II**, montrent qu'après une exposition de 7 jours en HIC les activités de la catalase et de GPx augmentent chez les rates intactes et ovariectomisées. Dans l'étude de Chen et al., les activités de la catalase et de GPx sont similaires dans les poumons des souris femelles et

mâles, suggérant que ces enzymes et par conséquent la dégradation du peroxyde d'hydrogène ne sont pas affectées par le sexe et les hormones sexuelles (Chen 2011). Nos résultats vont dans le même sens puisque nous n'observons pas d'effet de l'ovariectomie sur les activités de ces deux enzymes. Ce qui est plus surprenant, c'est l'effet de la supplémentation en E2 sur ces enzymes au niveau des poumons. En condition de normoxie la supplémentation en E2 entraîne une augmentation de l'activité de ces deux enzymes, tandis qu'en condition hypoxique l'E2 induit une augmentation de l'activité de la catalase, mais une diminution de l'activité de la GPx (**figure 42**). Cet effet de l'E2 sur l'activité de la catalase et celle de GPx, après une exposition en HIC de 7 jours, avait également été mis en avant dans la précédente étude réalisée sur les aortes de rates (Ribon-Demars et al. 2018). La différence observée entre les activités de ces deux enzymes en présence d'E2 pourrait s'expliquer par le fait que la catalase n'a pas besoin de cofacteurs pour prendre en charge le peroxyde d'hydrogène, alors que le GPx nécessite des substrats tels que la glutathione réduite (GSH) et le β -nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADPH) (Ding et al. 1998). Il est possible que l'HIC et l'estradiol aient des effets qui modifient la disponibilité de ces cofacteurs, entraînant une différence dans l'activité de ces enzymes.

Concernant la catalase, elle ne nécessite pas d'équivalent réducteur supplémentaire et aucune énergie n'est requise par la cellule pour l'activité de cette enzyme. Dans notre étude, en condition hypoxique, l'activité de la catalase est similaire chez les rates intactes et ovariectomisées recevant le solvant, cependant, elle est augmentée par le traitement avec l'E2 (**figure 42**). Nous pouvons émettre l'hypothèse que notre supplémentation en E2 est plus importante que la dose physiologique d'estrogènes. Cette dose excessive d'E2 exogène (0,5mg/kg/jour) peut induire une augmentation de l'activité de la catalase. Une étude réalisée sur des érythrocytes de femmes non ménopausées (22 à 55 ans ; âge moyen 36 ans) met en avant que le taux de catalase et le niveau d'estrogènes selon le cycle menstruel sont corrélés positivement (Chang et al. 2015). Cette étude suggère que l'activité de la catalase est sensible aux variations d'estrogènes et appuie notre hypothèse.

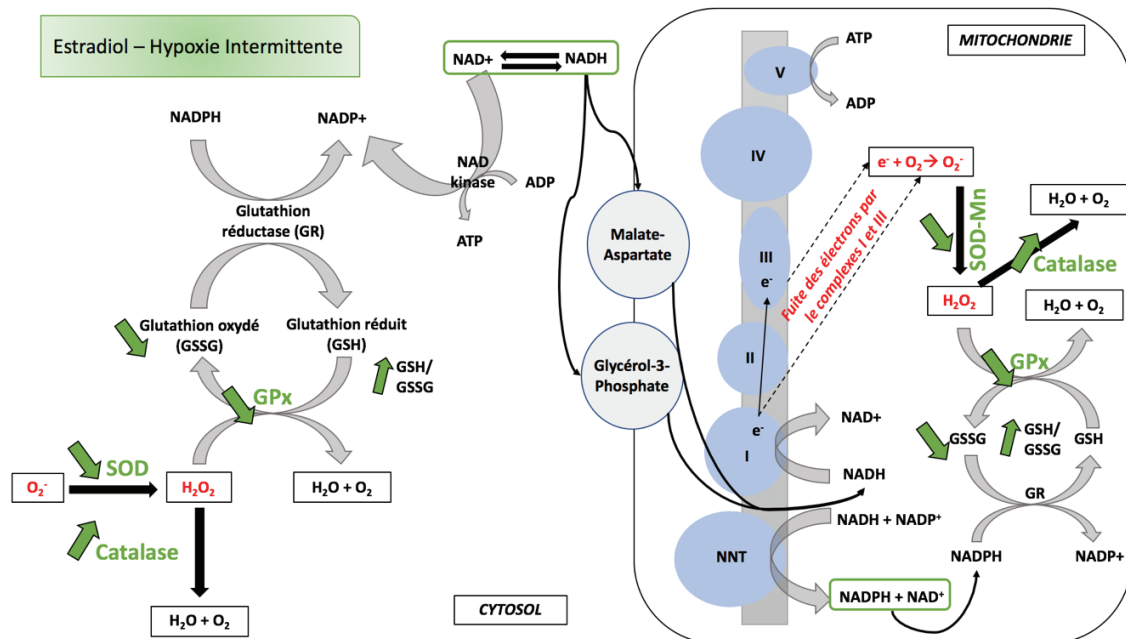


Figure 42 : Effet de la supplémentation en estradiol sur les enzymes anti-oxydantes, en condition d'hypoxie intermittente. En vert, les effets de l'estradiol que nous avons observé dans notre modèle animal. Les espèces réactives oxygénées : O_2^- : anion superoxyde et H_2O_2 : peroxyde d'hydrogène. Les enzymes anti-oxydantes : SOD : superoxyde dismutase, SOD-Mn : superoxyde dismutase mitochondriale, GPx : glutathion peroxydase, catalase. Les cofacteurs : NADPH : β -nicotinamide adénine dinucléotide phosphate, NAD : nicotinamide adénine dinucléotide. Élaborés pour cette thèse.

Parallèlement, le GPx participe à la réaction d'oxydo-réduction entre la glutathion réduite (GSH) et la glutathion oxydée (GSSG), et son activité est étroitement liée au pool NADPH/NAD⁺ (Robaczewska et al. 2016) et au ratio GSH/GSSG (Siqueira et al. 2011). Il est important de prendre en considération que l'exposition en HIC affecte les fonctions mitochondriales (Lavie 2015)(Laouafa, Bairam, et al. 2017) et semble modifier l'équilibre redox intracellulaire. Dans ce contexte, on peut émettre l'hypothèse que la supplémentation en E2, chez les rates ovariectomisées et exposées à une HIC, contribue à maintenir la balance redox intracellulaire via la régulation de l'activité de la GPx. Une étude indique que l'exposition à une hypoxie (caisson de simulation de haute altitude 6100m) réduit les taux de GPx, de GSH et le ratio GSH/GSSG dans le cerveau du rat (Maiti et al. 2006). De plus, une étude rapporte que le retrait des œstrogènes altère considérablement l'équilibre redox (Siqueira et al. 2011). En effet, après l'ovariectomie des rates, les auteurs ont constaté une réduction des taux de GSH et du ratio GSH/GSSG (Siqueira et al. 2011). Parallèlement, une

étude démontre l'implication de l'E2 dans la régulation de GSSG et du ratio GSH/GSSG au niveau du foie, du cœur, des reins et de la rate de rates ovariectomisées (Baeza et al. 2010). Les auteurs mettent en évidence que l'E2 diminue le taux de GSSG dans ces différents organes, ce qui entraîne une augmentation du ratio GSH/GSSG.

Implications des HIF dans le stress oxydatif induit par l'HIC

Au cours de ce travail, nous avons exploré les effets protecteurs de l'E2 sur les conséquences d'une exposition en HIC durant 7 et 35 jours, telles que l'HTA, le dysfonctionnement endothélial et le stress oxydatif. Par ailleurs, un des mécanismes moléculaires pouvant expliquer l'augmentation du stress oxydatif n'a pas été étudié et il nous semble pertinent de l'aborder brièvement dans cette discussion. Il s'agit des facteurs induits par l'hypoxie (*Hypoxia Inducible Factor* ; HIF), qui sont des facteurs de transcriptions dont l'activité est régulée par la pression d'oxygène cellulaire.

L'analyse des mécanismes moléculaires a révélé que l'HIC active HIF-1 α et inhibe la transcription médiée par HIF-2 α . La dérégulation de la transcription médiée par HIF-1 α et HIF-2 α entraîne un déséquilibre de l'expression génique des enzymes pro-oxydantes et anti-oxydantes, ce qui engendre une augmentation de la production de ROS au niveau des corps carotidiens (Nanduri et al. 2015). Par ailleurs, les ROS dérivées des mitochondries sont à la fois nécessaires et suffisantes pour amorcer la stabilisation de HIF-1 α pendant l'hypoxie (Chandel et al. 2000). Compte tenu de nos résultats de marqueur du stress oxydatif et des enzymes pro et anti-oxydantes, nous pouvons faire l'hypothèse que HIF-1 α a un rôle dans la régulation de la balance redox et dans les conséquences vasculaires de l'HIC. Tout d'abord, en ce qui concerne HIF-1 α , des études ont rapporté que l'HIC active ce facteur, et que ce dernier stimule la transcription et l'activité de la NADPH oxydase (NOX2) au niveau du système nerveux central et périphériques (Prabhakar et al. 2015). La surexpression de la NOX2 engendre une augmentation du stress oxydatif (**figure 43**). De plus, une étude a

démontré que des souris déficientes en HIF-1 α et exposées à une HIC (5% O₂, 8h/jour, pendant 10 jours) ne présentent pas d'élévation de la PA, d'augmentation du stress oxydatif et des catécholamines ou encore une réponse ventilatoire à l'hypoxie exagérée, comparativement aux souris wild-type (WT) (Peng et al. 2006). Enfin, HIF-1 α est l'un des médiateurs essentiels dans la réponse à une diminution de la disponibilité en oxygène au niveau des poumons et est impliqué dans la pathogenèse de l'HTAP. Le facteur de croissance endothélial vasculaire (VEGF), un gène cible de HIF-1 α , joue également un rôle important dans la pathogenèse de l'HTAP induite par l'hypoxie et du remodelage de l'artère pulmonaire (Li et Dai 2004). Parallèlement, des études ont mis en avant que l'HIC réprime l'expression de la protéine HIF-2 α dans le corps carotidien, ce qui entraîne la diminution des ARNm de plusieurs enzymes anti-oxydantes telles que la SOD cytosolique (Nanduri et al. 2009). Nos résultats ne permettent pas de mettre en évidence une diminution de l'activité de la SOD au niveau de l'aorte et du poumon, ce qui suggère des mécanismes de régulation spécifiques au tissu étudié. De plus, les ROS générées par la XO interviennent dans la dégradation de HIF-2 α induite par l'HIC via l'activation de la voie des calpaïnes (Nanduri et al. 2013b) (**figure 43**). Enfin, une étude a validé le rôle de HIF-2 α dans le développement de l'HTA induit par l'HIC et dans les mécanismes associés en utilisant des souris déficientes en HIF-2 α et exposées à l'HIC (Peng et al. 2011). Ils ont observé une élévation du stress oxydatif, du nombre d'apnées et de la PA chez les souris déficientes en HIF-2 α , comparativement aux souris WT.

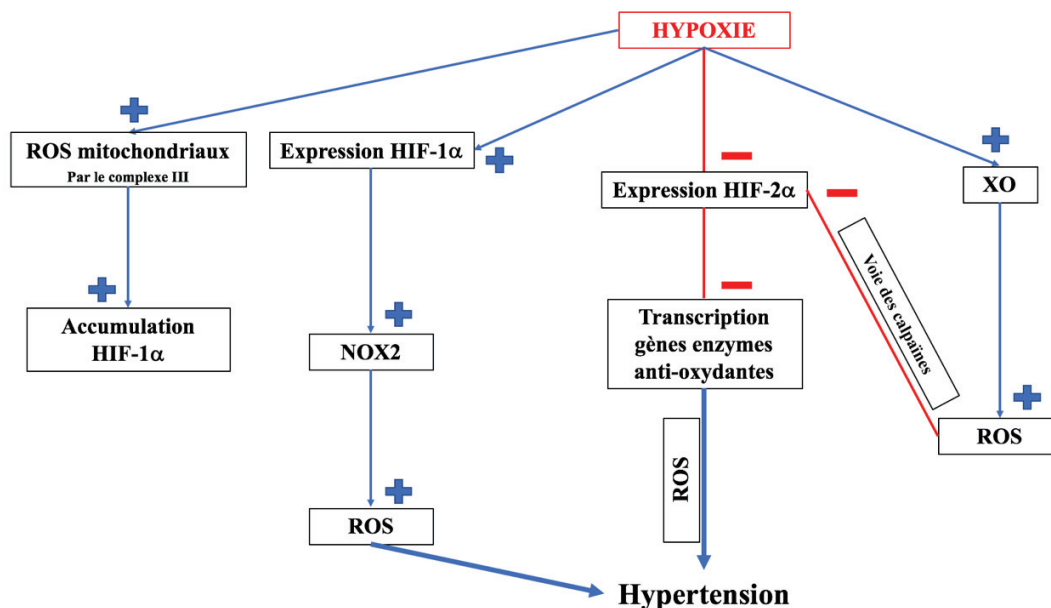


Figure 43: Mécanismes moléculaires pouvant expliquer le développement de l'hypertension artérielle en condition d'hypoxie intermittente : interactions entre les facteurs induits par l'hypoxie (HIF-1 α et HIF-2 α) et la production d'espèces réactives oxygénées (ROS) par les mitochondries, la NADPH oxyde 2 (NOX2) et la xanthine oxydase (XO). Élaborés pour cette thèse.

La surexpression de HIF-1 α et la dépression de HIF-2 α seraient des mécanismes pouvant expliquer l'augmentation du stress oxydatif chez les animaux exposés à l'HIC, et par conséquent à l'augmentation de la PA observée. Il serait pertinent de les étudier dans notre modèle animal d'HIC et d'explorer le rôle de l'E2. Étant donné que nous avons démontré que l'E2 diminue le stress oxydatif dans l'aorte et les poumons en diminuant l'activité de la NOX2, nous pouvons émettre l'hypothèse que cette diminution peut également jouer un rôle sur l'activité de HIF-1 α . De plus, des études ont mis en évidence que l'E2, en se fixant sur son ER β , est capable de supprimer les transcriptions médiées par HIF-1 α (Mukundan, Kanagy, et Resta 2004)(Lim et al. 2011). Par exemple, l'induction hypoxique du VEGF par HIF-1 α est bloquée par l'expression de ER β (Lim et al. 2011). Bien que le rôle de l'E2 dans la régulation de HIF-1 α soit évident, son rôle concernant HIF-2 α reste largement inexploré. Dans une étude, les chercheurs ont cependant observé une régulation à la baisse des ARNm et des protéines HIF-2 α par les ER α au niveau de cellules cancéreuses du sein hormono-dépendant (Fuady et al. 2016).

Rôles des ER dans la protection vasculaire de l'estradiol

Plusieurs études ont mis en évidence que les estrogènes exercent des effets bénéfiques sur la paroi vasculaire (Hernández et al. 2000)(Miller et Duckles 2008)(Ribon-Demars et al. 2018). Ils permettent, en outre, la régulation à la hausse des gènes des cellules endothéliales (enzyme eNOs) (Chambliss et Shaul 2002), l'activation de la synthèse du NO (Gonzales, Walker, et Kanagy 2001) et la modulation des réponses vasomotrices (Collins et al. 1995)(Castillo et al. 2006). Bien que ces différents mécanismes aient été signalés, les effets des estrogènes au niveau vasculaire semblent être médiés par les ER spécifiques situés sur la membrane plasmique et intracellulaire. Les deux sous-types de ER qui nous intéressent sont ER α et ER β qui se trouvent tous les deux dans le muscle lisse vasculaire et dans les cellules endothéliales humaines (Widder et al. 2003)(Bolego et al. 2005). Les agonistes synthétiques sélectifs aux ER utilisés pour déterminer le rôle de chacun de ces récepteurs dans les effets de l'E2 sur la fonction vasculaire sont le propyl-pyrazole trisphenol (PPT), agoniste de ER α , et le diaryl-propionitrile (DPN), agoniste de ER β (Bolego et al. 2006). Des modèles animaux n'exprimant pas un de ces récepteurs sont également utilisés. Les études ont démontré que ces deux ER ont des effets bénéfiques sur les vaisseaux, qui peuvent prévenir le développement des maladies cardiovasculaires (Chen et al. 1999)(Chen et al. 2009). Ainsi, des études ont mis en avant que le récepteur ER α induit des effets positifs en stimulant la production du NO (Darblade et al. 2002), en stimulant la prolifération cellulaire du muscle lisse vasculaire (Pare et al. 2002) et en prévenant la dysfonction endothéliale (Favre et al. 2010). En ce qui concerne le récepteur ER β , une étude rapporte que les estrogènes atténuent la vasoconstriction via ce récepteur ER β en augmentant l'expression de iNOs (Zhu et al. 2002). Parallèlement, les effets de ces deux ER peuvent parfois être contraires, en fonction du tissu ou de l'organe étudié, de la dose d'estrogènes et de la durée du traitement (Matthews and Gustafsson 2003). Certains auteurs suggèrent que le ratio d'expression ER α /ER β est un facteur déterminant car ER β peut s'opposer aux effets de ER α (Cruz et al. 2006). En effet, ER β semble agir comme un régulateur dominant dans la signalisation oestrogénique et, lorsqu'il est co-exprimé avec ER α , ER β provoque une réduction, dépendante de la concentration, de l'activation transcriptionnelle induite par ER α (Matthews and Gustafsson 2003).

Perspectives

Le projet de cette thèse regroupe des expérimentations uniquement sur le plan fondamental, mais les résultats obtenus peuvent servir pour de futures études sur le plan clinique. Les conclusions suggèrent que le traitement à l'E2 pourrait avoir une pertinence clinique pour pallier aux conséquences vasculaires et systémiques associées au SAHOS.

Sur le plan fondamental, il serait intéressant d'évaluer le rôle respectif de ER α et ER β dans la régulation du stress oxydatif et de la fonction endothéliale dans notre modèle animal d'HIC. Une étude récente de notre laboratoire a par ailleurs démontré que l'agoniste de ER α (PPT) prévient l'augmentation de la PA chez des rates ovariectomisées et exposées en HIC, tandis que l'agoniste de ER β n'a pas d'effet sur ce paramètre (Laouafa et al. 2019). Toutefois, les deux agonistes étaient capables d'éviter une production excessive de ROS mitochondriales dans le cortex cérébral.

En clinique, l'hormonothérapie montre des résultats encourageants sur les désordres respiratoires durant le sommeil chez la femme ménopausée (Shahar et al. 2003). Cependant, ces thérapies de substitutions hormonales ont été au cœur de débats scientifiques suite aux rapports de la WHI qui indiquent que les bénéfices ne sont pas suffisants par rapport aux effets secondaires. Le traitement idéal de la ménopause devrait permettre de réduire les bouffées de chaleur, traiter efficacement l'atrophie vaginale et ses symptômes, prévenir le développement de l'ostéoporose et avoir des effets favorables sur les profils de lipoprotéines. Parallèlement, ce traitement ne doit pas stimuler l'endomètre, provoquer des saignements utérins ou augmenter le risque d'événements vasculaires et, potentiellement, réduire l'incidence du cancer du sein. L'utilisation de modulateurs sélectifs des récepteurs aux œstrogènes (SERMs) comme le bazédoxifène (BZA) associé à l'estradiol conjugué semble être une alternative. Cette combinaison peut fournir les avantages thérapeutiques des œstrogènes et des SERMs avec une meilleure tolérance et une plus grande sécurité que l'un ou l'autre des traitements seuls. Des essais cliniques (5 essais randomisés nommés « Selective estrogens, Menopause, and Response to Therapy » sur 7500 femmes ménopausées) (Archer et al. 2016) ont été effectués et rapportent que l'association estradiol conjugué/BZA permet de diminuer les symptômes de la ménopause comme les bouffées de chaleur et l'ostéoporose.

De plus, contrairement à d'autres SERMs (tel que le Tamoxifène), le BZA n'entraîne pas d'hyperplasie de l'endomètre, d'augmentation de la densité mammaire ou d'apparition de cancers de l'utérus ou des ovaires (Parish et Gillespie 2017). Il semblerait pertinent de tester l'hypothèse que cette nouvelle thérapie serait efficace contre les apnées du sommeil et les conséquences vasculaires associées, observées chez la femme ménopausée.

Bibliographie

Adena, M. A., et H. G. Gallagher. 1982. « Cigarette Smoking and the Age at Menopause ». *Annals of Human Biology* 9 (2): 121-30.

Ainslie, D. A., M. J. Morris, G. Wittert, H. Turnbull, J. Proietto, et A. W. Thorburn. 2001. « Estrogen Deficiency Causes Central Leptin Insensitivity and Increased Hypothalamic Neuropeptide Y ». *International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders: Journal of the International Association for the Study of Obesity* 25 (11): 1680-88. <https://doi.org/10.1038/sj.ijo.0801806>.

