

# Modèles expérimentaux dans l'HTA

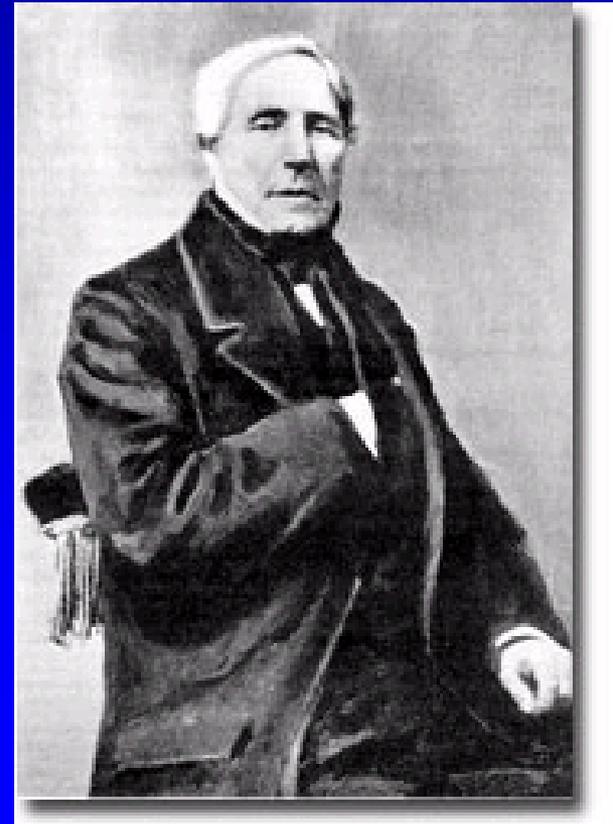
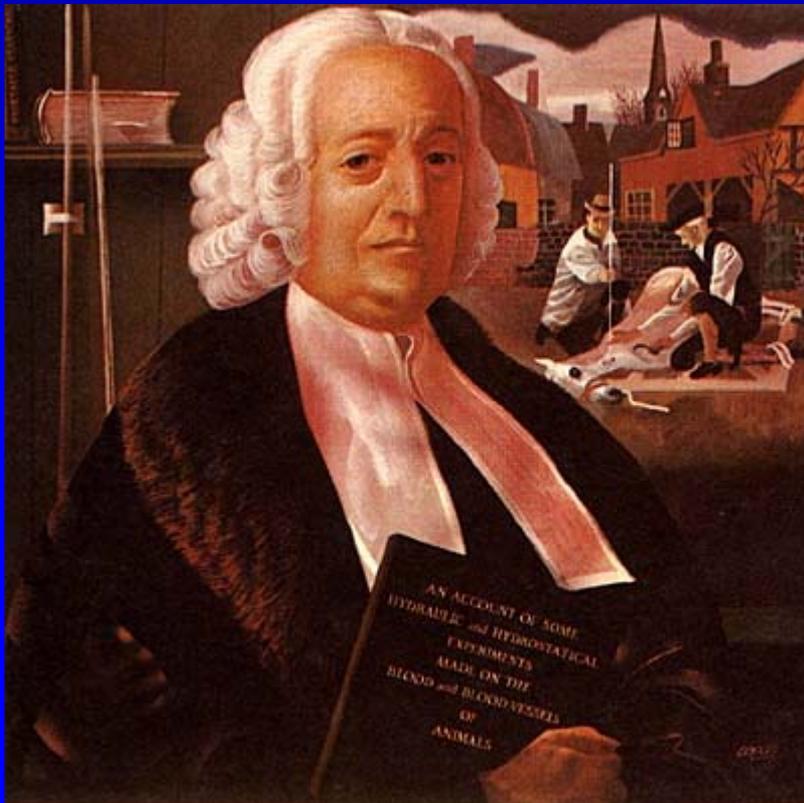
*(la vision d'un clinicien)*

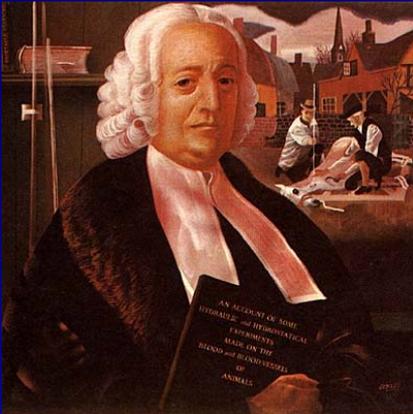
Jean-Michel Halimi, Tours

3 décembre 2010

# SAVOIR MESURER LA PRESSION ARTERIELLE

Les premières mesures de pression artérielle, celles de Hales en 1733 et celles de Poiseuille en 1828, sont effectuées chez la jument et le chien.





« Il ne faut pas croire que le sang jaillit tout à coup à cette hauteur. Il apparaît que quand le niveau eut atteint la plus grande hauteur il y balançait, montant et descendant de 2, 3, 4 pouces et quelques fois on le voyait s'abaisser de 12 ou 14 pouces, y balançant de même à chaque pulsation du cœur »

Hales S. 1744

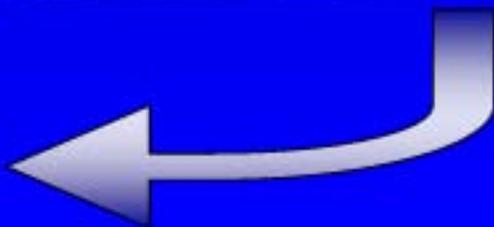
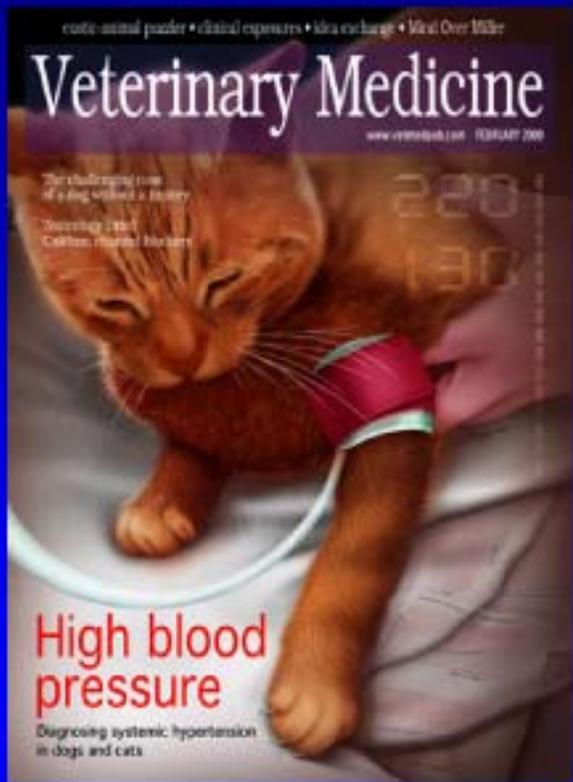


Variabilité de la pression

Les premières mesures de pression artérielle, chez l'homme en 1856, Faivre (Lyon)



115 - 120 mmHg



# Que voulons-nous pour nos patients?

- Prévenir l'apparition de l'HTA
- Leur éviter ses complications

Ce qui sous-entend

- Comprendre sa physiopathologie
- Elucider la relation entre PA et ses complications
- Prévoir les effets des antihypertenseurs à un échelon individuel

# Que connaissons-nous de l'HTA ?

- **Sa cause?**
  - 95% des cas: inconnue (mais cette forme d'HTA a un nom: HTA ESSENTIELLE...)
  - 5%: cause identifiée (surrénales, rein, artères, ...)
- **Son pronostic à un échelon individuel?**
  - QUI fera une complication?
  - LAQUELLE ?
- **Savons-nous identifier la réponse à un traitement anti-hypertenseur donné à un échelon individuel?**
  - Pas vraiment...

# Epidémiologie:

## Les paramètres associés à l'HTA

- **Génétiques**
  - Agrégation familiale
  - Race
- **Environnementaux**
  - Apport sodé excessif
  - Obésité
  - Age
  - Sédentarité
  - Exposition à des agents divers (régliste, ...)
  - ...