Alajmi, M., A. T. Mulgrew, J. Fox, W. Davidson, M. Schulzer, E. Mak, C. F. Ryan, J. Fleetham, P. Choi, et N. T. Ayas. 2007. « Impact of Continuous Positive Airway Pressure Therapy on Blood Pressure in Patients with Obstructive Sleep Apnea Hypopnea: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials ». *Lung* 185 (2): 67-72. <https://doi.org/10.1007/s00408-006-0117-x>.

Alchanatis, M., G. Tourkhoriti, S. Kakouros, E. Kosmas, S. Podaras, et J. B. Jordanoglou. 2001. « Daytime Pulmonary Hypertension in Patients with Obstructive Sleep Apnea: The Effect of Continuous Positive Airway Pressure on Pulmonary Hemodynamics ». *Respiration; International Review of Thoracic Diseases* 68 (6): 566-72. <https://doi.org/10.1159/000050574>.

Alfie, J., L. Lugones, A. Belardo, M. Tutzer, C. R. Galarza, G. D. Waisman, et M. I. Cámara. 1997. « Hemodynamic Effects of Transdermal Estradiol Alone and Combined with Norethisterone Acetate ». *Maturitas* 27 (2): 163-69.

Allahdadi, Kyan J., Tom W. Cherng, Hemanth Pai, Ana Q. Silva, Benjimen R. Walker, Leif D. Nelin, et Nancy L. Kanagy. 2008. « Endothelin Type A Receptor Antagonist Normalizes Blood Pressure in Rats Exposed to Eucapnic Intermittent Hypoxia ». *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology* 295 (1): H434-440. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.91477.2007>.

Allahdadi, Kyan J., Benjimen R. Walker, et Nancy L. Kanagy. 2005. « Augmented Endothelin Vasoconstriction in Intermittent Hypoxia-Induced Hypertension ». *Hypertension (Dallas, Tex.: 1979)* 45 (4): 705-9. <https://doi.org/10.1161/01.HYP.0000153794.52852.04>.

Amigoni, S., P. Morelli, F. Parazzini, et L. Chatenoud. 2000. « Determinants of Elevated Blood Pressure in Women around Menopause: Results from a Cross-Sectional Study in Italy ». *Maturitas* 34 (1): 25-32.

Antoniades, Charalambos, Cheerag Shirodaria, Nicholas Warrick, Shijie Cai, Joseph de Bono, Justin Lee, Paul Leeson, et al. 2006. « 5-Methyltetrahydrofolate Rapidly Improves Endothelial Function and Decreases Superoxide Production in Human Vessels: Effects on Vascular Tetrahydrobiopterin Availability and Endothelial Nitric Oxide Synthase

Coupling ». *Circulation* 114 (11): 1193-1201.
<https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.106.612325>.

Archer, David F., Ellen W. Freeman, Barry S. Komm, Kelly A. Ryan, Ching-Ray Yu, Sebastian Mirkin, et JoAnn V. Pinkerton. 2016. « Pooled Analysis of the Effects of Conjugated Estrogens/Bazedoxifene on Vasomotor Symptoms in the Selective Estrogens, Menopause, and Response to Therapy Trials ». *Journal of Women's Health* 25 (11): 1102-11.
<https://doi.org/10.1089/jwh.2015.5558>.

Aronica, S. M., W. L. Kraus, et B. S. Katzenellenbogen. 1994. « Estrogen Action via the CAMP Signaling Pathway: Stimulation of Adenylate Cyclase and CAMP-Regulated Gene Transcription ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 91 (18): 8517-21.

Ashraf, Muhammad S., et Wanpen Vongpatanasin. 2006. « Estrogen and Hypertension ». *Current Hypertension Reports* 8 (5): 368-76.

Atkeson, Amy, et Sanja Jelic. 2008. « Mechanisms of endothelial dysfunction in obstructive sleep apnea ». *Vascular Health and Risk Management* 4 (6): 1327-35.

Atkeson, Amy, Susie Yim Yeh, Atul Malhotra, et Sanja Jelic. 2009. « Endothelial Function in Obstructive Sleep Apnea ». *Progress in cardiovascular diseases* 51 (5): 351-62.
<https://doi.org/10.1016/j.pcad.2008.08.002>.

Baeza, I., N. M. De Castro, L. Giménez-Llort, et M. De la Fuente. 2010. « Ovariectomy, a model of menopause in rodents, causes a premature aging of the nervous and immune systems ». *Journal of Neuroimmunology* 219 (1): 90-99.
<https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2009.12.008>.

Baeza, Isabel, Jesús Fdez-Tresguerres, Carmen Ariznavarreta, et Mónica De la Fuente. 2010. « Effects of Growth Hormone, Melatonin, Oestrogens and Phytoestrogens on the Oxidized Glutathione (GSSG)/Reduced Glutathione (GSH) Ratio and Lipid Peroxidation in Aged Ovariectomized Rats ». *Biogerontology* 11 (6): 687-701. <https://doi.org/10.1007/s10522-010-9282-7>.

BaHammam, Ahmed S., Amr Obeidat, Kashmira Barataman, Salman A. Bahammam, Awad H. Olaish, et Munir M. Sharif. 2014. « A Comparison between the AASM 2012 and 2007 Definitions for Detecting Hypopnea ». *Sleep & Breathing = Schlaf & Atmung* 18 (4): 767-73.
<https://doi.org/10.1007/s11325-014-0939-3>.

Bao, G., N. Metreveli, R. Li, A. Taylor, et E. C. Fletcher. 1997. « Blood Pressure Response to Chronic Episodic Hypoxia: Role of the Sympathetic Nervous System ». *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)* 83 (1): 95-101.
<https://doi.org/10.1152/jappl.1997.83.1.95>.

Barakat, Radwa, Oliver Oakley, Heehyen Kim, Jooyoung Jin, et CheMyong Jay Ko. 2016. « Extra-Gonadal Sites of Estrogen Biosynthesis and Function ». *BMB Reports* 49 (9): 488-96.

Barceló, A., C. Miralles, F. Barbé, M. Vila, S. Pons, et A. G. Agustí. 2000. « Abnormal Lipid Peroxidation in Patients with Sleep Apnoea ». *The European Respiratory Journal* 16 (4): 644-47.

Barlet, Jp, Veronique V. Coxam, Mj Davicco, et N Gaumet. 1994. « Modèles animaux d'ostéoporose post-ménopausique ». *Reproduction Nutrition Development* 34 (3): 221-36.

Bedard, Karen, et Karl-Heinz Krause. 2007. « The NOX Family of ROS-Generating NADPH Oxidases: Physiology and Pathophysiology ». *Physiological Reviews* 87 (1): 245-313. <https://doi.org/10.1152/physrev.00044.2005>.

Belaidi, Elise, Marie Joyeux-Faure, Christophe Ribuot, Sandrine H. Launois, Patrick Levy, et Diane Godin-Ribuot. 2009. « Major Role for Hypoxia Inducible Factor-1 and the Endothelin System in Promoting Myocardial Infarction and Hypertension in an Animal Model of Obstructive Sleep Apnea ». *Journal of the American College of Cardiology* 53 (15): 1309-17. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2008.12.050>.

Betteridge, D. J. 2000. « What Is Oxidative Stress? » *Metabolism: Clinical and Experimental* 49 (2 Suppl 1): 3-8.

Bickelmann, A. G., C. S. Burwell, E. D. Robin, et R. D. Whaley. 1956. « Extreme Obesity Associated with Alveolar Hypoventilation; a Pickwickian Syndrome ». *The American Journal of Medicine* 21 (5): 811-18.

Bilsel, A. S., H. Moini, E. Tetik, F. Aksungar, B. Kaynak, et A. Ozer. 2000. « 17Beta-Estradiol Modulates Endothelin-1 Expression and Release in Human Endothelial Cells ». *Cardiovascular Research* 46 (3): 579-84.

Bixler, E. O., A. N. Vgontzas, H. M. Lin, T. Ten Have, B. E. Leiby, A. Vela-Bueno, et A. Kales. 2000. « Association of Hypertension and Sleep-Disordered Breathing ». *Archives of Internal Medicine* 160 (15): 2289-95.

Bixler, E. O., A. N. Vgontzas, T. Ten Have, K. Tyson, et A. Kales. 1998. « Effects of Age on Sleep Apnea in Men: I. Prevalence and Severity ». *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 157 (1): 144-48. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.157.1.9706079>.

Bixler, Edward O., Alexandros N. Vgontzas, Hung-Mo Lin, Thomas Ten Have, Jennifer Rein, Antonio Vela-Bueno, et Anthony Kales. 2001. « Prevalence of Sleep-disordered Breathing in Women ». *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 163 (3): 608-13. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.163.3.9911064>.

Björnström, Linda, et Maria Sjöberg. 2005. « Mechanisms of Estrogen Receptor Signaling: Convergence of Genomic and Nongenomic Actions on Target Genes ». *Molecular Endocrinology (Baltimore, Md.)* 19 (4): 833-42. <https://doi.org/10.1210/me.2004-0486>.

Böhm, Felix, et John Pernow. 2007. « The Importance of Endothelin-1 for Vascular Dysfunction in Cardiovascular Disease ». *Cardiovascular Research* 76 (1): 8-18. <https://doi.org/10.1016/j.cardiores.2007.06.004>.

Bolego, Chiara, Andrea Cignarella, Paola Sanvito, Valeria Pelosi, Fabio Pellegatta, Lina Puglisi, et Christian Pinna. 2005. « The Acute Estrogenic Dilation of Rat Aorta Is Mediated Solely by Selective Estrogen Receptor-Alpha Agonists and Is Abolished by Estrogen Deprivation ». *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 313 (3): 1203-8. <https://doi.org/10.1124/jpet.104.082867>.

Bolego, Chiara, Elisabetta Vegeto, Christian Pinna, Adriana Maggi, et Andrea Cignarella. 2006. « Selective Agonists of Estrogen Receptor Isoforms: New Perspectives for Cardiovascular Disease ». *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 26 (10): 2192-99. <https://doi.org/10.1161/01.ATV.0000242186.93243.25>.

Bonora, Monique, Walter M. St. John, et Thomas A. Bledsoe. 1985. « Differential Elevation by Protriptyline and Depression by Diazepam of Upper Airway Respiratory Motor Activity ». *American Review of Respiratory Disease* 131 (1): 41-45. <https://doi.org/10.1164/arrd.1985.131.1.41>.

Booth, J. 1977. « A short history of blood pressure measurement. » *Proceedings of the Royal Society of Medicine* 70 (11): 793-99.

Borrás, Consuelo, Juan Gambini, Ma Carmen Gómez-Cabrera, Juan Sastre, Federico V. Pallardó, Giovanni E. Mann, et José Viña. 2005. « 17 β -oestradiol up-regulates longevity-related, antioxidant enzyme expression via the ERK1 and ERK2[MAPK]/NF κ B cascade ». *Aging Cell* 4 (3): 113-18. <https://doi.org/10.1111/j.1474-9726.2005.00151.x>.

Borrás, Consuelo, Juan Gambini, Raúl López-Grueso, Federico V. Pallardó, et Jose Viña. 2010. « Direct antioxidant and protective effect of estradiol on isolated mitochondria ». *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease, Mitochondrial Dysfunction*, 1802 (1): 205-11. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2009.09.007>.

Borrás, Consuelo, Juan Sastre, David García-Sala, Ana Lloret, Federico V. Pallardó, et José Viña. 2003. « Mitochondria from Females Exhibit Higher Antioxidant Gene Expression and Lower Oxidative Damage than Males ». *Free Radical Biology & Medicine* 34 (5): 546-52.

Boulanger, Chantal M., et Paul M. Vanhoutte. 1997. « Vasomotricité d'origine endothéliale. Rôle des protéines G ». *Sang Thrombose Vaisseaux* 9 (1): 22-30.

Brodie, Angela, Danijela Jelovac, et Brian J. Long. 2003. « Predictions from a Preclinical

Model: Studies of Aromatase Inhibitors and Antiestrogens ». *Clinical Cancer Research* 9 (1): 455s-59.

Brodie, Angela, Qing Lu, et Brian Long. 1999. « Aromatase and its inhibitors ». *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 69 (1): 205-10. [https://doi.org/10.1016/S0960-0760\(99\)00051-5](https://doi.org/10.1016/S0960-0760(99)00051-5).

Brook, R. D., et S. Julius. 2000. « Autonomic Imbalance, Hypertension, and Cardiovascular Risk ». *American Journal of Hypertension* 13 (6 Pt 2): 112S-122S.

Brosnihan, K. B., A. Moriguchi, H. Nakamoto, R. H. Dean, D. Ganten, et C. M. Ferrario. 1994. « Estrogen Augments the Contribution of Nitric Oxide to Blood Pressure Regulation in Transgenic Hypertensive Rats Expressing the Mouse Ren-2 Gene ». *American Journal of Hypertension* 7 (7 Pt 1): 576-82.

Brownell LG, et al. s. d. « Protriptyline in Obstructive Sleep Apnea: A Double-Blind Trial. - PubMed - NCBI ». Consulté le 20 février 2019. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/acces.bibl.ulaval.ca/pubmed/6750396>.

Budhiraja, Rohit, Usamah S. Kayyali, Mallik Karamsetty, Michael Fogel, Nicholas S. Hill, Roger Chalkley, Geraldine A. Finlay, et Paul M. Hassoun. 2003. « Estrogen Modulates Xanthine Dehydrogenase/Xanthine Oxidase Activity by a Receptor-Independent Mechanism ». *Antioxidants & Redox Signaling* 5 (6): 705-11. <https://doi.org/10.1089/152308603770380007>.

Budhiraja, Rohit, Sairam Parthasarathy, et Stuart F. Quan. 2007. « Endothelial Dysfunction in Obstructive Sleep Apnea ». *Journal of Clinical Sleep Medicine: JCSM: official publication of the American Academy of Sleep Medicine* 3 (4): 409-15.

Buleishvili, M., N. Lobjanidze, G. Ormotsadze, M. Enukidze, M. Machavariani, et T. Sanikidze. 2016. « ESTROGEN RELATED MECHANISMS OF HYPERTENSION IN MENOPAUSAL WOMEN ». *Georgian Medical News*, n° 255 (juin): 45-51.

Burwell, C. Sidney, Eugene D. Robin, Robert D. Whaley, et Albert G. Bickelmann. 1994. « Extreme Obesity Associated with Alveolar Hypoventilation — A Pickwickian Syndrome* ». *Obesity Research* 2 (4): 390-97. <https://doi.org/10.1002/j.1550-8528.1994.tb00084.x>.

Cameron, J. S., et J. Hicks. 1996. « Frederick Akbar Mahomed and His Role in the Description of Hypertension at Guy's Hospital ». *Kidney International* 49 (5): 1488-1506.

Cannoletta, Marianna, et Angelo Cagnacci. 2014. « Modification of Blood Pressure in Postmenopausal Women: Role of Hormone Replacement Therapy ». *International Journal of Women's Health* 6: 745-57. <https://doi.org/10.2147/IJWH.S61685>.

Cano-Pumarega, Irene, Ferrán Barbé, Andrés Esteban, Montserrat Martínez-Alonso, Carlos Egea, Joaquín Durán-Cantolla, et Spanish Sleep Network(*). 2017a. « Sleep Apnea and Hypertension: Are There Sex Differences? The Vitoria Sleep Cohort ». *Chest* 152 (4): 742-50. <https://doi.org/10.1016/j.chest.2017.03.008>.

———. 2017b. « Sleep Apnea and Hypertension: Are There Sex Differences? The Vitoria Sleep Cohort ». *Chest* 152 (4): 742-50. <https://doi.org/10.1016/j.chest.2017.03.008>.

Cano-Pumarega, Irene, Joaquín Durán-Cantolla, Felipe Aizpuru, Erika Miranda-Serrano, Ramón Rubio, Cristina Martínez-Null, Javier de Miguel, et al. 2011. « Obstructive Sleep Apnea and Systemic Hypertension ». *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 184 (11): 1299-1304. <https://doi.org/10.1164/rccm.201101-0130OC>.

Carley, David W., Bharati Prasad, Kathryn J. Reid, Roneil Malkani, Hryar Attarian, Sabra M. Abbott, Boris Vern, Hui Xie, Chengbo Yuan, et Phyllis C. Zee. 2018. « Pharmacotherapy of Apnea by Cannabimimetic Enhancement, the PACE Clinical Trial: Effects of Dronabinol in Obstructive Sleep Apnea ». *Sleep* 41 (1). <https://doi.org/10.1093/sleep/zsx184>.

Carley, David W., et Miodrag Radulovacki. 1999. « Mirtazapine, a Mixed-Profile Serotonin Agonist/Antagonist, Suppresses Sleep Apnea in the Rat ». *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 160 (6): 1824-29. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.160.6.9902090>.

Carreras, Alba, Shelley X. L. Zhang, Isaac Almendros, Yang Wang, Eduard Peris, Zhuanhong Qiao, et David Gozal. 2015. « Resveratrol Attenuates Intermittent Hypoxia-Induced Macrophage Migration to Visceral White Adipose Tissue and Insulin Resistance in Male Mice ». *Endocrinology* 156 (2): 437-43. <https://doi.org/10.1210/en.2014-1706>.

Casiglia, E., D. d'Este, G. Ginocchio, G. Colangeli, C. Onesto, P. Tramontin, G. B. Ambrosio, et A. C. Pessina. 1996. « Lack of Influence of Menopause on Blood Pressure and Cardiovascular Risk Profile: A 16-Year Longitudinal Study Concerning a Cohort of 568 Women ». *Journal of Hypertension* 14 (6): 729-36.

Castillo, Carlos, Guillermo Ceballos, Daniel Rodríguez, Cleva Villanueva, Roberto Medina, Jorge López, Enrique Méndez, et Enrique F. Castillo. 2006. « Effects of Estradiol on Phenylephrine Contractility Associated with Intracellular Calcium Release in Rat Aorta ». *American Journal of Physiology - Cell Physiology* 291 (6): C1388-94. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00556.2005>.

Ceylan-Isik, Asli F., Ozlem B. Erdogan-Tulmac, Nuray Ari, Gulgun Ozansoy, et Jun Ren. 2009. « Effect of 17beta-Oestradiol Replacement on Vascular Responsiveness in Ovariectomized Diabetic Rats ». *Clinical and Experimental Pharmacology & Physiology* 36 (11): e65-71. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1681.2009.05255.x>.

Chambliss, Ken L., et Philip W. Shaul. 2002. « Estrogen Modulation of Endothelial Nitric

Oxide Synthase ». *Endocrine Reviews* 23 (5): 665-86. <https://doi.org/10.1210/er.2001-0045>.

Chambliss, Ken L., Ivan S. Yuhanna, Richard G. W. Anderson, Michael E. Mendelsohn, et Philip W. Shaul. 2002. « ERbeta Has Nongenomic Action in Caveolae ». *Molecular Endocrinology (Baltimore, Md.)* 16 (5): 938-46. <https://doi.org/10.1210/mend.16.5.0827>.

Chandel, N. S., D. S. McClintock, C. E. Feliciano, T. M. Wood, J. A. Melendez, A. M. Rodriguez, et P. T. Schumacker. 2000. « Reactive Oxygen Species Generated at Mitochondrial Complex III Stabilize Hypoxia-Inducible Factor-1alpha during Hypoxia: A Mechanism of O2 Sensing ». *The Journal of Biological Chemistry* 275 (33): 25130-38. <https://doi.org/10.1074/jbc.M001914200>.

Chang, Sheng-Huang, Chieh-Hsin Chang, Mu-Chun Yang, Wen-Tung Hsu, Chia-Ying Hsieh, Ya-Ting Hung, Wan-Ling Su, Juan-Jen Shiu, Chih-Yang Huang, et Jer-Yuh Liu. 2015. « Effects of estrogen on glutathione and catalase levels in human erythrocyte during menstrual cycle ». *Biomedical Reports* 3 (2): 266-68. <https://doi.org/10.3892/br.2014.412>.

Chaouat, A., E. Weitzenblum, J. Krieger, M. Oswald, et R. Kessler. 1996. « Pulmonary Hemodynamics in the Obstructive Sleep Apnea Syndrome. Results in 220 Consecutive Patients ». *Chest* 109 (2): 380-86.

Chen, Jin-Qiang, Patrick R. Cammarata, Christopher P. Baines, et James D. Yager. 2009. « Regulation of Mitochondrial Respiratory Chain Biogenesis by Estrogens/Estrogen Receptors and Physiological, Pathological and Pharmacological Implications ». *Biochimica Et Biophysica Acta* 1793 (10): 1540-70. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2009.06.001>.