# Pathophysiologie:

## les mécanismes impliqués dans l'HTA (non exhaustif)

- **Hémodynamique rénale**
  - réduction du flux sanguin rénal mais débit de filtration glomérulaire normal
- **Endothélium**
  - dysfonctionnement endothélial
- **Vasculaire**
  - raréfaction capillaire; remodelage vasculaire
- **Système nerveux sympathique**
  - rôle du baro-réflexe
- **Système rénine angiotensine aldostérone**

# Modèles expérimentaux

- **Il n'y a pas une HTA humaine, mais différentes formes**
  - HTA du sujet jeune maigre Caucasien de 25 ans
  - HTA systolique isolée du sujet âgé
  - HTA chez un sujet obèse de 60 ans
  - HTA sur sténose de l'artère rénale
  - HTA avec hyperaldostéronisme primaire...
- **Il n'y a pas un modèle expérimental, mais différents modèles pour explorer ces différentes formes**
- **Permettent d'analyser les différents aspects de l'étude de l'HTA**
  - Génétique
  - Pathophysiologie
  - Pharmacologie



*Rattus Norvegicus* (Alex) on an ABI 3700.  
composite photo: Martin Krzywinski (martink@bcgsc.ca)

**PE** Applied Biosystems  
HITACHI

Metro Goldwyn Mayer



TRADE

MARK



starring Guinness

# Vous avez décidé de créer un modèle expérimental d'HTA (I)

- **Quelle HTA?**
  - Essentielle ou secondaire? ...
- **Choix de l'espèce**
  - HTA spontanée: dindon, chien, rat ou primate
  - HTA secondaire: ex: Goldblatt: chien et rat
  - HTA par manipulation génétique: rat et souris (souris knock-out ou transgéniques)

# Développement de modèles expérimentaux pour comprendre les différentes formes d'HTA

Experimental Hypertension	Clinical Hypertension
Spontaneous hypertension	Essential hypertension
Renal artery stenosis hypertension	Renal artery stenosis
Overdosage of glucocorticoids	Cushing syndrome
Overdosage of mineralocorticoids	Primary aldosteronism
Overdosage of salt	Chronic high salt intake
Obesity related hypertension	Obese hypertension
Uterine ischaemia	Preeclampsia
Reduced renal mass	Renal diseases

# Vous avez décidé de créer un modèle expérimental d'HTA (II)

- **Mesurer la PA**

- Mesure invasive: cathétérisme artériel

- Mesures précises et répétées de la PAS, PAD, PAM (court terme ou long terme)
    - Animal éveillé ou anesthésié
    - Cathéter fixe ou télémétrie

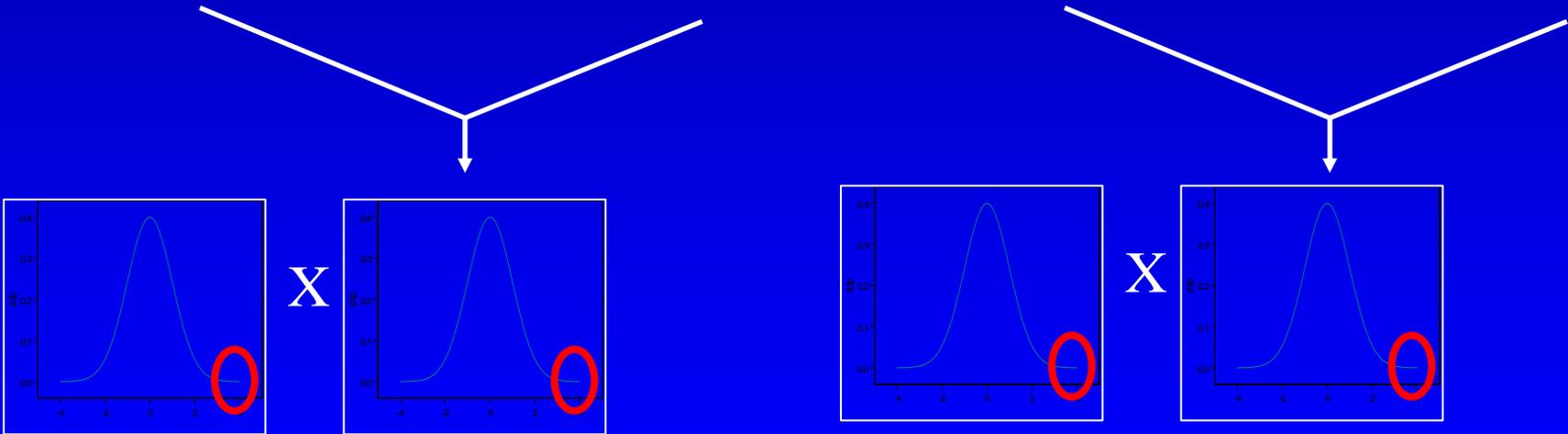
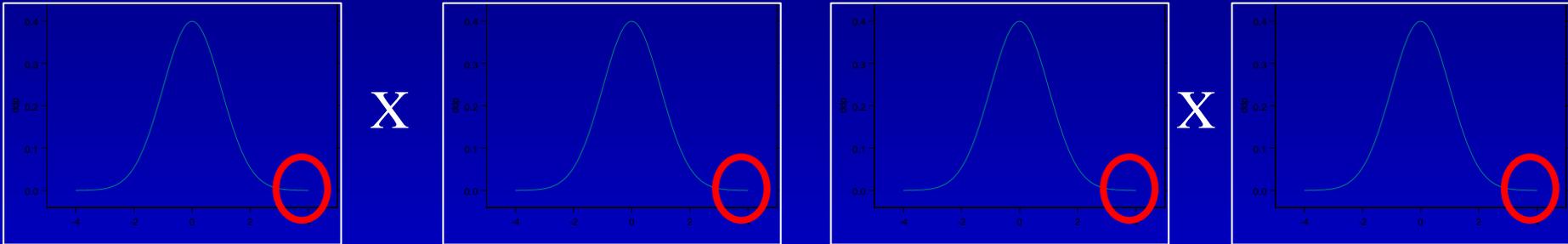
- Mesure non invasive

- Pulsations artérielles en aval d'un manchon
    - Mesure peu précise de la PAS, PAD, PAM (chauffe de l'animal)

# L'HTA a un composant génétique évident

Vous voulez créer des modèles de  
rats génétiquement hypertendus

# Pression de sélection



...

17 à 20 générations

...

# Principes généraux de la constitution de modèles génétiques de rats hypertendus

- **Pression de sélection**

- Croisements entre eux des rats d'une colonie
  - 17- 20 générations de consanguinité
- > Déplacement progressif de la moyenne du niveau tensionnel de la population sélectionnée vers l'HTA
- ~ 95% homozygotes
- Créer aussi une ligne de rats normotendus (voire hypotendus)

- **Problème habituel**

- Risque permanent de dérive vers l'hétérozygotie
  - Choix des reproducteurs en fonction de leur niveau tensionnel

# Rats spontanément hypertendus: souches les plus utilisées (I)

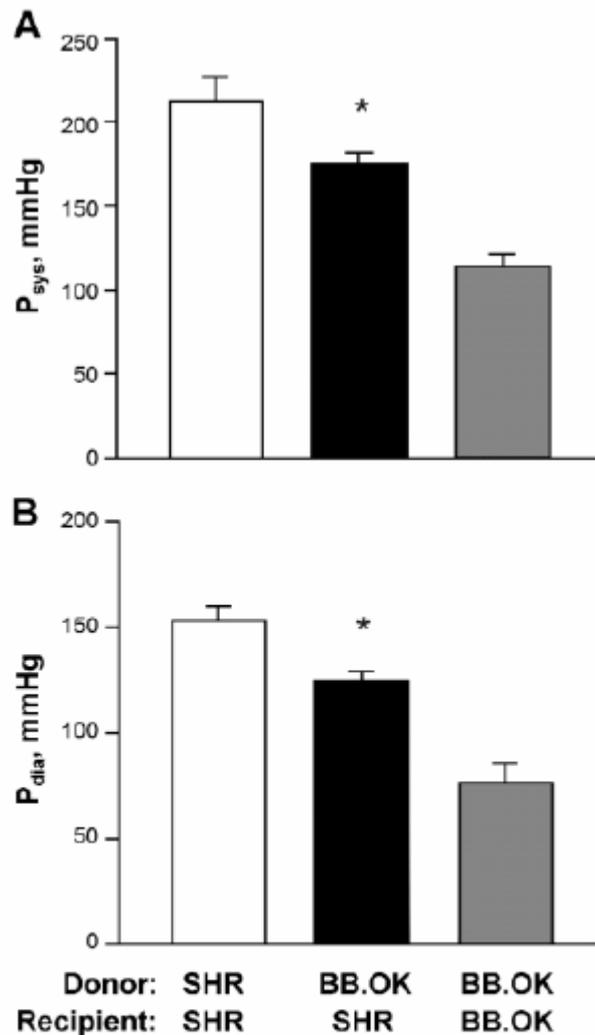
- **SHR (spontaneously hypertensive rats)**