Chen, Ling, Elliot Einbinder, Qi Zhang, Jeffrey Hasday, C. William Balke, et Steven M. Scharf. 2005. « Oxidative Stress and Left Ventricular Function with Chronic Intermittent Hypoxia in Rats ». *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 172 (7): 915-20. <https://doi.org/10.1164/rccm.200504-560OC>.

Chen, Lingling, Qiu-Hong Guo, Yue Chang, Ya-Shuo Zhao, Ai-Ying Li, et En-Sheng Ji. 2017. « Tanshinone IIA ameliorated endothelial dysfunction in rats with chronic intermittent hypoxia ». *Cardiovascular Pathology* 31 (Supplement C): 47-53. <https://doi.org/10.1016/j.carpath.2017.06.008>.

Chen, Qun, Edwin J. Vazquez, Shadi Moghaddas, Charles L. Hoppel, et Edward J. Lesnefsky. 2003. « Production of Reactive Oxygen Species by Mitochondria: Central Role of Complex III ». *The Journal of Biological Chemistry* 278 (38): 36027-31. <https://doi.org/10.1074/jbc.M304854200>.

Chen Y., et al. 2011. « Evaluation of Gender-Related Differences in Various Oxidative Stress Enzymes in Mice. - PubMed - NCBI ». 2011. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/acc/bib/ulaval.ca/pubmed/?term=Evaluation+of+gender%E2%80%90related+differences+in+various+oxidative+stress+enzymes+in+mice>.

Chen, Z., I. S. Yuhanna, Z. Galcheva-Gargova, R. H. Karas, M. E. Mendelsohn, et P. W. Shaul. 1999. « Estrogen Receptor Alpha Mediates the Nongenomic Activation of Endothelial Nitric Oxide Synthase by Estrogen ». *The Journal of Clinical Investigation* 103 (3): 401-6. <https://doi.org/10.1172/JCI5347>.

Chobanian, Aram V., George L. Bakris, Henry R. Black, William C.ushman, Lee A. Green, Joseph L. Izzo, Daniel W. Jones, et al. 2003. « The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: The JNC 7 Report ». *JAMA* 289 (19): 2560-72. <https://doi.org/10.1001/jama.289.19.2560>.

Cistulli, P. A., D. J. Barnes, R. R. Grunstein, et C. E. Sullivan. 1994. « Effect of Short-Term Hormone Replacement in the Treatment of Obstructive Sleep Apnoea in Postmenopausal Women ». *Thorax* 49 (7): 699-702.

Cohen, Debbie L., et Raymond R. Townsend. 2013. « Obstructive Sleep Apnea and Hypertension ». *Journal of Clinical Hypertension (Greenwich, Conn.)* 15 (10): 703. <https://doi.org/10.1111/jch.12170>.

Collins, P., G. M. Rosano, P. M. Sarrel, L. Ulrich, S. Adamopoulos, C. M. Beale, J. G. McNeill, et P. A. Poole-Wilson. 1995. « 17 Beta-Estradiol Attenuates Acetylcholine-Induced Coronary Arterial Constriction in Women but Not Men with Coronary Heart Disease ». *Circulation* 92 (1): 24-30.

Comhair, Suzy A. A., et Serpil C. Erzurum. 2005. « The Regulation and Role of Extracellular Glutathione Peroxidase ». *Antioxidants & Redox Signaling* 7 (1-2): 72-79. <https://doi.org/10.1089/ars.2005.7.72>.

Cortese, Rene, Alex Gileles-Hillel, Abdelnaby Khalyfa, Isaac Almendros, Mahzad Akbarpour, Ahamed A. Khalyfa, Zhuanghong Qiao, Tzintzuni Garcia, Jorge Andrade, et David Gozal. 2017. « Aorta Macrophage Inflammatory and Epigenetic Changes in a Murine Model of Obstructive Sleep Apnea: Potential Role of CD36 ». *Scientific Reports* 7: 43648. <https://doi.org/10.1038/srep43648>.

Cruz, Maria Natalia, Gillian Douglas, Jan-Å Gustafsson, Lucilla Poston, et Karolina Kublickiene. 2006. « Dilatory responses to estrogenic compounds in small femoral arteries of male and female estrogen receptor- β knockout mice ». *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* 290 (2): H823-29. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00815.2005>.

Dahlman-Wright, Karin, Vincent Cavailles, Suzanne A. Fuqua, V. Craig Jordan, John A. Katzenellenbogen, Kenneth S. Korach, Adriana Maggi, Masami Muramatsu, Malcolm G. Parker, et Jan-Ake Gustafsson. 2006. « International Union of Pharmacology. LXIV. Estrogen Receptors ». *Pharmacological Reviews* 58 (4): 773-81. <https://doi.org/10.1124/pr.58.4.8>.

Dalal, Pronob K., et Manu Agarwal. 2015. « Postmenopausal Syndrome ». *Indian Journal of*

Psychiatry 57 (Suppl 2): S222-232. <https://doi.org/10.4103/0019-5545.161483>.

Dale, E. A., F. Ben Mabrouk, et G. S. Mitchell. 2014. « Unexpected Benefits of Intermittent Hypoxia: Enhanced Respiratory and Nonrespiratory Motor Function ». *Physiology (Bethesda, Md.)* 29 (1): 39-48. <https://doi.org/10.1152/physiol.00012.2013>.

Darblade, B., C. Pendaries, A. Krust, S. Dupont, M.-J. Fouque, J. Rami, P. Chambon, F. Bayard, et J.-F. Arnal. 2002. « Estradiol Alters Nitric Oxide Production in the Mouse Aorta through the Alpha-, but Not Beta-, Estrogen Receptor ». *Circulation Research* 90 (4): 413-19.

Davenport, Anthony P. 2002. « International Union of Pharmacology. XXIX. Update on Endothelin Receptor Nomenclature ». *Pharmacological Reviews* 54 (2): 219-26.

Davies, K. J. 2000. « Oxidative Stress, Antioxidant Defenses, and Damage Removal, Repair, and Replacement Systems ». *IUBMB Life* 50 (4-5): 279-89. <https://doi.org/10.1080/713803728>.

Day, Brian J. 2009. « Catalase and glutathione peroxidase mimics ». *Biochemical pharmacology* 77 (3): 285-96. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2008.09.029>.

Deisseroth, A., et A. L. Dounce. 1970. « Catalase: Physical and Chemical Properties, Mechanism of Catalysis, and Physiological Role ». *Physiological Reviews* 50 (3): 319-75. <https://doi.org/10.1152/physrev.1970.50.3.319>.

Del Rio, R., E. A. Moya, et R. Iturriaga. 2010. « Carotid Body and Cardiorespiratory Alterations in Intermittent Hypoxia: The Oxidative Link ». *The European Respiratory Journal* 36 (1): 143-50. <https://doi.org/10.1183/09031936.00158109>.

Dematteis, Maurice, Cécile Julien, Christiane Guillermet, Nathalie Sturm, Sylvie Lantuejoul, Michel Mallaret, Patrick Lévy, et Evelyne Gozal. 2008. « Intermittent Hypoxia Induces Early Functional Cardiovascular Remodeling in Mice ». *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 177 (2): 227-35. <https://doi.org/10.1164/rccm.200702-238OC>.

Dennerstein, L., E. C. Dudley, J. L. Hopper, J. R. Guthrie, et H. G. Burger. 2000. « A Prospective Population-Based Study of Menopausal Symptoms ». *Obstetrics and Gynecology* 96 (3): 351-58.

Dikalova, Anna E., Alfiya T. Bikineyeva, Klaudia Budzyn, Rafal R. Nazarewicz, Louise McCann, William Lewis, David G. Harrison, et Sergey I. Dikalov. 2010. « Therapeutic Targeting of Mitochondrial Superoxide in Hypertension ». *Circulation Research* 107 (1): 106-16. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.109.214601>.

Ding, L., Z. Liu, Z. Zhu, G. Luo, D. Zhao, et J. Ni. 1998. « Biochemical Characterization of Selenium-Containing Catalytic Antibody as a Cytosolic Glutathione Peroxidase Mimic ».

The Biochemical Journal 332 (Pt 1) (mai): 251-55.

Dopp, John M., Nathan R. Philippi, Noah J. Marcus, E. Burt Olson, Cynthia E. Bird, John J. M. Moran, Scott W. Mueller, et Barbara J. Morgan. 2011. « Xanthine Oxidase Inhibition Attenuates Endothelial Dysfunction Caused by Chronic Intermittent Hypoxia in Rats ». *Respiration; International Review of Thoracic Diseases* 82 (5): 458-67. <https://doi.org/10.1159/000329341>.

Drachman, D. B., et R. J. Gummit. 1962. « Periodic Alteration of Consciousness in the “Pickwickian” Syndrome ». *Archives of Neurology* 6 (juin): 471-77.

Drexler, H. 1998. « Factors Involved in the Maintenance of Endothelial Function ». *The American Journal of Cardiology* 82 (10A): 3S-4S.

Dubey, R. K., E. K. Jackson, P. J. Keller, B. Imthurn, et M. Rosselli. 2001. « Estradiol Metabolites Inhibit Endothelin Synthesis by an Estrogen Receptor-Independent Mechanism ». *Hypertension (Dallas, Tex.: 1979)* 37 (2 Pt 2): 640-44.

Duckles, Sue Piper, Diana N. Krause, Christopher Stirone, et Vincent Procaccio. 2006. « Estrogen and Mitochondria: A New Paradigm for Vascular Protection? » *Molecular Interventions* 6 (1): 26-35. <https://doi.org/10.1124/mi.6.1.6>.

Duerschmidt, N., N. Wippich, W. Goetsch, H. J. Broemme, et H. Morawietz. 2000. « Endothelin-1 Induces NAD(P)H Oxidase in Human Endothelial Cells ». *Biochemical and Biophysical Research Communications* 269 (3): 713-17. <https://doi.org/10.1006/bbrc.2000.2354>.

Earley, Scott, et Thomas C. Resta. 2002. « Estradiol Attenuates Hypoxia-Induced Pulmonary Endothelin-1 Gene Expression ». *American Journal of Physiology. Lung Cellular and Molecular Physiology* 283 (1): L86-93. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00476.2001>.

El Solh, A. A., R. Saliba, T. Bosinski, B. J. B. Grant, E. Berbary, et N. Miller. 2006. « Allopurinol Improves Endothelial Function in Sleep Apnoea: A Randomised Controlled Study ». *The European Respiratory Journal* 27 (5): 997-1002. <https://doi.org/10.1183/09031936.06.00101005>.

Elijovich, F., C. L. Laffer, E. Amador, H. Gavras, M. R. Bresnahan, et E. L. Schiffrin. 2001. « Regulation of Plasma Endothelin by Salt in Salt-Sensitive Hypertension ». *Circulation* 103 (2): 263-68.

Escourrou, P., N. Meslier, B. Raffestin, R. Clavel, J. Gomes, E. Hazouard, J. Paquereau, I. Simon, et E. Orvoen Frija. 2010. « [Which clinical approach and which diagnostic procedures for obstructive sleep apnea syndrome?] ». *Revue Des Maladies Respiratoires* 27 Suppl 3 (octobre): S115-123. [https://doi.org/10.1016/S0761-8425\(10\)70017-6](https://doi.org/10.1016/S0761-8425(10)70017-6).

Esunge, P. M. 1991. « From Blood Pressure to Hypertension: The History of Research ». *Journal of the Royal Society of Medicine* 84 (10): 621.

Evans, P., et B. Halliwell. 1999. « Free Radicals and Hearing. Cause, Consequence, and Criteria ». *Annals of the New York Academy of Sciences* 884 (novembre): 19-40.

Favre, Julie, Ji Gao, Jean-Paul Henry, Isabelle Remy-Jouet, Isabelle Fourquaux, Audrey Billon-Gales, Christian Thuillez, Jean-François Arnal, Françoise Lenfant, et Vincent Richard. 2010. « Endothelial Estrogen Receptor {alpha} Plays an Essential Role in the Coronary and Myocardial Protective Effects of Estradiol in Ischemia/Reperfusion ». *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 30 (12): 2562-67. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.110.213637>.

Feng, Minjie, Steven Whitesall, Yunyu Zhang, Martin Beibel, Louis D'Alecy, et Keith DiPetrillo. 2008. « Validation of Volume-Pressure Recording Tail-Cuff Blood Pressure Measurements ». *American Journal of Hypertension* 21 (12): 1288-91. <https://doi.org/10.1038/ajh.2008.301>.

Flemons, W. Ward, Michael R. Littner, James A. Rowley, Peter Gay, W. McDowell Anderson, David W. Hudgel, R. Douglas McEvoy, et Daniel I. Loube. 2003. « Home Diagnosis of Sleep Apnea: A Systematic Review of the Literature. An Evidence Review Cosponsored by the American Academy of Sleep Medicine, the American College of Chest Physicians, and the American Thoracic Society ». *Chest* 124 (4): 1543-79.

Fletcher, E. C. 2001. « Invited Review: Physiological Consequences of Intermittent Hypoxia: Systemic Blood Pressure ». *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)* 90 (4): 1600-1605.

Fletcher, E. C., G. Bao, et R. Li. 1999. « Renin Activity and Blood Pressure in Response to Chronic Episodic Hypoxia ». *Hypertension (Dallas, Tex.: 1979)* 34 (2): 309-14.

Fletcher, E. C., J. Lesske, R. Behm, C. C. Miller, H. Stauss, et T. Unger. 1992a. « Carotid Chemoreceptors, Systemic Blood Pressure, and Chronic Episodic Hypoxia Mimicking Sleep Apnea ». *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)* 72 (5): 1978-84.

———. 1992b. « Carotid Chemoreceptors, Systemic Blood Pressure, and Chronic Episodic Hypoxia Mimicking Sleep Apnea ». *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)* 72 (5): 1978-84. <https://doi.org/10.1152/jappl.1992.72.5.1978>.

Fletcher, E. C., J. Lesske, J. Culman, C. C. Miller, et T. Unger. 1992. « Sympathetic Denervation Blocks Blood Pressure Elevation in Episodic Hypoxia ». *Hypertension (Dallas, Tex.: 1979)* 20 (5): 612-19.

Fletcher, Eugene C. 2003. « Sympathetic over Activity in the Etiology of Hypertension of Obstructive Sleep Apnea ». *Sleep* 26 (1): 15-19.

Florian, Maria, Anatoli Freiman, et Sheldon Magder. 2004. « Treatment with 17-Beta-Estradiol Reduces Superoxide Production in Aorta of Ovariectomized Rats ». *Steroids* 69 (13-14): 779-87. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2004.09.008>.

Foster, Glen E., Julien V. Brugniaux, Vincent Pialoux, Cailean TC Duggan, Patrick J. Hanly, Sofia B. Ahmed, et Marc J. Poulin. 2009. « Cardiovascular and cerebrovascular responses to acute hypoxia following exposure to intermittent hypoxia in healthy humans ». *The Journal of physiology* 587 (13): 3287-3299.

Foster, Glen E., Patrick J. Hanly, Sofia B. Ahmed, Andrew E. Beaudin, Vincent Pialoux, et Marc J. Poulin. 2010. « Intermittent Hypoxia Increases Arterial Blood Pressure in Humans through a Renin-Angiotensin System-Dependent Mechanism ». *Hypertension (Dallas, Tex.: 1979)* 56 (3): 369-77. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.110.152108>.

Foster, Glen E., Marc J. Poulin, et Patrick J. Hanly. 2007. « Intermittent Hypoxia and Vascular Function: Implications for Obstructive Sleep Apnoea ». *Experimental Physiology* 92 (1): 51-65. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.2006.035204>.

Franklin, Karl A., et Eva Lindberg. 2015. « Obstructive Sleep Apnea Is a Common Disorder in the Population—a Review on the Epidemiology of Sleep Apnea ». *Journal of Thoracic Disease* 7 (8): 1311-22. <https://doi.org/10.3978/j.issn.2072-1439.2015.06.11>.

Friedman, J. K., C. H. Nitta, K. M. Henderson, S. J. Codianni, L. Sanchez, J. M. Ramiro-Diaz, T. A. Howard, W. Giermakowska, N. L. Kanagy, et L. V. Gonzalez Bosc. 2014. « Intermittent Hypoxia-Induced Increases in Reactive Oxygen Species Activate NFATc3 Increasing Endothelin-1 Vasoconstrictor Reactivity ». *Vascular Pharmacology* 60 (1): 17-24. <https://doi.org/10.1016/j.vph.2013.11.001>.

Fritscher, Leandro Genehr, Cláudio Cora Mottin, Simone Canani, et José Miguel Chatkin. 2007. « Obesity and Obstructive Sleep Apnea-Hypopnea Syndrome: The Impact of Bariatric Surgery ». *Obesity Surgery* 17 (1): 95-99. <https://doi.org/10.1007/s11695-007-9012-7>.

Fuady, Jerry H., Katrin Gutsche, Sara Santambrogio, Zsuzsanna Varga, David Hoogewijs, et Roland H. Wenger. 2016. « Estrogen-Dependent Downregulation of Hypoxia-Inducible Factor (HIF)-2 α in Invasive Breast Cancer Cells ». *Oncotarget* 7 (21): 31153. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.8866>.

Fukui, T., N. Ishizaka, S. Rajagopalan, J. B. Laursen, Q. Capers, W. R. Taylor, D. G. Harrison, H. de Leon, J. N. Wilcox, et K. K. Griendling. 1997. « P22phox mRNA Expression and NADPH Oxidase Activity Are Increased in Aortas from Hypertensive Rats ». *Circulation Research* 80 (1): 45-51.

Furchgott, R. F., et J. V. Zawadzki. 1980. « The Obligatory Role of Endothelial Cells in the Relaxation of Arterial Smooth Muscle by Acetylcholine ». *Nature* 288 (5789): 373-76.

Gagnadoux, Frédéric, Marc Le Vaillant, François Goupil, Thierry Pigeanne, Sylvaine Chollet, Philippe Masson, Marie-Pierre Humeau, Acya Bizieux-Thaminy, Nicole Meslier, et the IRSR sleep cohort Group. 2011. « Influence of Marital Status and Employment Status on Long-Term Adherence with Continuous Positive Airway Pressure in Sleep Apnea Patients ». *PLoS ONE* 6 (8). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0022503>.

Galvan, Thania, Julia Camuso, Kathryn Sullivan, Semmie Kim, David White, Susan Redline, et Hadine Joffe. 2017. « Association of Estradiol with Sleep Apnea in Depressed Perimenopausal and Postmenopausal Women: A Preliminary Study ». *Menopause (New York, N.Y.)* 24 (1): 112-17. <https://doi.org/10.1097/GME.0000000000000737>.

Gastaut, H., C. A. Tassinari, et B. Duron. 1965. « [Polygraphic study of diurnal and nocturnal (hypnic and respiratory) episodal manifestations of Pickwick syndrome] ». *Revue Neurologique* 112 (6): 568-79.

Gerdt, Eva, Dana Cramariuc, Giovanni de Simone, Kristian Wachtell, Björn Dahlöf, et Richard B. Devereux. 2008. « Impact of Left Ventricular Geometry on Prognosis in Hypertensive Patients with Left Ventricular Hypertrophy (the LIFE Study) ». *European Journal of Echocardiography: The Journal of the Working Group on Echocardiography of the European Society of Cardiology* 9 (6): 809-15. <https://doi.org/10.1093/ejechocard/jen155>.

Gibbons, Gary H., et Victor J. Dzau. 1994. « The Emerging Concept of Vascular Remodeling ». *New England Journal of Medicine* 330 (20): 1431-38. <https://doi.org/10.1056/NEJM199405193302008>.

Gillis, Ellen E., et Jennifer C. Sullivan. 2016. « Sex Differences in Hypertension: Recent Advances ». *Hypertension (Dallas, Tex.: 1979)* 68 (6): 1322-27. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.116.06602>.

Gilman S. et al.,. s. d. « Obstructive Sleep Apnea Is Related to a Thalamic Cholinergic Deficit in MSA. - PubMed - NCBI ». Consulté le 20 février 2019. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/acces.bibl.ulaval.ca/pubmed/?term=Obstructive+sleep+apnea+is+related+to+a+thalamic+cholinergic+deficit+in+MSA>.

Go, Alan S., Dariush Mozaffarian, Véronique L. Roger, Emelia J. Benjamin, Jarett D. Berry, William B. Borden, Dawn M. Bravata, et al. 2013. « Heart Disease and Stroke Statistics--2013 Update: A Report from the American Heart Association ». *Circulation* 127 (1): e6-245. <https://doi.org/10.1161/CIR.0b013e31828124ad>.