- HTA très sévère et très précoce
- Rénine normale ou élevée (non basse)
- Système nerveux sympathique élevé
- Paradoxalement peu de complications
- Contrôle: Wistar Kyoto (WKY) Okamoto

- **SP-SHR (Stroke Prone)**

- HTA précoce très sévère en alimentation riche en sel (4% à 8% NaCl)
- Rénine normale ou élevée (non basse)
- AVC très fréquents - Thromboses vasculaires – Néphroangiosclérose
- Durée de vie: 18 à 24 mois

# L'HTA suit le rein



**FIGURE 3.** Systolic ( $P_{sys}$ ; A) and diastolic ( $P_{dia}$ ; B) arterial pressure in conscious, freely moving rats 6 wk after renal transplantation. SHR were transplanted with kidneys from genetically normotensive Biobreeding/Ottawa Karlsburg rats (BB.OK;  $n = 15$ ). Control SHR ( $n = 11$ ) and BB.OK ( $n = 8$ ) were transplanted with a renal isograft. Native kidneys were removed in all animals, and treatment with an anti-CD4 antibody and cyclosporine was performed. \* $P < 0.05$  vs. control groups. Reprinted from Ref. 15 with permission.

# Rats spontanément hypertendus: souches les plus utilisées (II)

- **Rats Milan**
  - Glomérulosclérose précoce
- **Rats Lyon**
  - LH, LN (normotendus) et LL (rats « hypotendus »)
  - Hypercholestérolémiques
- **Rats Sabra**
- **Rats GH (NZ)**