Gonzales, Rayna J., Benjimen R. Walker, et Nancy L. Kanagy. 2001. « 17 β -Estradiol Increases Nitric Oxide-Dependent Dilation in Rat Pulmonary Arteries and Thoracic Aorta ». *American Journal of Physiology - Lung Cellular and Molecular Physiology* 280 (3): L555-64.

Göttlicher, M., S. Heck, et P. Herrlich. 1998. « Transcriptional Cross-Talk, the Second Mode

of Steroid Hormone Receptor Action ». *Journal of Molecular Medicine (Berlin, Germany)* 76 (7): 480-89.

Grady, D., S. M. Rubin, D. B. Petitti, C. S. Fox, D. Black, B. Ettinger, V. L. Ernster, et S. R. Cummings. 1992. « Hormone Therapy to Prevent Disease and Prolong Life in Postmenopausal Women ». *Annals of Internal Medicine* 117 (12): 1016-37.

Gras, Emmanuelle, Elise Belaidi, Anne Briançon-Marjollet, Jean-Louis Pépin, Claire Arnaud, et Diane Godin-Ribuot. 2016. « Endothelin-1 Mediates Intermittent Hypoxia-Induced Inflammatory Vascular Remodeling through HIF-1 Activation ». *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)* 120 (4): 437-43. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00641.2015>.

Gravholt, C. H., R. W. Naeraa, B. Nyholm, L. U. Gerdes, E. Christiansen, O. Schmitz, et J. S. Christiansen. 1998. « Glucose Metabolism, Lipid Metabolism, and Cardiovascular Risk Factors in Adult Turner's Syndrome. The Impact of Sex Hormone Replacement ». *Diabetes Care* 21 (7): 1062-70.

Grebe, Mathias, Hans Joachim Eisele, Norbert Weissmann, Christian Schaefer, Harald Tillmanns, Werner Seeger, et Richard Schulz. 2006. « Antioxidant Vitamin C Improves Endothelial Function in Obstructive Sleep Apnea ». *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 173 (8): 897-901. <https://doi.org/10.1164/rccm.200508-1223OC>.

Grimpen, F., P. Kanne, E. Schulz, G. Hagenah, G. Hasenfuss, et S. Andreas. 2000. « Endothelin-1 Plasma Levels Are Not Elevated in Patients with Obstructive Sleep Apnoea ». *The European Respiratory Journal* 15 (2): 320-25.

Grodin, J. M., P. K. Siiteri, et P. C. MacDonald. 1973. « Source of Estrogen Production in Postmenopausal Women ». *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 36 (2): 207-14. <https://doi.org/10.1210/jcem-36-2-207>.

Grodstein, F., M. J. Stampfer, G. A. Colditz, W. C. Willett, J. E. Manson, M. Joffe, B. Rosner, et al. 1997. « Postmenopausal Hormone Therapy and Mortality ». *The New England Journal of Medicine* 336 (25): 1769-75. <https://doi.org/10.1056/NEJM199706193362501>.

« Guidelines for Counseling Postmenopausal Women about Preventive Hormone Therapy. American College of Physicians ». 1992. *Annals of Internal Medicine* 117 (12): 1038-41.

Guilleminault, C., F. L. Eldridge, et W. C. Dement. 1974. « Human Pathology--Sleep-Induced Apneas and Cardio-Vascular Changes ». *Bulletin De Physio-Pathologie Respiratoire* 10 (2): 244-47.

Guilleminault, C., A. Tilkian, et W. C. Dement. 1976. « The Sleep Apnea Syndromes ». *Annual Review of Medicine* 27: 465-84. <https://doi.org/10.1146/annurev.me.27.020176.002341>.

Guo, Qiu-Hong, Yi-Long Tian, Zhuo Wang, Ai-Ying Li, Zhi-Hong Ma, Ya-Jing Guo, J. Woodrow Weiss, En-Sheng Ji, et Li Chu. 2013. « Endothelin Receptors in Augmented Vasoconstrictor Responses to Endothelin-1 in Chronic Intermittent Hypoxia ». *Clinical and Experimental Pharmacology & Physiology* 40 (7): 449-57. <https://doi.org/10.1111/1440-1681.12109>.

Hackney, J. D., M. G. Crane, C. C. Collier, S. Rokaw, et D. E. Griggs. 1959. « Syndrome of Extreme Obesity and Hypoventilation: Studies of Etiology ». *Annals of Internal Medicine* 51 (septembre): 541-52.

Hajjar, Ihab, et Theodore A. Kotchen. 2003. « Trends in Prevalence, Awareness, Treatment, and Control of Hypertension in the United States, 1988-2000 ». *JAMA* 290 (2): 199-206. <https://doi.org/10.1001/jama.290.2.199>.

Haleng, Jeanine, Joël Pincemail, Jean-Olivier Defraigne, Corinne Charlier, et Jean-Paul Chapelle. 2007. « Le stress oxydant ». *Revue Médicale de Liège* 62 (10). <https://orbi.uliege.be/handle/2268/8914>.

Halliwell, B. 1994. « Free Radicals, Antioxidants, and Human Disease: Curiosity, Cause, or Consequence? » *Lancet (London, England)* 344 (8924): 721-24.

Halliwell, Barry. 2006. « Reactive Species and Antioxidants. Redox Biology Is a Fundamental Theme of Aerobic Life ». *Plant Physiology* 141 (2): 312-22. <https://doi.org/10.1104/pp.106.077073>.

Handy, Diane E., Edith Lubos, Yi Yang, John D. Galbraith, Neil Kelly, Ying-Yi Zhang, Jane A. Leopold, et Joseph Loscalzo. 2009. « Glutathione Peroxidase-1 Regulates Mitochondrial Function to Modulate Redox-Dependent Cellular Responses ». *The Journal of Biological Chemistry* 284 (18): 11913-21. <https://doi.org/10.1074/jbc.M900392200>.

Harrington, William R., Shubin Sheng, Daniel H. Barnett, Larry N. Petz, John A. Katzenellenbogen, et Benita S. Katzenellenbogen. 2003. « Activities of Estrogen Receptor Alpha- and Beta-Selective Ligands at Diverse Estrogen Responsive Gene Sites Mediating Transactivation or Transrepression ». *Molecular and Cellular Endocrinology* 206 (1-2): 13-22.

Hasbi, Ahmed, Brian F. O'Dowd, et Susan R. George. 2005. « A G Protein-Coupled Receptor for Estrogen: The End of the Search? » *Molecular Interventions* 5 (3): 158-61. <https://doi.org/10.1124/mi.5.3.5>.

Hayashi, Tetsuya, Chika Yamashita, Chika Matsumoto, Chol-Jun Kwak, Kiwako Fujii, Tomoko Hirata, Masatoshi Miyamura, et al. 2008. « Role of Gp91phox-Containing NADPH Oxidase in Left Ventricular Remodeling Induced by Intermittent Hypoxic Stress ». *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology* 294 (5): H2197-2203. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.91496.2007>.

Heinzer, R., S. Vat, P. Marques-Vidal, H. Marti-Soler, D. Andries, N. Tobback, V. Mooser, et al. 2015. « Prevalence of Sleep-Disordered Breathing in the General Population: The HypnoLaus Study ». *The Lancet. Respiratory Medicine* 3 (4): 310-18. [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(15\)00043-0](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(15)00043-0).

Hernández, I., J. L. Delgado, J. Díaz, T. Quesada, M. J. Teruel, M. C. Llanos, et L. F. Carbonell. 2000. « 17beta-Estradiol Prevents Oxidative Stress and Decreases Blood Pressure in Ovariectomized Rats ». *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 279 (5): R1599-1605. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.2000.279.5.R1599>.

Hinojosa-Laborde, C., D. L. Lange, et J. R. Haywood. 2000. « Role of Female Sex Hormones in the Development and Reversal of Dahl Hypertension ». *Hypertension (Dallas, Tex.: 1979)* 35 (1 Pt 2): 484-89.

Hinojosa-Laborde, Carmen, et Steven W. Mifflin. 2005. « Sex Differences in Blood Pressure Response to Intermittent Hypoxia in Rats ». *Hypertension* 46 (4): 1016-21. <https://doi.org/10.1161/01.HYP.0000175477.33816.f3>.

Hirakawa, H., T. Nakamura, et Y. Hayashida. 1997. « Effect of Carbon Dioxide on Autonomic Cardiovascular Responses to Systemic Hypoxia in Conscious Rats ». *The American Journal of Physiology* 273 (2 Pt 2): R747-754. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.1997.273.2.R747>.

Hirata, Yasunobu, Daisuke Nagata, Etsu Suzuki, Hiroaki Nishimatsu, Jun-Ichi Suzuki, et Ryoza Nagai. 2010. « Diagnosis and Treatment of Endothelial Dysfunction in Cardiovascular Disease ». *International Heart Journal* 51 (1): 1-6.

Hulley, S., D. Grady, T. Bush, C. Furberg, D. Herrington, B. Riggs, et E. Vittinghoff. 1998. « Randomized Trial of Estrogen plus Progestin for Secondary Prevention of Coronary Heart Disease in Postmenopausal Women. Heart and Estrogen/Progestin Replacement Study (HERS) Research Group ». *JAMA* 280 (7): 605-13.

Hung, Ming-Wai, Gennadi M. Kravtsov, Chi-Fai Lau, Angela Ming-See Poon, George L. Tipoe, et Man-Lung Fung. 2013. « Melatonin Ameliorates Endothelial Dysfunction, Vascular Inflammation, and Systemic Hypertension in Rats with Chronic Intermittent Hypoxia ». *Journal of Pineal Research* 55 (3): 247-56. <https://doi.org/10.1111/jpi.12067>.

« Hypertension Control. Report of a WHO Expert Committee ». 1996. *World Health Organization Technical Report Series* 862: 1-83.

Iftikhar, Imran H., Camilla M. Hoyos, Craig L. Phillips, et Ulysses J. Magalang. 2015. « Meta-Analyses of the Association of Sleep Apnea with Insulin Resistance, and the Effects of CPAP on HOMA-IR, Adiponectin, and Visceral Adipose Fat ». *Journal of Clinical Sleep Medicine: JCSM: Official Publication of the American Academy of Sleep Medicine* 11 (4):

475-85. <https://doi.org/10.5664/jcsm.4610>.

Iftikhar, Imran H., Christopher W. Valentine, Lia R. A. Bittencourt, Debbie L. Cohen, Annette C. Fedson, Thorarinn Gíslason, Thomas Penzel, et al. 2014. « Effects of Continuous Positive Airway Pressure on Blood Pressure in Patients with Resistant Hypertension and Obstructive Sleep Apnea: A Meta-Analysis ». *Journal of Hypertension* 32 (12): 2341-50; discussion 2350. <https://doi.org/10.1097/HJH.0000000000000372>.

Ip, M. S., B. Lam, L. Y. Chan, L. Zheng, K. W. Tsang, P. C. Fung, et W. K. Lam. 2000. « Circulating Nitric Oxide Is Suppressed in Obstructive Sleep Apnea and Is Reversed by Nasal Continuous Positive Airway Pressure ». *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 162 (6): 2166-71. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.162.6.2002126>.

Isles, C. G., D. J. Hole, V. M. Hawthorne, et A. F. Lever. 1992. « Relation between Coronary Risk and Coronary Mortality in Women of the Renfrew and Paisley Survey: Comparison with Men ». *Lancet (London, England)* 339 (8795): 702-6.

Ismail, Khalid, Kari Roberts, Patrick Manning, Christopher Manley, et Nicholas S. Hill. 2015. « OSA and Pulmonary Hypertension: Time for a New Look ». *CHEST* 147 (3): 847-61. <https://doi.org/10.1378/chest.14-0614>.

Iturriaga, Rodrigo, et Julio Alcayaga. 2004. « Neurotransmission in the Carotid Body: Transmitters and Modulators between Glomus Cells and Petrosal Ganglion Nerve Terminals ». *Brain Research. Brain Research Reviews* 47 (1-3): 46-53. <https://doi.org/10.1016/j.brainresrev.2004.05.007>.

Iturriaga, Rodrigo, Esteban A. Moya, et Rodrigo Del Rio. 2009. « Carotid Body Potentiation Induced by Intermittent Hypoxia: Implications for Cardiorespiratory Changes Induced by Sleep Apnoea ». *Clinical and Experimental Pharmacology & Physiology* 36 (12): 1197-1204. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1681.2009.05213.x>.

Janero, D. R. 1990. « Malondialdehyde and Thiobarbituric Acid-Reactivity as Diagnostic Indices of Lipid Peroxidation and Peroxidative Tissue Injury ». *Free Radical Biology & Medicine* 9 (6): 515-40.

Jelic, Sanja, Margherita Padeletti, Steven M. Kawut, Christopher Higgins, Stephen M. Canfield, Duygu Onat, Paolo C. Colombo, Robert C. Basner, Phillip Factor, et Thierry H. LeJemtel. 2008. « Inflammation, Oxidative Stress, and Repair Capacity of the Vascular Endothelium in Obstructive Sleep Apnea ». *Circulation* 117 (17): 2270-78. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.107.741512>.

Joannides, R., W. E. Haefeli, L. Linder, V. Richard, E. H. Bakkali, C. Thuillez, et T. F. Lüscher. 1995. « Nitric Oxide Is Responsible for Flow-Dependent Dilatation of Human Peripheral Conduit Arteries in Vivo ». *Circulation* 91 (5): 1314-19.

Joffres, M R, P Hamet, S W Rabkin, D Gelskey, K Hogan, et G Fodor. 1992. « Prevalence, control and awareness of high blood pressure among Canadian adults. Canadian Heart Health Surveys Research Group. » *CMAJ: Canadian Medical Association Journal* 146 (11): 1997-2005.

Johansson, L. H., et L. A. Borg. 1988. « A Spectrophotometric Method for Determination of Catalase Activity in Small Tissue Samples ». *Analytical Biochemistry* 174 (1): 331-36. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(88\)90554-4](https://doi.org/10.1016/0003-2697(88)90554-4).

Jordan, Wolfgang, Alexander Reinbacher, Stefan Cohrs, Rolf W. Grunewald, Geert Mayer, Eckart R  ther, et Andrea Rodenbeck. 2005. « Obstructive Sleep Apnea: Plasma Endothelin-1 Precursor but Not Endothelin-1 Levels Are Elevated and Decline with Nasal Continuous Positive Airway Pressure ». *Peptides* 26 (9): 1654-60. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2005.02.012>.

Juan, Shu-Hui, Jin-Jer Chen, Cheng-Hsien Chen, Heng Lin, Ching-Feng Cheng, Ju-Chi Liu, Ming-Hsiung Hsieh, et al. 2004. « 17beta-Estradiol Inhibits Cyclic Strain-Induced Endothelin-1 Gene Expression within Vascular Endothelial Cells ». *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology* 287 (3): H1254-1261. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00723.2003>.

Jun, Jonathan, Vladimir Savransky, Ashika Nanayakkara, Shannon Bevans, Jianguo Li, Philip L. Smith, et Vsevolod Y. Polotsky. 2008. « Intermittent hypoxia has organ-specific effects on oxidative stress ». *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 295 (4): R1274-81. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.90346.2008>.

Kaehler, Jan, Bjoern Sill, Ralf Koester, Clemens Mittmann, Hans-Dieter Orzechowski, Thomas Muenzel, et Thomas Meinertz. 2002. « Endothelin-1 mRNA and Protein in Vascular Wall Cells Is Increased by Reactive Oxygen Species ». *Clinical Science (London, England: 1979)* 103 Suppl 48 (ao  t): 176S-178S. <https://doi.org/10.1042/CS103S176S>.

Kahlert, S., S. Nuedling, M. van Eickels, H. Vetter, R. Meyer, et C. Grohe. 2000. « Estrogen Receptor Alpha Rapidly Activates the IGF-1 Receptor Pathway ». *The Journal of Biological Chemistry* 275 (24): 18447-53. <https://doi.org/10.1074/jbc.M910345199>.

Kalu, Dike N. 1991. « The ovariectomized rat model of postmenopausal bone loss ». *Bone and Mineral* 15 (3): 175-91. [https://doi.org/10.1016/0169-6009\(91\)90124-I](https://doi.org/10.1016/0169-6009(91)90124-I).

Kanagy, N. L., B. R. Walker, et L. D. Nelin. 2001. « Role of Endothelin in Intermittent Hypoxia-Induced Hypertension ». *Hypertension (Dallas, Tex.: 1979)* 37 (2 Pt 2): 511-15.

Kannel, W. B. 1996. « Blood Pressure as a Cardiovascular Risk Factor: Prevention and Treatment ». *JAMA* 275 (20): 1571-76.

Kannel, W. B., P. A. Wolf, J. Verter, et P. M. McNamara. 1970. « Epidemiologic Assessment

of the Role of Blood Pressure in Stroke. The Framingham Study ». *JAMA* 214 (2): 301-10.

Kapur, Vishesh, Kingman P. Strohl, Susan Redline, Conrad Iber, George O'Connor, et Javier Nieto. 2002. « Underdiagnosis of Sleep Apnea Syndrome in U.S. Communities ». *Sleep & Breathing = Schlaf & Atmung* 6 (2): 49-54. <https://doi.org/10.1007/s11325-002-0049-5>.

Khan, Shakil A., Jayasri Nanduri, Guoxiang Yuan, Brian Kinsman, Ganesh K. Kumar, Joy Joseph, Balaraman Kalyanaraman, et Nanduri R. Prabhakar. 2011. « NADPH Oxidase 2 Mediates Intermittent Hypoxia-Induced Mitochondrial Complex I Inhibition: Relevance to Blood Pressure Changes in Rats ». *Antioxidants & Redox Signaling* 14 (4): 533-42. <https://doi.org/10.1089/ars.2010.3213>.

Khraibi, A. A., D. M. Heublein, F. G. Knox, et J. C. Burnett. 1993. « Increased Plasma Level of Endothelin-1 in the Okamoto Spontaneously Hypertensive Rat ». *Mayo Clinic Proceedings* 68 (1): 42-46.

Kim, J. R., C. I. Kiefe, K. Liu, O. D. Williams, D. R. Jacobs, et A. Oberman. 1999. « Heart Rate and Subsequent Blood Pressure in Young Adults: The CARDIA Study ». *Hypertension (Dallas, Tex.: 1979)* 33 (2): 640-46.

Klaiber, Edward L., William Vogel, et Susan Rako. 2005. « A Critique of the Women's Health Initiative Hormone Therapy Study ». *Fertility and Sterility* 84 (6): 1589-1601. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2005.08.010>.

Kobayashi, Mariko, Alex Massiello, Jamshid H. Karimov, David R. Van Wagoner, et Kiyotaka Fukamachi. 2013. « Cardiac Autonomic Nerve Stimulation in the Treatment of Heart Failure ». *The Annals of Thoracic Surgery* 96 (1): 339-45. <https://doi.org/10.1016/j.athoracsur.2012.12.060>.

Kodydková, J., L. Vávrová, M. Kocík, et A. Žák. 2014. « Human Catalase, Its Polymorphisms, Regulation and Changes of Its Activity in Different Diseases ». *Folia Biologica* 60 (4): 153-67.

Kohler, Malcolm, Konrad E Bloch, et John R Stradling. 2009. « Pharmacological approaches to the treatment of obstructive sleep apnoea ». *Expert Opinion on Investigational Drugs* 18 (5): 647-56. <https://doi.org/10.1517/13543780902877674>.

Konecny, Tomas, Tomas Kara, et Virend K. Somers. 2014. « Obstructive Sleep Apnea and Hypertension: An Update ». *Hypertension* 63 (2): 203-9. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.113.00613>.

Kourembanas, S., P. A. Marsden, L. P. McQuillan, et D. V. Faller. 1991. « Hypoxia Induces Endothelin Gene Expression and Secretion in Cultured Human Endothelium ». *The Journal of Clinical Investigation* 88 (3): 1054-57. <https://doi.org/10.1172/JCI115367>.

Krinsky, N. I. 1989. « Antioxidant Functions of Carotenoids ». *Free Radical Biology & Medicine* 7 (6): 617-35.

Kuiper, G. G., E. Enmark, M. Peltö-Huikko, S. Nilsson, et J. A. Gustafsson. 1996. « Cloning of a Novel Receptor Expressed in Rat Prostate and Ovary ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 93 (12): 5925-30.

Kumar, Jitendra. 2013. « Epidemiology of hypertension ». *Clinical Queries: Nephrology* 2 (2): 56-61. <https://doi.org/10.1016/j.cqn.2013.04.005>.

Kuzkaya, Nermin, Norbert Weissmann, David G. Harrison, et Sergey Dikalov. 2003. « Interactions of Peroxynitrite, Tetrahydrobiopterin, Ascorbic Acid, and Thiols: Implications for Uncoupling Endothelial Nitric-Oxide Synthase ». *The Journal of Biological Chemistry* 278 (25): 22546-54. <https://doi.org/10.1074/jbc.M302227200>.

Lacruz, Maria E., Alexander Kluttig, Saskia Hartwig, Markus Löer, Daniel Tiller, Karin H. Greiser, Karl Werdan, et Johannes Haerting. 2015. « Prevalence and Incidence of Hypertension in the General Adult Population: Results of the CARLA-Cohort Study ». *Medicine* 94 (22). <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000000952>.

Lahm, Tim, Ketan M. Patel, Paul R. Crisostomo, Troy A. Markel, Meijing Wang, Christine Herring, et Daniel R. Meldrum. 2007. « Endogenous Estrogen Attenuates Pulmonary Artery Vasoreactivity and Acute Hypoxic Pulmonary Vasoconstriction: The Effects of Sex and Menstrual Cycle ». *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism* 293 (3): E865-871. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00201.2007>.

Lai, C. J., C. C. H. Yang, Y. Y. Hsu, Y. N. Lin, et T. B. J. Kuo. 2006. « Enhanced Sympathetic Outflow and Decreased Baroreflex Sensitivity Are Associated with Intermittent Hypoxia-Induced Systemic Hypertension in Conscious Rats ». *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)* 100 (6): 1974-82. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.01051.2005>.

Lambeth, J. David. 2004. « NOX Enzymes and the Biology of Reactive Oxygen ». *Nature Reviews. Immunology* 4 (3): 181-89. <https://doi.org/10.1038/nri1312>.

Laouafa, Sofien, Aida Bairam, Jorge Soliz, Damien Roussel, et Vincent Joseph. 2017. « Estradiol Receptor Agonists α and β Protect Against Brain Mitochondrial Dysfunction in a Model of Sleep Apnea ». *The FASEB Journal* 31 (1_supplement): 696.6-696.6. https://doi.org/10.1096/fasebj.31.1_supplement.696.6.

Laouafa, Sofien, Alexandra Ribon-Demars, François Marcouiller, Damien Roussel, Aida Bairam, Vincent Pialoux, et Vincent Joseph. 2017. « Estradiol Protects Against Cardiorespiratory Dysfunctions and Oxidative Stress in Intermittent Hypoxia ». *Sleep* 40 (8). <https://doi.org/10.1093/sleep/zsx104>.

Laouafa, Sofien, Damien Roussel, François Marcouiller, Jorge Soliz, David Gozal, Aida Bairam, et Vincent Joseph. 2019. « Roles of oestradiol receptor alpha and beta against

hypertension and brain mitochondrial dysfunction under intermittent hypoxia in female rats ». *Acta Physiologica* 0 (0): e13255. <https://doi.org/10.1111/apha.13255>.

Larivière, R., R. Day, et E. L. Schiffrin. 1993. « Increased Expression of Endothelin-1 Gene in Blood Vessels of Deoxycorticosterone Acetate-Salt Hypertensive Rats ». *Hypertension (Dallas, Tex.: 1979)* 21 (6 Pt 2): 916-20.

Larivière, Richard, et Marcel Lebel. 2003. « Endothelin-1 in Chronic Renal Failure and Hypertension ». *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology* 81 (6): 607-21. <https://doi.org/10.1139/y03-012>.

Lavie, L., et P. Lavie. 2009. « Molecular Mechanisms of Cardiovascular Disease in OSAHS: The Oxidative Stress Link ». *The European Respiratory Journal* 33 (6): 1467-84. <https://doi.org/10.1183/09031936.00086608>.

Lavie, Lena. 2003. « Obstructive Sleep Apnoea Syndrome--an Oxidative Stress Disorder ». *Sleep Medicine Reviews* 7 (1): 35-51.

———. 2015. « Oxidative Stress in Obstructive Sleep Apnea and Intermittent Hypoxia--Revisited--the Bad Ugly and Good: Implications to the Heart and Brain ». *Sleep Medicine Reviews* 20 (avril): 27-45. <https://doi.org/10.1016/j.smrv.2014.07.003>.

Lavie, Lena, Alona Vishnevsky, et Peretz Lavie. 2004. « Evidence for Lipid Peroxidation in Obstructive Sleep Apnea ». *Sleep* 27 (1): 123-28.

Lavie, P., P. Herer, et V. Hoffstein. 2000. « Obstructive Sleep Apnoea Syndrome as a Risk Factor for Hypertension: Population Study ». *BMJ (Clinical Research Ed.)* 320 (7233): 479-82.

Lavie, Peretz, et Lena Lavie. 2008. « Cardiovascular Morbidity and Mortality in Obstructive Sleep Apnea ». *Current Pharmaceutical Design* 14 (32): 3466-73.

Lebovitz, R. M., H. Zhang, H. Vogel, J. Cartwright, L. Dionne, N. Lu, S. Huang, et M. M. Matzuk. 1996. « Neurodegeneration, Myocardial Injury, and Perinatal Death in Mitochondrial Superoxide Dismutase-Deficient Mice ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 93 (18): 9782-87.

Lee, Richard W. W., Sivabalan Vasudavan, David S. Hui, Tania Prvan, Peter Petocz, M. Ali Darendeliler, et Peter A. Cistulli. 2010. « Differences in Craniofacial Structures and Obesity in Caucasian and Chinese Patients with Obstructive Sleep Apnea ». *Sleep* 33 (8): 1075-80.

Lelovas, Pavlos P., Theodoros T. Xanthos, Sofia E. Thoma, George P. Lyritis, et Ismene A. Dontas. 2008. « The Laboratory Rat as an Animal Model for Osteoporosis Research ». *Comparative Medicine* 58 (5): 424-30.

Lerman, A., F. L. Hildebrand, L. L. Aarhus, et J. C. Burnett. 1991. « Endothelin Has Biological Actions at Pathophysiological Concentrations ». *Circulation* 83 (5): 1808-14.

Lesske, J., E. C. Fletcher, G. Bao, et T. Unger. 1997. « Hypertension Caused by Chronic Intermittent Hypoxia--Influence of Chemoreceptors and Sympathetic Nervous System ». *Journal of Hypertension* 15 (12 Pt 2): 1593-1603.

Levy, B. I., N. Kubis, et R. Fressonnet and M. E. Safar. 2006. « Conductance and Resistance Vessels in Arterial Hypertension ». *Immunology, Endocrine & Metabolic Agents in Medicinal Chemistry (Discontinued)*. 31 juillet 2006. <http://www.eurekaselect.com/57499/article>.

Lévy, Patrick, Malcolm Kohler, Walter T. McNicholas, Ferran Barbé, R. Doug McEvoy, Virend K. Somers, Lena Lavie, et Jean-Louis Pépin. 2015. « Obstructive Sleep Apnoea Syndrome ». *Nature Reviews. Disease Primers* 1: 15015. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2015.15>.

Li, Huige, et Ulrich Förstermann. 2013. « Uncoupling of Endothelial NO Synthase in Atherosclerosis and Vascular Disease ». *Current Opinion in Pharmacology* 13 (2): 161-67. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2013.01.006>.

Li, K. K., N. B. Powell, C. Kushida, R. W. Riley, B. Adornato, et C. Guilleminault. 1999. « A Comparison of Asian and White Patients with Obstructive Sleep Apnea Syndrome ». *The Laryngoscope* 109 (12): 1937-40. <https://doi.org/10.1097/00005537-199912000-00007>.

Li, Lingrui, Hui Dong, Erqun Song, Xiaoyu Xu, Lichao Liu, et Yang Song. 2014. « Nrf2/ARE Pathway Activation, HO-1 and NQO1 Induction by Polychlorinated Biphenyl Quinone Is Associated with Reactive Oxygen Species and PI3K/AKT Signaling ». *Chemico-Biological Interactions* 209 (février): 56-67. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2013.12.005>.

Li, Lixin, Gregory D. Fink, Stephanie W. Watts, Carrie A. Northcott, James J. Galligan, Patrick J. Pagano, et Alex F. Chen. 2003. « Endothelin-1 Increases Vascular Superoxide via Endothelin(A)-NADPH Oxidase Pathway in Low-Renin Hypertension ». *Circulation* 107 (7): 1053-58.

Li, Qi-fang, et Ai-guo Dai. 2004. « Hypoxia-Inducible Factor-1 Alpha Regulates the Role of Vascular Endothelial Growth Factor on Pulmonary Arteries of Rats with Hypoxia-Induced Pulmonary Hypertension ». *Chinese Medical Journal* 117 (7): 1023-28.

Li, Y., T. T. Huang, E. J. Carlson, S. Melov, P. C. Ursell, J. L. Olson, L. J. Noble, et al. 1995. « Dilated Cardiomyopathy and Neonatal Lethality in Mutant Mice Lacking Manganese Superoxide Dismutase ». *Nature Genetics* 11 (4): 376-81. <https://doi.org/10.1038/ng1295-376>.

Liao, J. K., J. J. Zulueta, F. S. Yu, H. B. Peng, C. G. Cote, et P. M. Hassoun. 1995.

« Regulation of Bovine Endothelial Constitutive Nitric Oxide Synthase by Oxygen ». *The Journal of Clinical Investigation* 96 (6): 2661-66. <https://doi.org/10.1172/JCI118332>.

Lim, Wonchung, Yeomyung Park, Jungyoon Cho, Choa Park, Joonwoo Park, Young-Kwon Park, Hyunsung Park, et YoungJoo Lee. 2011. « Estrogen Receptor Beta Inhibits Transcriptional Activity of Hypoxia Inducible Factor-1 through the Downregulation of Arylhydrocarbon Receptor Nuclear Translocator ». *Breast Cancer Research : BCR* 13 (2): R32. <https://doi.org/10.1186/bcr2854>.

Lin, Shih-Wei, Kate Sutherland, Yu-Fang Liao, Peter A. Cistulli, Li-Pang Chuang, Yu-Ting Chou, Chih-Hao Chang, Chung-Shu Lee, Li-Fu Li, et Ning-Hung Chen. 2018. « Three-Dimensional Photography for the Evaluation of Facial Profiles in Obstructive Sleep Apnoea ». *Respirology (Carlton, Vic.)* 23 (6): 618-25. <https://doi.org/10.1111/resp.13261>.

Liu, Yuanbin, Gary Fiskum, et David Schubert. 2002. « Generation of Reactive Oxygen Species by the Mitochondrial Electron Transport Chain ». *Journal of Neurochemistry* 80 (5): 780-87.

Lobo, Roger A., James H. Pickar, John C. Stevenson, Wendy J. Mack, et Howard N. Hodis. 2016. « Back to the Future: Hormone Replacement Therapy as Part of a Prevention Strategy for Women at the Onset of Menopause ». *Atherosclerosis* 254: 282-90. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2016.10.005>.

Lobo, Rogerio A., JoAnn V. Pinkerton, Margery L. S. Gass, Maxine H. Dorin, Sheila Ronkin, James H. Pickar, et Ginger Constantine. 2009. « Evaluation of Bazedoxifene/Conjugated Estrogens for the Treatment of Menopausal Symptoms and Effects on Metabolic Parameters and Overall Safety Profile ». *Fertility and Sterility* 92 (3): 1025-38. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2009.03.113>.

Lösel, Ralf, et Martin Wehling. 2003. « Nongenomic Actions of Steroid Hormones ». *Nature Reviews. Molecular Cell Biology* 4 (1): 46-56. <https://doi.org/10.1038/nrm1009>.

Lucking, Eric F., Ken D. O'Halloran, et James F. X. Jones. 2014. « Increased Cardiac Output Contributes to the Development of Chronic Intermittent Hypoxia-Induced Hypertension ». *Experimental Physiology* 99 (10): 1312-24. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.2014.080556>.

Ludmer, P. L., A. P. Selwyn, T. L. Shook, R. R. Wayne, G. H. Mudge, R. W. Alexander, et P. Ganz. 1986. « Paradoxical Vasoconstriction Induced by Acetylcholine in Atherosclerotic Coronary Arteries ». *The New England Journal of Medicine* 315 (17): 1046-51. <https://doi.org/10.1056/NEJM198610233151702>.

Mach, William J., Amanda R. Thimmesch, J. Thomas Pierce, et Janet D. Pierce. 2011. « Consequences of Hyperoxia and the Toxicity of Oxygen in the Lung ». *Nursing Research and Practice* 2011: 260482. <https://doi.org/10.1155/2011/260482>.

Mahmood, Syed S., Daniel Levy, Ramachandran S. Vasan, et Thomas J. Wang. 2014. « The Framingham Heart Study and the Epidemiology of Cardiovascular Disease: A Historical Perspective ». *Lancet (London, England)* 383 (9921): 999-1008. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)61752-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)61752-3).

Mair, Kirsty M., Audrey F. Wright, Nicholas Duggan, David J. Rowlands, Martin J. Hussey, Sonia Roberts, Josephine Fullerton, et al. 2014. « Sex-Dependent Influence of Endogenous Estrogen in Pulmonary Hypertension ». *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 190 (4): 456-67. <https://doi.org/10.1164/rccm.201403-0483OC>.

Maiti, Panchanan, Shashi B. Singh, Alpesh K. Sharma, S. Muthuraju, Pratul K. Banerjee, et G. Ilavazhagan. 2006. « Hypobaric hypoxia induces oxidative stress in rat brain ». *Neurochemistry International* 49 (8): 709-16. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2006.06.002>.

Mallampalli, Monica P., et Christine L. Carter. 2014. « Exploring Sex and Gender Differences in Sleep Health: A Society for Women's Health Research Report ». *Journal of Women's Health (2002)* 23 (7): 553-62. <https://doi.org/10.1089/jwh.2014.4816>.

Manber, R., et R. Armitage. 1999. « Sex, Steroids, and Sleep: A Review ». *Sleep* 22 (5): 540-55.

Mancia, Giuseppe, Robert Fagard, Krzysztof Narkiewicz, Josep Redon, Alberto Zanchetti, Michael Böhm, Thierry Christiaens, et al. 2013. « 2013 ESH/ESC Guidelines for the Management of Arterial Hypertension The Task Force for the Management of Arterial Hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC) ». *European Heart Journal* 34 (28): 2159-2219. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehf151>.

Mark, A. L. 1996. « The Sympathetic Nervous System in Hypertension: A Potential Long-Term Regulator of Arterial Pressure ». *Journal of Hypertension. Supplement: Official Journal of the International Society of Hypertension* 14 (5): S159-165.

Marshall, Nathaniel S., Brendon J. Yee, Anup V. Desai, Peter R. Buchanan, Keith KH Wong, Renee Crompton, Kerri L. Melehan, et al. 2008. « Two Randomized Placebo-Controlled Trials to Evaluate the Efficacy and Tolerability of Mirtazapine for the Treatment of Obstructive Sleep Apnea ». *Sleep* 31 (6): 824.

Mas, M. M. el-, A. G. Abdel-Galil, H. M. el-Gowelli, et T. T. Daabees. 1997. « Short-Term Aortic Barodenervation Diminishes Alpha 1-Adrenoceptor Reactivity in Rat Aortic Smooth Muscle ». *European Journal of Pharmacology* 322 (2-3): 201-10.

Masaki, T., S. Kimura, M. Yanagisawa, et K. Goto. 1991. « Molecular and Cellular Mechanism of Endothelin Regulation. Implications for Vascular Function ». *Circulation* 84 (4): 1457-68.

Masaki, T., J. R. Vane, et P. M. Vanhoutte. 1994. « International Union of Pharmacology Nomenclature of Endothelin Receptors ». *Pharmacological Reviews* 46 (2): 137-42.

Matés, J. M., et F. Sánchez-Jiménez. 1999. « Antioxidant Enzymes and Their Implications in Pathophysiologic Processes ». *Frontiers in Bioscience: A Journal and Virtual Library* 4 (mars): D339-345.

Matthews J. and Gustafsson. s. d. « Estrogen Signaling: A Subtle Balance between ER Alpha and ER Beta. - PubMed - NCBI ». Consulté le 4 avril 2019. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov.access.bibl.ulaval.ca/pubmed/?term=Estrogen+signaling%3A+a+subtle+balance+between+ER+alpha+and+ER+beta>.

Mattingly, Kathleen A., Margarita M. Ivanova, Krista A. Riggs, Nalinie S. Wickramasinghe, Margaret J. Barch, et Carolyn M. Klinge. 2008. « Estradiol Stimulates Transcription of Nuclear Respiratory Factor-1 and Increases Mitochondrial Biogenesis ». *Molecular Endocrinology (Baltimore, Md.)* 22 (3): 609-22. <https://doi.org/10.1210/me.2007-0029>.

McClung, James P., Carol A. Roneker, Weipeng Mu, Donald J. Lisk, Paul Langlais, Feng Liu, et Xin Gen Lei. 2004. « Development of Insulin Resistance and Obesity in Mice Overexpressing Cellular Glutathione Peroxidase ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101 (24): 8852-57. <https://doi.org/10.1073/pnas.0308096101>.

McEwen, B. S. 2001. « Invited Review: Estrogens Effects on the Brain: Multiple Sites and Molecular Mechanisms ». *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)* 91 (6): 2785-2801. <https://doi.org/10.1152/jappl.2001.91.6.2785>.

McGoon, Michael D., Raymond L. Benza, Pilar Escribano-Subias, Xin Jiang, Dave P. Miller, Andrew J. Peacock, Joanna Pepke-Zaba, et al. 2013. « Pulmonary Arterial Hypertension: Epidemiology and Registries ». *Journal of the American College of Cardiology* 62 (25 Suppl): D51-59. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2013.10.023>.

McGown, Anne D., Himender Makker, Clare Elwell, Pippa G. Al Rawi, Arschang Valipour, et Stephen G. Spiro. 2003. « Measurement of Changes in Cytochrome Oxidase Redox State during Obstructive Sleep Apnea Using Near-Infrared Spectroscopy ». *Sleep* 26 (6): 710-16.

McKenna, M. 1987. « William Harvey, 1. That Incomparable Invention of Dr. Harvey's ». *Canadian Journal of Surgery. Journal Canadien De Chirurgie* 30 (2): 139-41.

McQuillan, L. P., G. K. Leung, P. A. Marsden, S. K. Kostyk, et S. Kourembanas. 1994. « Hypoxia Inhibits Expression of ENOS via Transcriptional and Posttranscriptional Mechanisms ». *The American Journal of Physiology* 267 (5 Pt 2): H1921-1927. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.1994.267.5.H1921>.

Melov, S., P. Coskun, M. Patel, R. Tuinstra, B. Cottrell, A. S. Jun, T. H. Zastawny, et al. 1999. « Mitochondrial Disease in Superoxide Dismutase 2 Mutant Mice ». *Proceedings of*

the National Academy of Sciences of the United States of America 96 (3): 846-51.

Mendelsohn, M. E., et R. H. Karas. 1999. « The Protective Effects of Estrogen on the Cardiovascular System ». *The New England Journal of Medicine* 340 (23): 1801-11. <https://doi.org/10.1056/NEJM199906103402306>.

Mercuro, G., S. Zoncu, I. Pilia, A. Lao, G. B. Melis, et A. Cherchi. 1997. « Effects of Acute Administration of Transdermal Estrogen on Postmenopausal Women with Systemic Hypertension ». *The American Journal of Cardiology* 80 (5): 652-55.

Mercuro, Giuseppe, Sandra Zoncu, Francesca Saiu, Monica Mascia, Gian Benedetto Melis, et Giuseppe M. C. Rosano. 2004. « Menopause Induced by Oophorectomy Reveals a Role of Ovarian Estrogen on the Maintenance of Pressure Homeostasis ». *Maturitas* 47 (2): 131-38.

Meyers, M. J., J. Sun, K. E. Carlson, G. A. Marriner, B. S. Katzenellenbogen, et J. A. Katzenellenbogen. 2001. « Estrogen Receptor-Beta Potency-Selective Ligands: Structure-Activity Relationship Studies of Diarylpropionitriles and Their Acetylene and Polar Analogues ». *Journal of Medicinal Chemistry* 44 (24): 4230-51.

Miller, Virginia M., et Sue P. Duckles. 2008. « Vascular Actions of Estrogens: Functional Implications ». *Pharmacological Reviews* 60 (2): 210-41. <https://doi.org/10.1124/pr.107.08002>.

Mills, Katherine T., Joshua D. Bundy, Tanika N. Kelly, Jennifer E. Reed, Patricia M. Kearney, Kristi Reynolds, Jing Chen, et Jiang He. 2016. « Global Disparities of Hypertension Prevalence and Control: A Systematic Analysis of Population-Based Studies From 90 Countries ». *Circulation* 134 (6): 441-50. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.115.018912>.

Milsted, A., M. C. Marcelo, M. E. Turner, et D. L. Ely. 1998. « Female Wistar-Kyoto and SHR/y Rats Have the Same Genotype but Different Patterns of Expression of Renin and Angiotensinogen Genes ». *Journal of Hypertension* 16 (6): 823-28.