Rats génétiquement déterminés pour être hypertendus lorsqu'ils reçoivent du sel

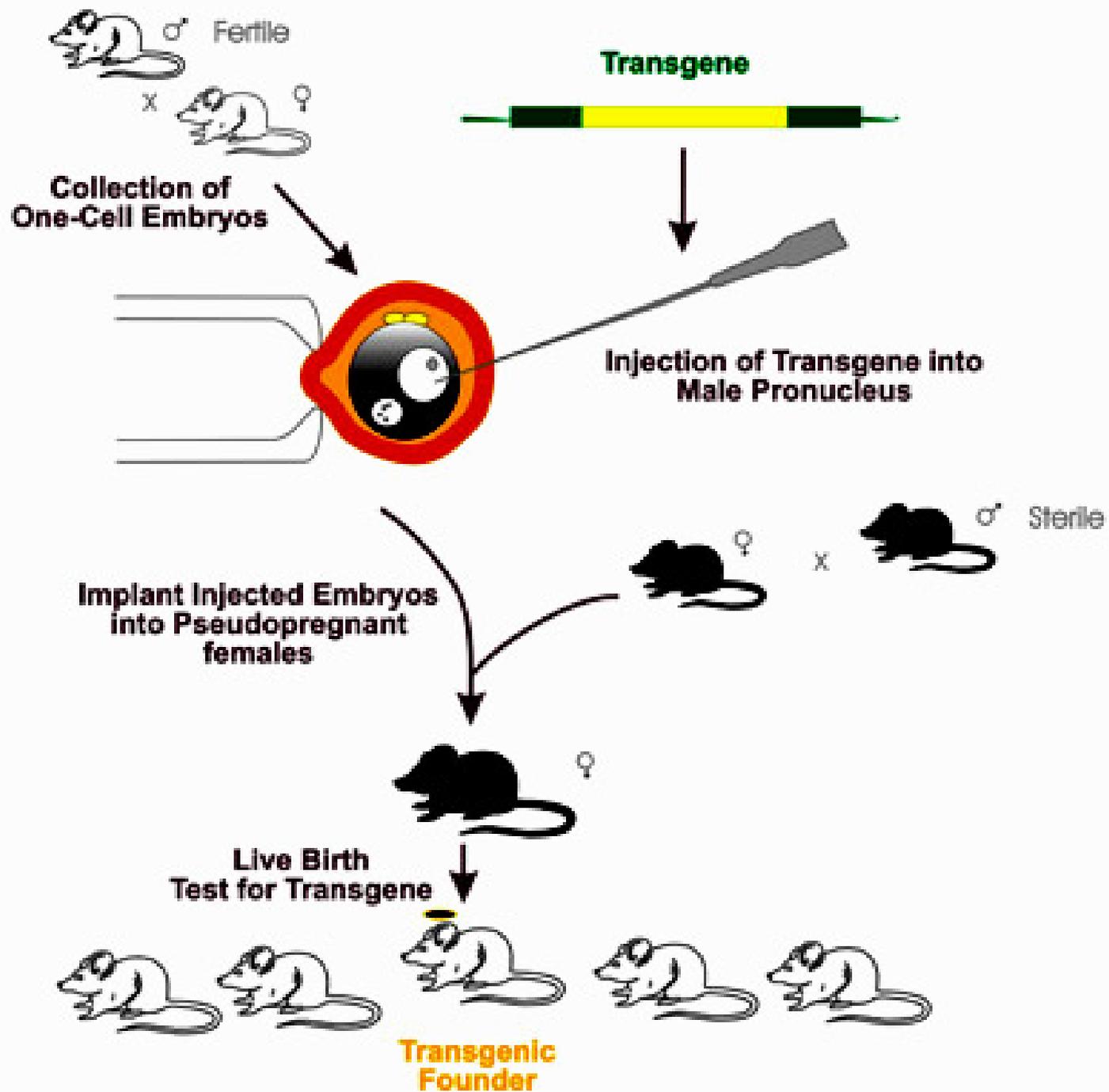
- **Rats Dahl**

- 8% sel dans l'alimentation
- Rats Dahl sensible (S)
- Rénine basse: modèle d'HTA volo-dépendante
- Rats Dahl résistants (R): contrôles
- Rôle majeur de la diminution de la production de monoxyde d'azote (NO)

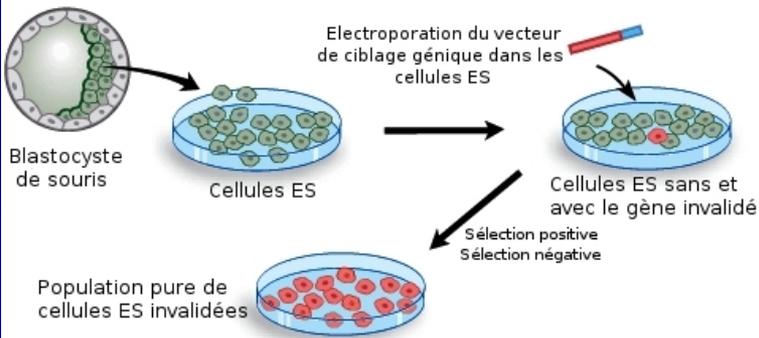
# Modulation des gènes d'un animal pour développer une HTA

- **Animaux transgéniques**
  - Intégration au niveau du génome d'un gène codant pour une protéine -> surexpression de ce gène
  - Ex: Ren2: HTA maligne
- **Animaux invalidés (knock out) – uniquement la souris**
  - Toutes les protéines sont potentiellement concernées
  - Ex: NO Synthase KO, récepteurs AT1 ou AT2 de l'angiotensine II, ...
- **Surexpression ou invalidation ubiquitaire**
  - Utilisation à long terme est dictée par la pertinence du modèle