Miyauchi, T., et T. Masaki. 1999. « Pathophysiology of Endothelin in the Cardiovascular System ». *Annual Review of Physiology* 61: 391-415. <https://doi.org/10.1146/annurev.physiol.61.1.391>.

Møller, Dorthe S., Pernille Lind, Benedicte Strunge, et Erling B. Pedersen. 2003. « Abnormal Vasoactive Hormones and 24-Hour Blood Pressure in Obstructive Sleep Apnea ». *American Journal of Hypertension* 16 (4): 274-80.

Morgan, Barbara J., Melissa L. Bates, Rodrigo Del Rio, Zunyi Wang, et John M. Dopp. 2016. « Oxidative Stress Augments Chemoreflex Sensitivity in Rats Exposed to Chronic Intermittent Hypoxia ». *Respiratory Physiology & Neurobiology* 234: 47-59.

<https://doi.org/10.1016/j.resp.2016.09.001>.

Morgan, Barbara J., Mihaela Teodorescu, David F. Pegelow, Emily R. Jackson, Devin L. Schneider, David T. Plante, James P. Gapinski, Scott J. Hetzel, et John M. Dopp. 2018. « Effects of losartan and allopurinol on cardiorespiratory regulation in obstructive sleep apnoea ». *Experimental Physiology* 103 (7): 941-55. <https://doi.org/10.1113/EP087006>.

Mukundan, Harshini, Nancy Kanagy, et Thomas Resta. 2004. « 17- β Estradiol Attenuates Hypoxic Induction of HIF-1 α and Erythropoietin in Hep3B Cells ». *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 44 (1): 93-100.

Murphy, Elizabeth. 2011. « Estrogen Signaling and Cardiovascular Disease ». *Circulation Research* 109 (6): 687-96. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.110.236687>.

Nagai, Hisashi, Ichiro Kuwahira, Daryl O. Schwenke, Hirotsugu Tsuchimochi, Akina Nara, Sayoko Ogura, Takashi Sonobe, et al. 2015. « Pulmonary Macrophages Attenuate Hypoxic Pulmonary Vasoconstriction via B3AR/INOS Pathway in Rats Exposed to Chronic Intermittent Hypoxia ». *PLoS One* 10 (7): e0131923. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0131923>.

Nanduri, Jayasri, Ying-Jie Peng, Guoxiang Yuan, Ganesh K. Kumar, et Nanduri R. Prabhakar. 2015. « Hypoxia Inducible Factors and Hypertension: Lessons from Sleep Apnea Syndrome ». *Journal of molecular medicine (Berlin, Germany)* 93 (5): 473-80. <https://doi.org/10.1007/s00109-015-1274-2>.

Nanduri, Jayasri, Damodara Reddy Vaddi, Shakil A. Khan, Ning Wang, Vladislav Makerenko, et Nanduri R. Prabhakar. 2013a. « Xanthine Oxidase Mediates Hypoxia-Inducible Factor-2 α Degradation by Intermittent Hypoxia ». *PLoS One* 8 (10): e75838. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0075838>.

———. 2013b. « Xanthine Oxidase Mediates Hypoxia-Inducible Factor-2 α Degradation by Intermittent Hypoxia ». *PLoS ONE* 8 (10). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0075838>.

Nanduri, Jayasri, Ning Wang, Guoxiang Yuan, Shakil A. Khan, Dangjai Souvannakitti, Ying-Jie Peng, Ganesh K. Kumar, Joseph A. Garcia, et Nanduri R. Prabhakar. 2009. « Intermittent Hypoxia Degrades HIF-2 α via Calpains Resulting in Oxidative Stress: Implications for Recurrent Apnea-Induced Morbidities ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 106 (4): 1199. <https://doi.org/10.1073/pnas.0811018106>.

Narkiewicz, K., P. J. van de Borne, C. A. Pesek, M. E. Dyken, N. Montano, et V. K. Somers. 1999. « Selective Potentiation of Peripheral Chemoreflex Sensitivity in Obstructive Sleep Apnea ». *Circulation* 99 (9): 1183-89.

Narkiewicz, K., et V. K. Somers. 1997. « The Sympathetic Nervous System and Obstructive Sleep Apnea: Implications for Hypertension ». *Journal of Hypertension* 15 (12 Pt 2):

1613-19.

Navarrete-Opazo, Angela, et Gordon S. Mitchell. 2014. « Therapeutic Potential of Intermittent Hypoxia: A Matter of Dose ». *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 307 (10): R1181-1197. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00208.2014>.

Netzer, Nikolaus C., Arn H. Eliasson, et Kingman P. Strohl. 2003. « Women with Sleep Apnea Have Lower Levels of Sex Hormones ». *Sleep & Breathing = Schlaf & Atmung* 7 (1): 25-29. <https://doi.org/10.1007/s11325-003-0025-8>.

Nevzati, Edin, Maziar Shafiqhi, Kamran D. Bakhtian, Hannes Treiber, Javier Fandino, et Ali Reza Fathi. 2015. « Estrogen Induces Nitric Oxide Production via Nitric Oxide Synthase Activation in Endothelial Cells ». *Acta Neurochirurgica. Supplement* 120: 141-45. https://doi.org/10.1007/978-3-319-04981-6_24.

Nieto, F. J., T. B. Young, B. K. Lind, E. Shahar, J. M. Samet, S. Redline, R. B. D'Agostino, A. B. Newman, M. D. Lebowitz, et T. G. Pickering. 2000. « Association of Sleep-Disordered Breathing, Sleep Apnea, and Hypertension in a Large Community-Based Study. Sleep Heart Health Study ». *JAMA* 283 (14): 1829-36.

Nieto, F. Javier, David M. Herrington, Susan Redline, Emelia J. Benjamin, et John A. Robbins. 2004. « Sleep Apnea and Markers of Vascular Endothelial Function in a Large Community Sample of Older Adults ». *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 169 (3): 354-60. <https://doi.org/10.1164/rccm.200306-756OC>.

Nikitaki, Zacharenia, Christine E. Hellweg, Alexandros G. Georgakilas, et Jean-Luc Ravanat. 2015. « Stress-Induced DNA Damage Biomarkers: Applications and Limitations ». *Frontiers in Chemistry* 3: 35. <https://doi.org/10.3389/fchem.2015.00035>.

Nilsson, S., S. Mäkelä, E. Treuter, M. Tujague, J. Thomsen, G. Andersson, E. Enmark, K. Pettersson, M. Warner, et J. A. Gustafsson. 2001. « Mechanisms of Estrogen Action ». *Physiological Reviews* 81 (4): 1535-65. <https://doi.org/10.1152/physrev.2001.81.4.1535>.

Nisbet, Rachel E., Anitra S. Graves, Dean J. Kleinhenz, Heidi L. Rupnow, Alana L. Reed, Tai-Hwang M. Fan, Patrick O. Mitchell, Roy L. Sutliff, et C. Michael Hart. 2009. « The Role of NADPH Oxidase in Chronic Intermittent Hypoxia-Induced Pulmonary Hypertension in Mice ». *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology* 40 (5): 601-9. <https://doi.org/10.1165/rcmb.2008-0145OC>.

Nuedling, Simone, Martin van Eickels, Axel Alléra, Pieter Doevendans, Rainer Meyer, Hans Vetter, et Christian Grohé. 2003. « 17 Beta-Estradiol Regulates the Expression of Endothelin Receptor Type B in the Heart ». *British Journal of Pharmacology* 140 (1): 195-201. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0705409>.

Oberley, L. W., et D. R. Spitz. 1984. « Assay of Superoxide Dismutase Activity in Tumor Tissue ». *Methods in Enzymology* 105: 457-64. [https://doi.org/10.1016/s0076-6879\(84\)05064-3](https://doi.org/10.1016/s0076-6879(84)05064-3).

O'Halloran, Ken D. 2019. « Cardiovascular sequelae of the sleep apnoea syndrome: Sex, stress and therapeutic strategies ». *Acta Physiologica* 225 (2): e13170. <https://doi.org/10.1111/apha.13170>.

Ohike, Yumiko, Koichi Kozaki, Katsuya Iijima, Masato Eto, Taro Kojima, Eijiro Ohga, Tomofumi Santa, et al. 2005. « Amelioration of Vascular Endothelial Dysfunction in Obstructive Sleep Apnea Syndrome by Nasal Continuous Positive Airway Pressure--Possible Involvement of Nitric Oxide and Asymmetric NG, NG-Dimethylarginine ». *Circulation Journal: Official Journal of the Japanese Circulation Society* 69 (2): 221-26.

Olafiranye, Oladipupo, Olakunle Akinboboye, Judith Mitchell, Gbenga Ogedegbe, et Girardin Jean-Louis. 2013. « Obstructive Sleep Apnea and Cardiovascular Disease in Blacks: A Call to Action from Association of Black Cardiologists ». *American heart journal* 165 (4): 468-76. <https://doi.org/10.1016/j.ahj.2012.12.018>.

Oparil, Suzanne, M. Amin Zaman, et David A. Calhoun. 2003. « Pathogenesis of Hypertension ». *Annals of Internal Medicine* 139 (9): 761-76.

Owens, J. F., C. M. Stoney, et K. A. Matthews. 1993. « Menopausal Status Influences Ambulatory Blood Pressure Levels and Blood Pressure Changes during Mental Stress ». *Circulation* 88 (6): 2794-2802.

Packer, L. 1991. « Protective Role of Vitamin E in Biological Systems ». *The American Journal of Clinical Nutrition* 53 (4 Suppl): 1050S-1055S. <https://doi.org/10.1093/ajcn/53.4.1050S>.

Padwal, Raj S., Asako Bienek, Finlay A. McAlister, Norm R. C. Campbell, et Outcomes Research Task Force of the Canadian Hypertension Education Program. 2016. « Epidemiology of Hypertension in Canada: An Update ». *The Canadian Journal of Cardiology* 32 (5): 687-94. <https://doi.org/10.1016/j.cjca.2015.07.734>.

Paglia, D. E., et W. N. Valentine. 1967. « Studies on the Quantitative and Qualitative Characterization of Erythrocyte Glutathione Peroxidase ». *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine* 70 (1): 158-69.

Panza, J. A., P. R. Casino, C. M. Kilcoyne, et A. A. Quyyumi. 1993. « Role of Endothelium-Derived Nitric Oxide in the Abnormal Endothelium-Dependent Vascular Relaxation of Patients with Essential Hypertension ». *Circulation* 87 (5): 1468-74.

Pappas, T. C., B. Gametchu, et C. S. Watson. 1995. « Membrane Estrogen Receptors Identified by Multiple Antibody Labeling and Impeded-Ligand Binding ». *FASEB Journal*:

Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology 9 (5): 404-10.

Paravicini, Tamara M., et Rhian M. Touyz. 2008. « NADPH Oxidases, Reactive Oxygen Species, and Hypertension: Clinical Implications and Therapeutic Possibilities ». *Diabetes Care* 31 Suppl 2 (février): S170-180. <https://doi.org/10.2337/dc08-s247>.

Pare, Gary, Andrée Krust, Richard H. Karas, Sonia Dupont, Mark Aronovitz, Pierre Chambon, et Michael E. Mendelsohn. 2002. « Estrogen Receptor-Alpha Mediates the Protective Effects of Estrogen against Vascular Injury ». *Circulation Research* 90 (10): 1087-92.

Parish, Sharon J., et John A. Gillespie. 2017. « The evolving role of oral hormonal therapies and review of conjugated estrogens/bazedoxifene for the management of menopausal symptoms ». *Postgraduate Medicine* 129 (3): 340-51. <https://doi.org/10.1080/00325481.2017.1281083>.

Peng, Ying-Jie, Jayasri Nanduri, Shakil A. Khan, Guoxiang Yuan, Ning Wang, Brian Kinsman, Damodara R. Vaddi, et al. 2011. « Hypoxia-Inducible Factor 2 α (HIF-2 α) Heterozygous-Null Mice Exhibit Exaggerated Carotid Body Sensitivity to Hypoxia, Breathing Instability, and Hypertension ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 108 (7): 3065. <https://doi.org/10.1073/pnas.1100064108>.

Peng, Ying-Jie, Jayasri Nanduri, Gayatri Raghuraman, Ning Wang, Ganesh K. Kumar, et Nanduri R. Prabhakar. 2013. « Role of Oxidative Stress-Induced Endothelin-Converting Enzyme Activity in the Alteration of Carotid Body Function by Chronic Intermittent Hypoxia ». *Experimental Physiology* 98 (11): 1620-30. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.2013.073700>.

Peng, Ying-Jie, Jeffrey L. Overholt, David Kline, Ganesh K. Kumar, et Nanduri R. Prabhakar. 2003. « Induction of Sensory Long-Term Facilitation in the Carotid Body by Intermittent Hypoxia: Implications for Recurrent Apneas ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100 (17): 10073-78. <https://doi.org/10.1073/pnas.1734109100>.

Peng, Ying-Jie, et Nanduri R. Prabhakar. 2004. « Effect of Two Paradigms of Chronic Intermittent Hypoxia on Carotid Body Sensory Activity ». *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)* 96 (3): 1236-42; discussion 1196. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00820.2003>.

Peng, Ying-Jie, Guoxiang Yuan, Shakil Khan, Jayasri Nanduri, Vladislav V. Makarenko, Vaddi Damodara Reddy, Chirag Vasavda, Ganesh K. Kumar, Gregg L. Semenza, et Nanduri R. Prabhakar. 2014. « Regulation of Hypoxia-Inducible Factor- α Isoforms and Redox State by Carotid Body Neural Activity in Rats ». *The Journal of Physiology* 592 (17): 3841-58. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2014.273789>.

Peng, Ying-Jie, Guoxiang Yuan, Deviprasadh Ramakrishnan, Suresh D. Sharma, Marta Bosch-Marce, Ganesh K. Kumar, Gregg L. Semenza, et Nanduri R. Prabhakar. 2006. « Heterozygous HIF-1 α Deficiency Impairs Carotid Body-Mediated Systemic Responses and Reactive Oxygen Species Generation in Mice Exposed to Intermittent Hypoxia ». *The Journal of Physiology* 577 (Pt 2): 705. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2006.114033>.

Peng, Y.-J., J. Nanduri, G. Yuan, N. Wang, E. Deneris, S. Pendyala, V. Natarajan, G. K. Kumar, et N. R. Prabhakar. 2009. « NADPH Oxidase Is Required for the Sensory Plasticity of the Carotid Body by Chronic Intermittent Hypoxia ». *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 29 (15): 4903-10. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4768-08.2009>.

Peppard, P. E., T. Young, M. Palta, J. Dempsey, et J. Skatrud. 2000. « Longitudinal Study of Moderate Weight Change and Sleep-Disordered Breathing ». *JAMA* 284 (23): 3015-21.

Peppard, P. E., T. Young, M. Palta, et J. Skatrud. 2000. « Prospective Study of the Association between Sleep-Disordered Breathing and Hypertension ». *The New England Journal of Medicine* 342 (19): 1378-84. <https://doi.org/10.1056/NEJM200005113421901>.

Perrella, M. A., E. S. Edell, M. J. Krowka, D. A. Cortese, et J. C. Burnett. 1992. « Endothelium-Derived Relaxing Factor in Pulmonary and Renal Circulations during Hypoxia ». *The American Journal of Physiology* 263 (1 Pt 2): R45-50. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.1992.263.1.R45>.

Perrine, A. -L., C. Lecoffre, et V. Olié. 2018. « Prévalence de l'hypertension artérielle chez les adultes en France en 2015, étude ESTEBAN ». *Revue d'Épidémiologie et de Santé Publique*, Colloque Adelf-Emois - Montpellier, 29 et 30 mars 2018, 66 (mars): S50. <https://doi.org/10.1016/j.respe.2018.01.115>.

Phillips, B. G., K. Narkiewicz, C. A. Pesek, W. G. Haynes, M. E. Dyken, et V. K. Somers. 1999. « Effects of Obstructive Sleep Apnea on Endothelin-1 and Blood Pressure ». *Journal of Hypertension* 17 (1): 61-66.

Phillips, Shane A., E. B. Olson, Julian H. Lombard, et Barbara J. Morgan. 2006. « Chronic Intermittent Hypoxia Alters NE Reactivity and Mechanics of Skeletal Muscle Resistance Arteries ». *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)* 100 (4): 1117-23. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00994.2005>.

Phillips, Shane A., E. B. Olson, Barbara J. Morgan, et Julian H. Lombard. 2004. « Chronic Intermittent Hypoxia Impairs Endothelium-Dependent Dilation in Rat Cerebral and Skeletal Muscle Resistance Arteries ». *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology* 286 (1): H388-393. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00683.2003>.

Pialoux, Vincent, Glen E. Foster, Sofia B. Ahmed, Andrew E. Beaudin, Patrick J. Hanly, et Marc J. Poulin. 2011. « Losartan Abolishes Oxidative Stress Induced by Intermittent Hypoxia in Humans ». *The Journal of Physiology* 589 (Pt 22): 5529-37.

<https://doi.org/10.1113/jphysiol.2011.218156>.

Pialoux, Vincent, Patrick J. Hanly, Glen E. Foster, Julien V. Brugniaux, Andrew E. Beaudin, Sara E. Hartmann, Matiram Pun, Cailean T. Duggan, et Marc J. Poulin. 2009. « Effects of Exposure to Intermittent Hypoxia on Oxidative Stress and Acute Hypoxic Ventilatory Response in Humans ». *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 180 (10): 1002-9. <https://doi.org/10.1164/rccm.200905-0671OC>.

Poredos, P. 2002. « Endothelial Dysfunction and Cardiovascular Disease ». *Pathophysiology of Haemostasis and Thrombosis* 32 (5-6): 274-77. <https://doi.org/73580>.

Prabhakar, N. R. 2001. « Oxygen Sensing during Intermittent Hypoxia: Cellular and Molecular Mechanisms ». *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)* 90 (5): 1986-94. <https://doi.org/10.1152/jappl.2001.90.5.1986>.

Prabhakar, N. R., R. D. Fields, T. Baker, et E. C. Fletcher. 2001. « Intermittent Hypoxia: Cell to System ». *American Journal of Physiology. Lung Cellular and Molecular Physiology* 281 (3): L524-528. <https://doi.org/10.1152/ajplung.2001.281.3.L524>.

Prabhakar, Nanduri R., Ying-Jie Peng, Frank J. Jacono, Ganesh K. Kumar, et Thomas E. Dick. 2005. « Cardiovascular Alterations by Chronic Intermittent Hypoxia: Importance of Carotid Body Chemoreflexes ». *Clinical and Experimental Pharmacology & Physiology* 32 (5-6): 447-49. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1681.2005.04209.x>.

Prabhakar, Nanduri R., Ying-Jie Peng, Ganesh K. Kumar, et Jayasri Nanduri. 2015. « Peripheral Chemoreception and Arterial Pressure Responses to Intermittent Hypoxia ». *Comprehensive Physiology* 5 (2): 561-77. <https://doi.org/10.1002/cphy.c140039>.

Price, D. T., J. A. Vita, et J. F. Keaney. 2000. « Redox Control of Vascular Nitric Oxide Bioavailability ». *Antioxidants & Redox Signaling* 2 (4): 919-35. <https://doi.org/10.1089/ars.2000.2.4-919>.

Prossnitz, Eric R., et Matthias Barton. 2011. « The G-Protein-Coupled Estrogen Receptor GPER in Health and Disease ». *Nature Reviews. Endocrinology* 7 (12): 715-26. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2011.122>.

Rahman, Irfan, Saibal K. Biswas, Luis A. Jimenez, Martine Torres, et H. J. Forman. 2005. « Glutathione, Stress Responses, and Redox Signaling in Lung Inflammation ». *Antioxidants & Redox Signaling* 7 (1-2): 42-59. <https://doi.org/10.1089/ars.2005.7.42>.

Rahman, Irfan, Saibal K. Biswas, et Aruna Kode. 2006. « Oxidant and Antioxidant Balance in the Airways and Airway Diseases ». *European Journal of Pharmacology* 533 (1-3): 222-39. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2005.12.087>.

Rakugi, H., Y. Tabuchi, M. Nakamaru, M. Nagano, K. Higashimori, H. Mikami, T. Ogihara,

et N. Suzuki. 1990. « Evidence for Endothelin-1 Release from Resistance Vessels of Rats in Response to Hypoxia ». *Biochemical and Biophysical Research Communications* 169 (3): 973-77.

Ramar, Kannan, Ilene M. Rosen, Douglas B. Kirsch, Ronald D. Chervin, Kelly A. Carden, R. Nisha Aurora, David A. Kristo, et al. 2018. « Medical Cannabis and the Treatment of Obstructive Sleep Apnea: An American Academy of Sleep Medicine Position Statement ». *Journal of Clinical Sleep Medicine: JCSM: Official Publication of the American Academy of Sleep Medicine* 14 (4): 679-81. <https://doi.org/10.5664/jcsm.7070>.