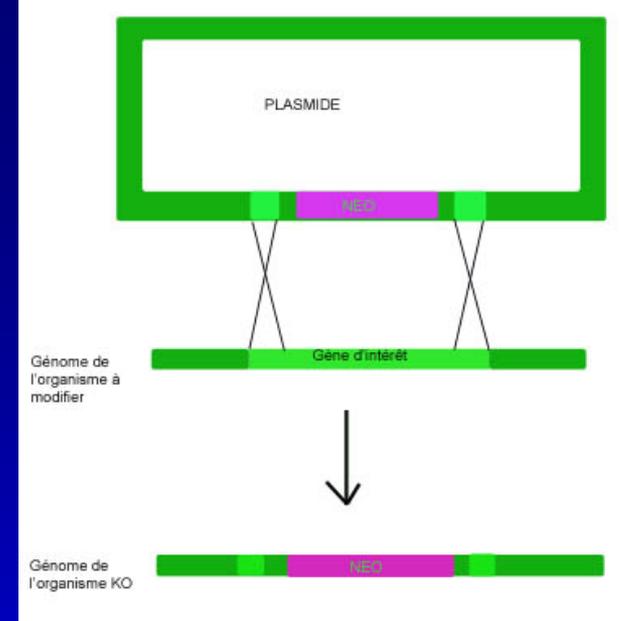
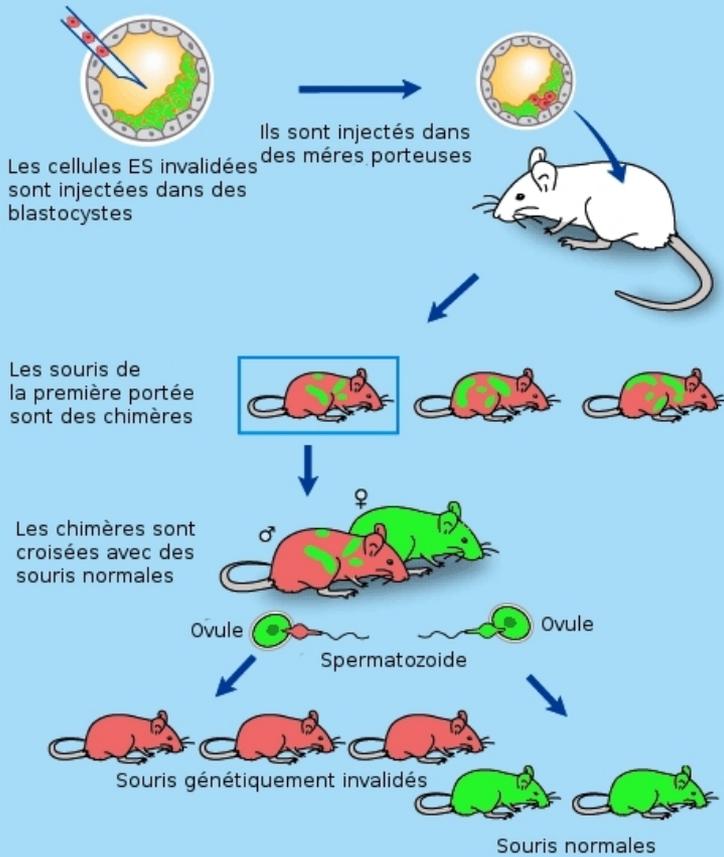
An.  
Transg.