Rasmusen, C., L. Cynober, et R. Couderc. 2005. « [Arginine and statins: relationship between the nitric oxide pathway and the atherosclerosis development] ». *Annales De Biologie Clinique* 63 (5): 443-55.

Razandi, M., A. Pedram, G. L. Greene, et E. R. Levin. 1999. « Cell Membrane and Nuclear Estrogen Receptors (ERs) Originate from a Single Transcript: Studies of ERalpha and ERbeta Expressed in Chinese Hamster Ovary Cells ». *Molecular Endocrinology (Baltimore, Md.)* 13 (2): 307-19. <https://doi.org/10.1210/mend.13.2.0239>.

Redline, S., P. V. Tishler, M. G. Hans, T. D. Tosteson, K. P. Strohl, et K. Spry. 1997. « Racial Differences in Sleep-Disordered Breathing in African-Americans and Caucasians ». *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 155 (1): 186-92. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.155.1.9001310>.

Renna, Nicolás F., Natalia de las Heras, et Roberto M. Miatello. 2013. « Pathophysiology of Vascular Remodeling in Hypertension ». Research article. *International Journal of Hypertension*. 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/808353>.

Resta, O., M. P. Foschino-Barbaro, G. Legari, S. Talamo, P. Bonfitto, A. Palumbo, A. Minenna, R. Giorgino, et G. De Pergola. 2001. « Sleep-Related Breathing Disorders, Loud Snoring and Excessive Daytime Sleepiness in Obese Subjects ». *International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders: Journal of the International Association for the Study of Obesity* 25 (5): 669-75. <https://doi.org/10.1038/sj.ijo.0801603>.

Resta, T. C., N. L. Kanagy, et B. R. Walker. 2001. « Estradiol-Induced Attenuation of Pulmonary Hypertension Is Not Associated with Altered ENOS Expression ». *American Journal of Physiology. Lung Cellular and Molecular Physiology* 280 (1): L88-97. <https://doi.org/10.1152/ajplung.2001.280.1.L88>.

Rey, Sergio, Mika P. Tarvainen, Pasi A. Karjalainen, et Rodrigo Iturriaga. 2008. « Dynamic Time-Varying Analysis of Heart Rate and Blood Pressure Variability in Cats Exposed to Short-Term Chronic Intermittent Hypoxia ». *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 295 (1): R28-37. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00070.2008>.

Ribon-Demars, Alexandra, Vincent Pialoux, Anaëlle Boreau, François Marcouiller, Richard

Larivière, Aida Bairam, et Vincent Joseph. 2018. « Protective Roles of Estradiol against Vascular Oxidative Stress in Ovariectomized Female Rats Exposed to Normoxia or Intermittent Hypoxia ». *Acta Physiologica* 0 (0): e13159. <https://doi.org/10.1111/apha.13159>.

Robaczewska, J., K. Kedziora-Kornatowska, M. Kozakiewicz, E. Zary-Sikorska, H. Pawluk, W. Pawliszak, et J. Kedziora. 2016. « Role of Glutathione Metabolism and Glutathione-Related Antioxidant Defense Systems in Hypertension ». *Journal of Physiology and Pharmacology: An Official Journal of the Polish Physiological Society* 67 (3): 331-37.

Rocca, Walter A., Brandon R. Grossardt, et Lynne T. Shuster. 2011. « Oophorectomy, Menopause, Estrogen Treatment, and Cognitive Aging: Clinical Evidence for a Window of Opportunity ». *Brain Research* 1379 (mars): 188-98. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2010.10.031>.

Roger, Véronique L., Susan A. Weston, Margaret M. Redfield, Jens P. Hellermann-Homan, Jill Killian, Barbara P. Yawn, et Steven J. Jacobsen. 2004. « Trends in Heart Failure Incidence and Survival in a Community-Based Population ». *JAMA* 292 (3): 344-50. <https://doi.org/10.1001/jama.292.3.344>.

Romero-Corral, Abel, Sean M. Caples, Francisco Lopez-Jimenez, et Virend K. Somers. 2010. « Interactions between Obesity and Obstructive Sleep Apnea: Implications for Treatment ». *Chest* 137 (3): 711-19. <https://doi.org/10.1378/chest.09-0360>.

Rosa, Darlan Pase da, Luiz Felipe Forgiarini, Diego Baronio, Cristiano Andrade Feijó, Dênis Martinez, et Norma Possa Marroni. 2012. « Simulating Sleep Apnea by Exposure to Intermittent Hypoxia Induces Inflammation in the Lung and Liver ». Research article. *Mediators of Inflammation*. 2012. <https://doi.org/10.1155/2012/879419>.

Rose, David P., et Linda Vona-Davis. 2010. « Interaction between Menopausal Status and Obesity in Affecting Breast Cancer Risk ». *Maturitas* 66 (1): 33-38. <https://doi.org/10.1016/j.maturitas.2010.01.019>.

Rossouw, Jacques E., Garnet L. Anderson, Ross L. Prentice, Andrea Z. LaCroix, Charles Kooperberg, Marcia L. Stefanick, Rebecca D. Jackson, et al. 2002. « Risks and Benefits of Estrogen plus Progestin in Healthy Postmenopausal Women: Principal Results From the Women's Health Initiative Randomized Controlled Trial ». *JAMA* 288 (3): 321-33.

Row, Barry W., Rugao Liu, Wei Xu, Leila Kheirandish, et David Gozal. 2003. « Intermittent Hypoxia Is Associated with Oxidative Stress and Spatial Learning Deficits in the Rat ». *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 167 (11): 1548-53. <https://doi.org/10.1164/rccm.200209-1050OC>.

Saad, Antonio F., Gabriel Virella, Charlyne Chassereau, Robert J. Boackle, et Maria F. Lopes-Virella. 2006. « OxLDL Immune Complexes Activate Complement and Induce Cytokine Production by MonoMac 6 Cells and Human Macrophages ». *Journal of Lipid*

Research 47 (9): 1975-83. <https://doi.org/10.1194/jlr.M600064-JLR200>.

Saarelainen, S., et J. Hasan. 2000. « Circulating Endothelin-1 and Obstructive Sleep Apnoea ». *The European Respiratory Journal* 16 (4): 794-95.

Sajkov, Dimitar, et R. Doug McEvoy. 2009. « Obstructive Sleep Apnea and Pulmonary Hypertension ». *Progress in Cardiovascular Diseases* 51 (5): 363-70. <https://doi.org/10.1016/j.pcad.2008.06.001>.

Saklayen, Mohammad G., et Neeraj V. Deshpande. 2016. « Timeline of History of Hypertension Treatment ». *Frontiers in Cardiovascular Medicine* 3 (février). <https://doi.org/10.3389/fcvm.2016.00003>.

Sanz, Alberto, et Rhoda K. A. Stefanatos. 2008. « The Mitochondrial Free Radical Theory of Aging: A Critical View ». *Current Aging Science* 1 (1): 10-21.

Scanlan, M. F., T. Roebuck, P. J. Little, Redman, et M. T. Naughton. 2000. « Effect of Moderate Alcohol upon Obstructive Sleep Apnoea ». *European Respiratory Journal* 16 (5): 909-13.

Schieber, Michael, et Navdeep S. Chandel. 2014. « ROS Function in Redox Signaling and Oxidative Stress ». *Current Biology: CB* 24 (10): R453-462. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2014.03.034>.

Schillaci, G., P. Verdecchia, C. Borgioni, A. Ciucci, et C. Porcellati. 1998. « Early Cardiac Changes after Menopause ». *Hypertension (Dallas, Tex.: 1979)* 32 (4): 764-69.

Schoorlemmer, Guus H. M., Marcio V. Rossi, Sérgio Tufik, et Sérgio L. Cravo. 2011. « A New Method to Produce Obstructive Sleep Apnoea in Conscious Unrestrained Rats ». *Experimental Physiology* 96 (10): 1010-18. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.2011.059014>.

Schulz, R., D. Schmidt, A. Blum, X. Lopes-Ribeiro, C. Lücke, K. Mayer, H. Olschewski, W. Seeger, et F. Grimminger. 2000. « Decreased Plasma Levels of Nitric Oxide Derivatives in Obstructive Sleep Apnoea: Response to CPAP Therapy ». *Thorax* 55 (12): 1046-51.

Schulz, Richard, Gulsina Murzabekova, Bakytbek Egemnazarov, Simone Kraut, Hans-Joachim Eisele, Rio Dumitrascu, Jörg Heitmann, et al. 2014. « Arterial Hypertension in a Murine Model of Sleep Apnea: Role of NADPH Oxidase 2 ». *Journal of Hypertension* 32 (2): 300-305. <https://doi.org/10.1097/HJH.0000000000000016>.

Schumacker, Paul T. 2011. « Lung Cell Hypoxia: Role of Mitochondrial Reactive Oxygen Species Signaling in Triggering Responses ». *Proceedings of the American Thoracic Society* 8 (6): 477-84. <https://doi.org/10.1513/pats.201103-032MW>.

Schwarz, Esther I., Milo A. Puhan, Christian Schlatzer, John R. Stradling, et Malcolm Kohler. 2015. « Effect of CPAP Therapy on Endothelial Function in Obstructive Sleep Apnoea: A Systematic Review and Meta-Analysis ». *Respirology (Carlton, Vic.)* 20 (6): 889-95. <https://doi.org/10.1111/resp.12573>.

Selvin, Elizabeth, et Thomas P. Erlinger. 2004. « Prevalence of and Risk Factors for Peripheral Arterial Disease in the United States: Results from the National Health and Nutrition Examination Survey, 1999-2000 ». *Circulation* 110 (6): 738-43. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000137913.26087.F0>.

Senaratna, Chamara V., Jennifer L. Perret, Caroline J. Lodge, Adrian J. Lowe, Brittany E. Campbell, Melanie C. Matheson, Garun S. Hamilton, et Shyamali C. Dharmage. 2017. « Prevalence of Obstructive Sleep Apnea in the General Population: A Systematic Review ». *Sleep Medicine Reviews* 34 (août): 70-81. <https://doi.org/10.1016/j.smr.2016.07.002>.

Shahar, Eyal, Susan Redline, Terry Young, Lori L. Boland, Carol M. Baldwin, F. Javier Nieto, George T. O'Connor, David M. Rapoport, et John A. Robbins. 2003. « Hormone Replacement Therapy and Sleep-Disordered Breathing ». *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 167 (9): 1186-92. <https://doi.org/10.1164/rccm.200210-1238OC>.

Shetty, S. S., T. Okada, R. L. Webb, D. DelGrande, et R. W. Lappe. 1993. « Functionally Distinct Endothelin B Receptors in Vascular Endothelium and Smooth Muscle ». *Biochemical and Biophysical Research Communications* 191 (2): 459-64. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1993.1240>.

Shiva, Sruti, Jack H. Crawford, Anup Ramachandran, Erin K. Ceaser, Tess Hillson, Paul S. Brookes, Rakesh P. Patel, et Victor M. Darley-Usmar. 2004. « Mechanisms of the Interaction of Nitroxyl with Mitochondria ». *The Biochemical Journal* 379 (Pt 2): 359-66. <https://doi.org/10.1042/BJ20031758>.

Si, M. L., B. Al-Sharafî, C. C. Lai, R. Khardori, C. Chang, et C. Y. Su. 2001. « Gender Difference in Cytoprotection Induced by Estrogen on Female and Male Bovine Aortic Endothelial Cells ». *Endocrine* 15 (3): 255-62. <https://doi.org/10.1385/ENDO:15:3:255>.

Sica, A. L., H. E. Greenberg, D. A. Ruggiero, et S. M. Scharf. 2000. « Chronic-Intermittent Hypoxia: A Model of Sympathetic Activation in the Rat ». *Respiration Physiology* 121 (2-3): 173-84.

Siddle, N., P. Sarrel, et M. Whitehead. 1987. « The Effect of Hysterectomy on the Age at Ovarian Failure: Identification of a Subgroup of Women with Premature Loss of Ovarian Function and Literature Review ». *Fertility and Sterility* 47 (1): 94-100.

Siiteri, P. K. 1987. « Adipose Tissue as a Source of Hormones ». *The American Journal of Clinical Nutrition* 45 (1 Suppl): 277-82. <https://doi.org/10.1093/ajcn/45.1.277>.

Singel, Kelly L., et Brahm H. Segal. 2016. « NOX2-Dependent Regulation of Inflammation ». *Clinical Science (London, England: 1979)* 130 (7): 479-90. <https://doi.org/10.1042/CS20150660>.

Siqueira, R., C. Campos, R. Colombo, C. U. Becker, T. R. G. Fernandes, A. S. R. Araújo, et A. Belló-Klein. 2011. « Influence of Estrogen on Pulmonary Arterial Hypertension: Role of Oxidative Stress ». *Cell Biochemistry and Function* 29 (7): 543-48. <https://doi.org/10.1002/cbf.1784>.

« Sleep-Related Breathing Disorders in Adults: Recommendations for Syndrome Definition and Measurement Techniques in Clinical Research. The Report of an American Academy of Sleep Medicine Task Force ». 1999. *Sleep* 22 (5): 667-89.

Slovut, David P., Shyamal H. Mehta, Anne M. Dorrance, Frank C. Brosius, Stephanie W. Watts, et R. Clinton Webb. 2004. « Increased Vascular Sensitivity and Connexin43 Expression after Sympathetic Denervation ». *Cardiovascular Research* 62 (2): 388-96. <https://doi.org/10.1016/j.cardiores.2003.12.024>.

Somers, Virend K., David P. White, Raouf Amin, William T. Abraham, Fernando Costa, Antonio Culebras, Stephen Daniels, et al. 2008. « Sleep Apnea and Cardiovascular Disease: An American Heart Association/American College Of Cardiology Foundation Scientific Statement from the American Heart Association Council for High Blood Pressure Research Professional Education Committee, Council on Clinical Cardiology, Stroke Council, and Council On Cardiovascular Nursing. In Collaboration with the National Heart, Lung, and Blood Institute National Center on Sleep Disorders Research (National Institutes of Health) ». *Circulation* 118 (10): 1080-1111. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.107.189375>.

Souza, George Miguel P. R., Leni G. H. Bonagamba, Mateus R. Amorim, Davi J. A. Moraes, et Benedito H. Machado. 2015. « Cardiovascular and Respiratory Responses to Chronic Intermittent Hypoxia in Adult Female Rats ». *Experimental Physiology* 100 (3): 249-58. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.2014.082990>.

Spinelli, Margaret G. 2004. « Depression and Hormone Therapy ». *Clinical Obstetrics and Gynecology* 47 (2): 428-36.

Stampfer, M. J., et G. A. Colditz. 1991. « Estrogen Replacement Therapy and Coronary Heart Disease: A Quantitative Assessment of the Epidemiologic Evidence ». *Preventive Medicine* 20 (1): 47-63.

Stauffer, S. R., C. J. Coletta, R. Tedesco, G. Nishiguchi, K. Carlson, J. Sun, B. S. Katzenellenbogen, et J. A. Katzenellenbogen. 2000. « Pyrazole Ligands: Structure-Affinity/Activity Relationships and Estrogen Receptor-Alpha-Selective Agonists ». *Journal of Medicinal Chemistry* 43 (26): 4934-47.

Stirone, Chris, Sue P. Duckles, Diana N. Krause, et Vincent Procaccio. 2005. « Estrogen Increases Mitochondrial Efficiency and Reduces Oxidative Stress in Cerebral Blood Vessels ». *Molecular Pharmacology* 68 (4): 959-65. <https://doi.org/10.1124/mol.105.014662>.

Strehlow, Kerstin, Simone Rotter, Sven Wassmann, Oliver Adam, Christian Grohé, Kerstin Laufs, Michael Böhm, et Georg Nickenig. 2003. « Modulation of Antioxidant Enzyme Expression and Function by Estrogen ». *Circulation Research* 93 (2): 170-77. <https://doi.org/10.1161/01.RES.0000082334.17947.11>.

Suarez-Giron, Monique C., Anabel Castro-Grattoni, Marta Torres, Ramon Farré, Ferran Barbé, Manuel Sánchez-de-la-Torre, David Gozal, Cesar Picado, Josep M. Montserrat, et Isaac Almendros. 2018. « Acetylsalicylic Acid Prevents Intermittent Hypoxia-Induced Vascular Remodeling in a Murine Model of Sleep Apnea ». *Frontiers in Physiology* 9: 600. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00600>.

Sullivan, C. E., F. G. Issa, M. Berthon-Jones, et L. Eves. 1981. « Reversal of Obstructive Sleep Apnoea by Continuous Positive Airway Pressure Applied through the Nares ». *Lancet (London, England)* 1 (8225): 862-65.

Sylvester, J. T., Larissa A. Shimoda, Philip I. Aaronson, et Jeremy P. T. Ward. 2012. « Hypoxic Pulmonary Vasoconstriction ». *Physiological Reviews* 92 (1): 367-520. <https://doi.org/10.1152/physrev.00041.2010>.

Tahawi, Z., N. Orolinova, I. G. Joshua, M. Bader, et E. C. Fletcher. 2001. « Altered Vascular Reactivity in Arterioles of Chronic Intermittent Hypoxic Rats ». *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)* 90 (5): 2007-13; discussion 2000.

Tamisier, R., J. L. Pépin, J. Rémy, J. P. Baguet, J. A. Taylor, J. W. Weiss, et P. Lévy. 2011. « 14 Nights of Intermittent Hypoxia Elevate Daytime Blood Pressure and Sympathetic Activity in Healthy Humans ». *The European Respiratory Journal* 37 (1): 119-28. <https://doi.org/10.1183/09031936.00204209>.

Thom, Thomas, Nancy Haase, Wayne Rosamond, Virginia J. Howard, John Rumsfeld, Teri Manolio, Zhi-Jie Zheng, et al. 2006. « Heart Disease and Stroke Statistics--2006 Update: A Report from the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee ». *Circulation* 113 (6): e85-151. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.105.171600>.

Toporsian, M., K. Govindaraju, M. Nagi, D. Eidelman, G. Thibault, et M. E. Ward. 2000. « Downregulation of Endothelial Nitric Oxide Synthase in Rat Aorta after Prolonged Hypoxia in Vivo ». *Circulation Research* 86 (6): 671-75.

Toran-Allerand, C. Dominique, Xiaoping Guan, Neil J. MacLusky, Tamas L. Horvath, Sabrina Diano, Meharvan Singh, E. Sander Connolly, Imam S. Nethrapalli, et Alexander A. Tinnikov. 2002. « ER-X: A Novel, Plasma Membrane-Associated, Putative Estrogen

Receptor That Is Regulated during Development and after Ischemic Brain Injury ». *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 22 (19): 8391-8401.

Torres, Gerard, Manuel Sánchez-de-la-Torre, et Ferran Barbé. 2015. « Relationship Between OSA and Hypertension ». *Chest* 148 (3): 824-32. <https://doi.org/10.1378/chest.15-0136>.

Touyz, Rhian M., et Ernesto L. Schiffrin. 2003. « Role of Endothelin in Human Hypertension ». *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology* 81 (6): 533-41. <https://doi.org/10.1139/y03-009>.

Troncoso Brindeiro, Carmen M., Ana Q. da Silva, Kyan J. Allahdadi, Victoria Youngblood, et Nancy L. Kanagy. 2007. « Reactive Oxygen Species Contribute to Sleep Apnea-Induced Hypertension in Rats ». *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology* 293 (5): H2971-2976. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00219.2007>.

Tsan, M. F. 2001. « Superoxide Dismutase and Pulmonary Oxygen Toxicity: Lessons from Transgenic and Knockout Mice (Review) ». *International Journal of Molecular Medicine* 7 (1): 13-19.

Tsang, Suk-Ying, Xiaoqiang Yao, Franky L. Chan, Chi-Ming Wong, Zhen-Yu Chen, Ismail Laher, et Yu Huang. 2004. « Estrogen and Tamoxifen Modulate Cerebrovascular Tone in Ovariectomized Female Rats ». *Hypertension (Dallas, Tex.: 1979)* 44 (1): 78-82. <https://doi.org/10.1161/01.HYP.0000131659.27081.19>.

Tuder, Rubin M., Jeong H. Yun, Anil Bhunia, et Iwona Fijalkowska. 2007. « Hypoxia and Chronic Lung Disease ». *Journal of Molecular Medicine (Berlin, Germany)* 85 (12): 1317-24. <https://doi.org/10.1007/s00109-007-0280-4>.

Tuleta, I., F. Stöckigt, U. R. Juergens, C. Pizarro, J. W. Schrickel, G. Kristiansen, G. Nickenig, et D. Skowasch. 2016. « Intermittent Hypoxia Contributes to the Lung Damage by Increased Oxidative Stress, Inflammation, and Disbalance in Protease/Antiprotease System ». *Lung* 194 (6): 1015-20. <https://doi.org/10.1007/s00408-016-9946-4>.

Tummala, P. E., X. L. Chen, C. L. Sundell, J. B. Laursen, C. P. Hammes, R. W. Alexander, D. G. Harrison, et R. M. Medford. 1999. « Angiotensin II Induces Vascular Cell Adhesion Molecule-1 Expression in Rat Vasculature: A Potential Link between the Renin-Angiotensin System and Atherosclerosis ». *Circulation* 100 (11): 1223-29.

Umland, Elena M., Lauren Karel, et Nanette Santoro. 2016. « Bazedoxifene and Conjugated Equine Estrogen: A Combination Product for the Management of Vasomotor Symptoms and Osteoporosis Prevention Associated with Menopause ». *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy* 36 (5): 548-61. <https://doi.org/10.1002/phar.1749>.

Valipour, A. 2012. « Gender-Related Differences in the Obstructive Sleep Apnea

Syndrome ». *Pneumologie (Stuttgart, Germany)* 66 (10): 584-88. <https://doi.org/10.1055/s-0032-1325664>.

Vanderhorst, Veronique G. J. M., Jan-Ake Gustafsson, et Brun Ulfhake. 2005. « Estrogen Receptor-Alpha and -Beta Immunoreactive Neurons in the Brainstem and Spinal Cord of Male and Female Mice: Relationships to Monoaminergic, Cholinergic, and Spinal Projection Systems ». *The Journal of Comparative Neurology* 488 (2): 152-79. <https://doi.org/10.1002/cne.20569>.

Vongpatanasin, W., M. Tuncel, Y. Mansour, D. Arbique, et R. G. Victor. 2001. « Transdermal Estrogen Replacement Therapy Decreases Sympathetic Activity in Postmenopausal Women ». *Circulation* 103 (24): 2903-8.

Wang, Li, Quan Zheng, Yadong Yuan, Yanpeng Li, et Xiaowei Gong. 2017. « Effects of 17 β -Estradiol and 2-Methoxyestradiol on the Oxidative Stress-Hypoxia Inducible Factor-1 Pathway in Hypoxic Pulmonary Hypertensive Rats ». *Experimental and Therapeutic Medicine* 13 (5): 2537. <https://doi.org/10.3892/etm.2017.4243>.

Wang, Shaolan, Baoying Wang, Yan Feng, Mingshu Mo, Fangying Du, Hongbo Li, et Xiaorui Yu. 2015. « 17 β -Estradiol Ameliorates Light-Induced Retinal Damage in Sprague-Dawley Rats by Reducing Oxidative Stress ». *Journal of Molecular Neuroscience: MN* 55 (1): 141-51. <https://doi.org/10.1007/s12031-014-0384-6>.

Wang, Yang, Shelley X. L. Zhang, et David Gozal. 2010. « Reactive Oxygen Species and the Brain in Sleep Apnea ». *Respiratory Physiology & Neurobiology* 174 (3): 307-16. <https://doi.org/10.1016/j.resp.2010.09.001>.

Wang Yilong, Xu Jie, Zhao Xingquan, Wang David, Wang Chunxue, Liu Liping, Wang Anxin, Meng Xia, Li Hao, et Wang Yongjun. 2013. « Association of Hypertension With Stroke Recurrence Depends on Ischemic Stroke Subtype ». *Stroke* 44 (5): 1232-37. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.111.000302>.

Warner, T. D., B. Battistini, A. M. Doherty, et R. Corder. 1994. « Endothelin Receptor Antagonists: Actions and Rationale for Their Development ». *Biochemical Pharmacology* 48 (4): 625-35.

Warner, T. D., J. A. Mitchell, G. de Nucci, et J. R. Vane. 1989. « Endothelin-1 and Endothelin-3 Release EDRF from Isolated Perfused Arterial Vessels of the Rat and Rabbit ». *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 13 Suppl 5: S85-88; discussion S102.

Wassmann, Sven, Kerstin Wassmann, et Georg Nickenig. 2004. « Modulation of Oxidant and Antioxidant Enzyme Expression and Function in Vascular Cells ». *Hypertension* 44 (4): 381-86. <https://doi.org/10.1161/01.HYP.0000142232.29764.a7>.

Weiss, Noel S. 1972. « Relationship of Menopause to Serum Cholesterol and Arterial Blood

Pressure: The United States' health Examination Survey of Adults ». *American Journal of Epidemiology* 96 (4): 237-41.

Whelton, P. K., J. He, et P. Muntner. 2004. « Prevalence, Awareness, Treatment and Control of Hypertension in North America, North Africa and Asia ». *Journal of Human Hypertension* 18 (8): 545. <https://doi.org/10.1038/sj.jhh.1001701>.

Widder, Julian, Theo Pelzer, Christine von Poser-Klein, Kai Hu, Virginija Jazbutyte, Karl-Heinrich Fritzemeier, Christa Hegele-Hartung, Ludwig Neyses, et Johann Bauersachs. 2003. « Improvement of Endothelial Dysfunction by Selective Estrogen Receptor-Alpha Stimulation in Ovariectomized SHR ». *Hypertension (Dallas, Tex.: 1979)* 42 (5): 991-96. <https://doi.org/10.1161/01.HYP.0000098661.37637.89>.

Wilkins, Kathryn, Norman R. C. Campbell, Michel R. Joffres, Finlay A. McAlister, Marianne Nichol, Susan Quach, Helen L. Johansen, et Mark S. Tremblay. 2010. « Blood Pressure in Canadian Adults ». *Health Reports* 21 (1): 37-46.

Witko-Sarsat, V., M. Friedlander, C. Capeillère-Blandin, T. Nguyen-Khoa, A. T. Nguyen, J. Zingraff, P. Jungers, et B. Descamps-Latscha. 1996. « Advanced Oxidation Protein Products as a Novel Marker of Oxidative Stress in Uremia ». *Kidney International* 49 (5): 1304-13.

Wong, Hang S., Adrian J. Williams, et YingJuan Mok. 2017. « The Relationship between Pulmonary Hypertension and Obstructive Sleep Apnea ». *Current Opinion in Pulmonary Medicine* 23 (6): 517-21. <https://doi.org/10.1097/MCP.0000000000000421>.

Wyss, J. Michael, et Scott H. Carlson. 2003. « Effects of Hormone Replacement Therapy on the Sympathetic Nervous System and Blood Pressure ». *Current Hypertension Reports* 5 (3): 241-46.

Xue, Baojian, Jaya Pamidimukkala, et Meredith Hay. 2005. « Sex differences in the development of angiotensin II-induced hypertension in conscious mice ». *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* 288 (5): H2177-84. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00969.2004>.

Yamashita, K., D. J. Discher, J. Hu, N. H. Bishopric, et K. A. Webster. 2001. « Molecular Regulation of the Endothelin-1 Gene by Hypoxia. Contributions of Hypoxia-Inducible Factor-1, Activator Protein-1, GATA-2, AND P300/CBP ». *The Journal of Biological Chemistry* 276 (16): 12645-53. <https://doi.org/10.1074/jbc.M011344200>.

Yamauchi, Motoo, Hiroshi Nakano, Junko Maekawa, Yukinori Okamoto, Yoshinobu Ohnishi, Takahiro Suzuki, et Hiroshi Kimura. 2005. « Oxidative Stress in Obstructive Sleep Apnea ». *Chest* 127 (5): 1674-79. <https://doi.org/10.1378/chest.127.5.1674>.

Yanagisawa, M., H. Kurihara, S. Kimura, Y. Tomobe, M. Kobayashi, Y. Mitsui, Y. Yazaki, K. Goto, et T. Masaki. 1988. « A Novel Potent Vasoconstrictor Peptide Produced by Vascular

Endothelial Cells ». *Nature* 332 (6163): 411-15. <https://doi.org/10.1038/332411a0>.

Yeasmin, N., Q. S. Akhter, S. Mahmuda, N. Banu, S. Yeasmin, S. Akhter, et S. Nahar. 2017. « Association of Hypertension with Serum Estrogen Level in Postmenopausal Women ». *Mymensingh Medical Journal: MMJ* 26 (3): 635-41.

Yokoyama, S., R. J. Korthuis, et J. N. Benoit. 1996. « Hypoxia-Reoxygenation Impairs Endothelium-Dependent Relaxation in Isolated Rat Aorta ». *The American Journal of Physiology* 270 (5 Pt 2): R1126-1131. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.1996.270.5.R1126>.

Young, Terry, Laurel Finn, Diane Austin, et Andrea Peterson. 2003. « Menopausal Status and Sleep-Disordered Breathing in the Wisconsin Sleep Cohort Study ». *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 167 (9): 1181-85. <https://doi.org/10.1164/rccm.200209-1055OC>.

Young, Terry, Mari Palta, Jerome Dempsey, James Skatrud, Steven Weber, et Safwan Badr. 1993. « The occurrence of sleep-disordered breathing among middle-aged adults ». *New England Journal of Medicine* 328 (17): 1230-1235.

Young, Terry, Paul E. Peppard, et Daniel J. Gottlieb. 2002. « Epidemiology of Obstructive Sleep Apnea ». *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 165 (9): 1217-39. <https://doi.org/10.1164/rccm.2109080>.

Young, Terry, Eyal Shahar, F. Javier Nieto, Susan Redline, Anne B. Newman, Daniel J. Gottlieb, Joyce A. Walsleben, et al. 2002. « Predictors of Sleep-Disordered Breathing in Community-Dwelling Adults: The Sleep Heart Health Study ». *Archives of Internal Medicine* 162 (8): 893-900.

Yu, Jiajia, Yueliu Zhao, Bingjin Li, Lili Sun, et Hongliang Huo. 2012. « 17 β -Estradiol regulates the expression of antioxidant enzymes in myocardial cells by increasing Nrf2 translocation ». *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology* 26 (7): 264-69. <https://doi.org/10.1002/jbt.21417>.

Yu, Xue, Zhiwei Huang, Yi Zhang, Zhihong Liu, Qin Luo, Zhihui Zhao, Qing Zhao, Liu Gao, Qi Jin, et Lu Yan. 2018. « Obstructive Sleep Apnea in Patients with Chronic Thromboembolic Pulmonary Hypertension ». *Journal of Thoracic Disease* 10 (10): 5804-12. <https://doi.org/10.21037/jtd.2018.09.118>.

Yuan, Guoxiang, Gautam Adhikary, Andrew A. McCormick, John J. Holcroft, Ganesh K. Kumar, et Nanduri R. Prabhakar. 2004. « Role of Oxidative Stress in Intermittent Hypoxia-Induced Immediate Early Gene Activation in Rat PC12 Cells ». *The Journal of Physiology* 557 (Pt 3): 773-83. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2003.058503>.

Zalba, Guillermo, Oscar Beloqui, Gorka San José, María U. Moreno, Ana Fortuño, et Javier Díez. 2005. « NADPH Oxidase-Dependent Superoxide Production Is Associated with

Carotid Intima-Media Thickness in Subjects Free of Clinical Atherosclerotic Disease ». *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 25 (7): 1452-57. <https://doi.org/10.1161/01.ATV.0000168411.72483.08>.

Zelko, Igor N., Thomas J. Mariani, et Rodney J. Folz. 2002. « Superoxide Dismutase Multigene Family: A Comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) Gene Structures, Evolution, and Expression ». *Free Radical Biology & Medicine* 33 (3): 337-49.

Zhang, Min, Ay Lin Kho, Narayana Anilkumar, Rakesh Chibber, Patrick J. Pagano, Ajay M. Shah, et Alison C. Cave. 2006. « Glycated Proteins Stimulate Reactive Oxygen Species Production in Cardiac Myocytes: Involvement of Nox2 (Gp91phox)-Containing NADPH Oxidase ». *Circulation* 113 (9): 1235-43. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.105.581397>.

Zhou, Ying, Xinghu Zhou, Xiaofan Guo, Guozhe Sun, Zhao Li, Liqiang Zheng, Hongmei Yang, et al. 2015. « Prevalence and Risk Factors of Hypertension among Pre- and Post-Menopausal Women: A Cross-Sectional Study in a Rural Area of Northeast China ». *Maturitas* 80 (3): 282-87. <https://doi.org/10.1016/j.maturitas.2014.12.001>.

Zhu, Yan, Zhao Bian, Ping Lu, Richard H. Karas, Lin Bao, Daniel Cox, Jeffrey Hodgin, et al. 2002. « Abnormal Vascular Function and Hypertension in Mice Deficient in Estrogen Receptor Beta ». *Science (New York, N.Y.)* 295 (5554): 505-8. <https://doi.org/10.1126/science.1065250>.

Zoccal, Daniel B., Leni G. H. Bonagamba, Fabíola R. T. Oliveira, José Antunes-Rodrigues, et Benedito H. Machado. 2007. « Increased Sympathetic Activity in Rats Submitted to Chronic Intermittent Hypoxia ». *Experimental Physiology* 92 (1): 79-85. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.2006.035501>.

Annexe A : Cotutelle

Mon projet de doctorat a été réalisé en cotutelle entre la France et le Canada. J'ai eu le privilège de faire partie de deux équipes de recherche différentes mais complémentaires. En France, j'ai travaillé avec le Professeur Vincent Pialoux, dans l'équipe de Biologie Vasculaire et Globules Rouges du Laboratoire Interuniversitaire de Biologie de la Motricité (LIBM), affilié à l'Université Claude Bernard Lyon1. Au Canada, j'ai travaillé dans l'équipe des Drs Aida Bairam et Vincent Joseph, au Laboratoire de Neurophysiologie Respiratoire du Centre de Recherches du Centre Hospitalier Universitaire de Québec, affilié à l'Université Laval, à Québec. Dans un second temps, le laboratoire a déménagé à l'Institut Universitaire de Cardiologie et Pneumologie de Québec. Cette collaboration m'a permis de profiter de l'expertise et de la performance de chacun des laboratoires : le laboratoire Français étant spécialisé dans l'approche cellulaire de la fonction vasculaire en condition hypoxique et pathologique et dans les conséquences cardio-vasculaires du stress oxydatif; et le laboratoire Canadien, spécialisé dans le contrôle de la ventilation, les altérations sympathiques et cardio-respiratoires dans les modèles animaux soumis à l'hypoxie intermittente, et les modulations de ces systèmes par les hormones ovariennes. De plus, j'ai pu collaborer avec le Dr Richard Larivière du Centre de Recherche de l'Hôtel Dieu de Québec. Il nous a accueilli dans son laboratoire afin de nous familiariser avec le montage des anneaux aortiques pour l'enregistrement de la réactivité vasculaire *ex vivo*. Il nous a également apporté ses connaissances et son expertise en ce qui concerne l'hypertension artérielle et le remodelage de la paroi des vaisseaux sanguins. Lors de mon examen de doctorat (juin 2016), il m'a conseillé sur la suite de mon projet et a tourné mon attention sur l'endothéline-1.

Pour mener à bien ce projet de doctorat, la complémentarité des compétences des deux équipes a été un atout majeur. Ainsi, nous avons été en mesure d'élaborer un modèle animal d'hypoxie intermittente avec des traitements hormonaux, de comprendre les conséquences cardio-vasculaires de l'hypoxie intermittente, et d'en décrire certains mécanismes. Ce projet a été une opportunité unique de mettre en commun les expertises et les modèles expérimentaux de ces 2 équipes de recherche pour répondre à des questions primordiales et mieux comprendre les interactions entre les hormones ovariennes et les conséquences cardio-vasculaires de l'hypoxie intermittente dans un modèle animal d'apnée du sommeil.

Annexe B : Publications

1. **Ribon A.**, Pialoux V., Saugy J. J., Rupp T., Faiss R., Debevec T., & Millet G. P. (2016). Exposure to hypobaric hypoxia results in higher oxidative stress compared to normobaric hypoxia. *Respiratory physiology & neurobiology*, 223, 23-27.
2. Debevec T., Pialoux V., Ehrström S., **Ribon A.**, Eiken O., Mekjavić I. B., & Millet G. P. (2016). FemHab: The effects of bed rest and hypoxia on oxidative stress in healthy females. *Journal of applied physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, jap-00919.
3. Boukari R., Laouafa S., **Ribon-Demars A.**, Bairam A., & Joseph V (2017). Ovarian steroids act as respiratory stimulant and antioxidant against the causes and consequences of sleep apnea in women. *Respiratory Physiology & Neurobiology*, 239 (0): 46-54.
4. Laouafa S., **Ribon-Demars A.**, Marcouiller F., Roussel D., Bairam A., Pialoux V., & Joseph V. (2017). Estradiol protects against cardiorespiratory dysfunctions and oxidative stress in intermittent hypoxia. *Sleep*. Compléter la Ref
5. **Ribon-Demars A.**, Pialoux V., Boreau A., Marcouiller F., Larivière R., Bairam A., & Joseph V (2018). Protective roles of estradiol against vascular oxidative stress in ovariectomized female rats exposed to normoxia or intermittent hypoxia. *Acta Physiologica*, e13159.

Annexe C : Congrès

1. Laouafa S., **Ribon A.**, Marcouiller F., Roussel D., Bairam A., Joseph V. (2015). Estradiol prevents cardio-respiratory dysfunction induced by chronic intermittent hypoxia in female rats. *APS Conference, Cardiovascular, renal and metabolic diseases: Physiology and gender*, Anapolis, MD (USA), November 17th – 20th 2015 ([affiche](#)).
2. **Ribon A.** (2016). Implication of estradiol in the prevention of hemodynamic disorders induced by intermittent hypoxia: sleep apnea. *Symposium de la Société Legallois pour l'étude du contrôle respiratoire*, Orford, Québec (Canada), 19 au 21 Février 2016 ([présentation orale](#)).
3. Laouafa S., Pialoux V., **Ribon A.**, Roussel D., Bairam A., Joseph V. (2016). Estradiol prevents brain oxidative stress induced by chronic intermittent hypoxia in female rats. *America Thoracic Society Conference*, San Francisco, California (USA), May 13th -18th 2016 ([affiche](#)).
4. **Ribon A.**, Marcouiller F., Laouafa S., Pialoux V., Joseph V., Bairam A. (2016). Effets vasculaires de l'estradiol dans un modèle d'apnée du sommeil induit par l'hypoxie intermittente chronique. *Journée de la recherche en santé*, Université Laval, Faculté de Médecine, Québec (Canada), 25 et 26 mai 2016 ([affiche](#)).
5. **Ribon A.**, Laouafa S., Pialoux V., Joseph V., Bairam A. (2016). Estradiol prevents endothelial dysfunction in an animal model of sleep apnea. *15th World Congress on Menopause*, Prague (Czech Republic), September 28th – October 1 2016 ([présentation orale](#)).
6. **Ribon A.**, Joseph V., Bairam A., Pialoux V. (2016). Vascular effects of estradiol in an animal model of sleep apnea. *Hypoxia*, Nantes (France), October 6-7th 2016 ([présentation orale](#)).
7. **Ribon-Demars A.**, Marcouiller F., Laouafa S., Pialoux V., Joseph V., Bairam A. (2016). Effets vasculaires de l'estradiol dans un modèle d'apnée du sommeil induit par l'hypoxie

intermittente chronique. *Congrès Québécois en Santé Respiratoire*, Montréal (Canada), 2 au 5 Novembre 2016 (présentation orale).

8. **Ribon-Demars A.**, Marcouiller F., Joseph V., Pialoux V., Bairam A. (2017). L'estradiol prévient la dysfonction endothéliale et l'hypertension induite par l'hypoxie intermittente chez la rate ovariectomisée. *Journée scientifique de l'Institut Universitaire de Cardiologie et Pneumologie de Québec*, Québec (Canada), 7 et 8 juin 2017 (affiche).

9. **Ribon-Demars A.**, Marcouiller F., Joseph V., Pialoux V., Bairam A. (2017). Estradiol prevents vascular dysfunction and hypertension induced by intermittent hypoxia in female rats. *15th International Symposium on Sleep and Breathing*, Madison (USA), July 16th – 19th 2017 (présentation orale).

10. **Ribon-Demars A.**, Marcouiller F., Joseph V., Pialoux V., Bairam A. (2017). L'exposition prolongée de 35 jours à une hypoxie intermittente ne modifie pas la réactivité vasculaire de l'aorte. *Biennale de l'espace francophone de pneumologie 2017*, Québec (Canada), 12 au 14 Octobre 2017 (affiche).

Annexe D : Encadrement étudiant

Anaëlle Boreau, étudiante en Master Biologie Intégrative, dans le cadre de son stage de recherche. Encadrement pour les dosages de stress oxydatif.