## A. Invalidation génique dans les cellules souches embryonnaires (ES)

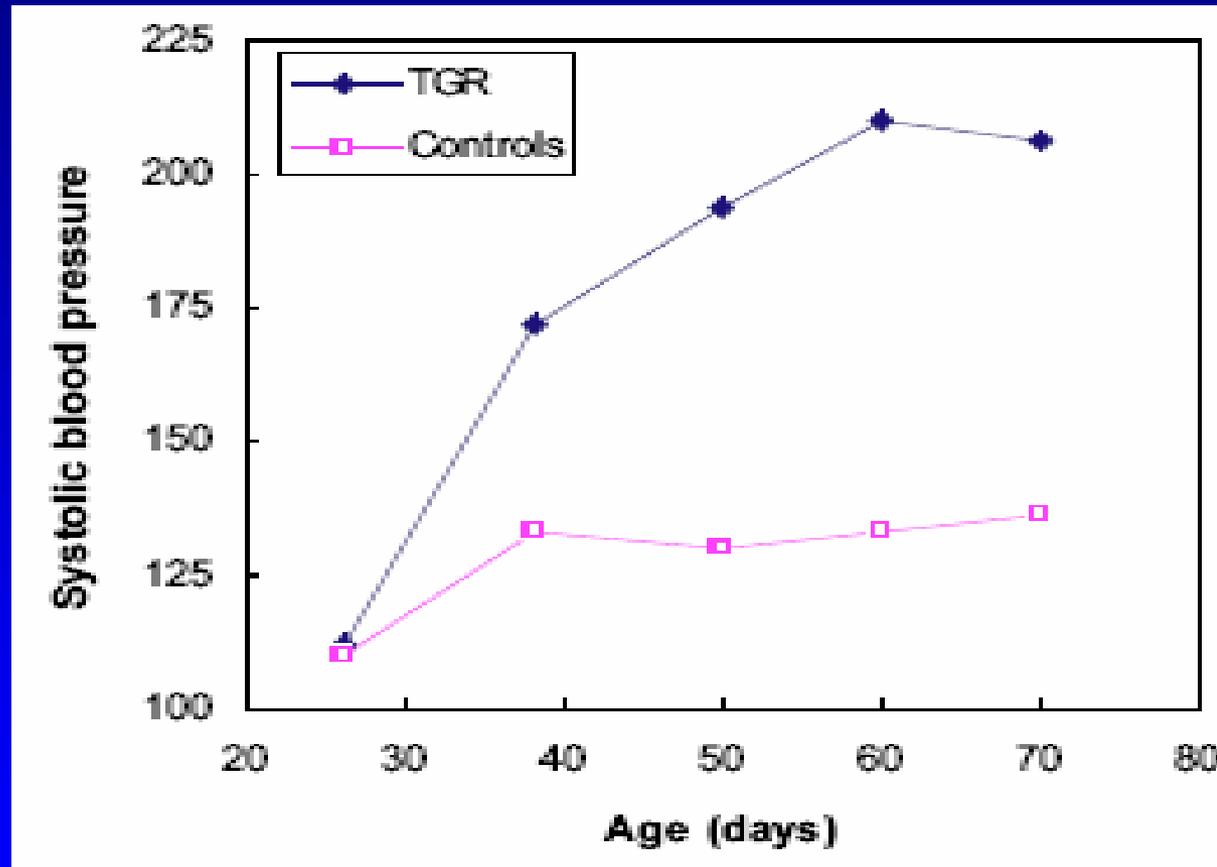


## B. Création d'une souris génétiquement invalidée



- **Animaux invalidés (knock out) – uniquement la souris**
  - Toutes les protéines sont potentiellement concernées
  - Ex: NO Synthase KO, récepteurs AT1 ou AT2 de l'angiotensine II, ...
- **Surexpression ou invalidation ubiquitaire**
  - Utilisation à long terme est dictée par la pertinence du modèle

# « Fulminant hypertension in transgenic rats harbouring the mouse Ren-2 gene »



## Elevated blood pressures in mice lacking endothelial nitric oxide synthase

(gene disruption/heart rate/renin concentration/lipopolysaccharide)

EDWARD G. SHESELY\*, NOBUYO MAEDA\*, H.-S. KIM\*, KAUSHIK M. DESAI†, JOHN H. KREGE\*‡, VICTOR E. LAUBACH§, PAULA A. SHERMAN‡, WILLIAM C. SESSA†, AND OLIVER SMITHIES\*¶

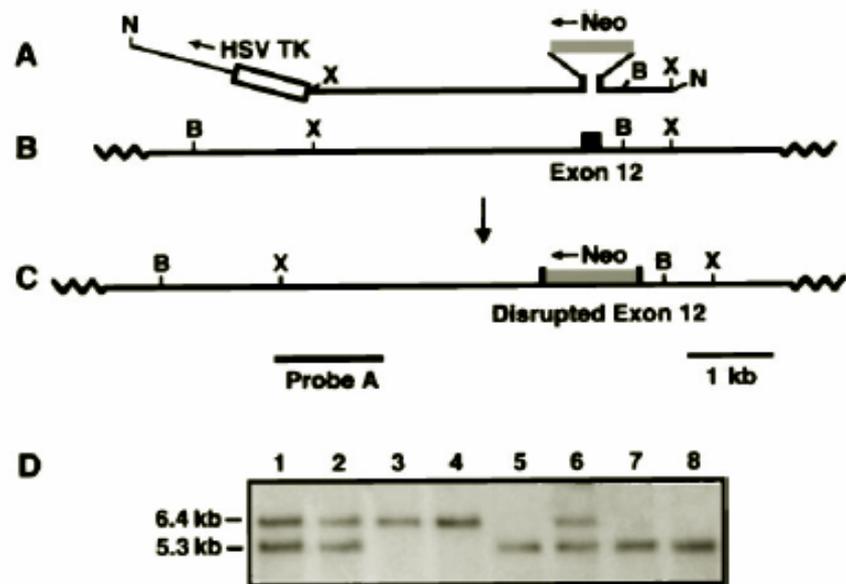
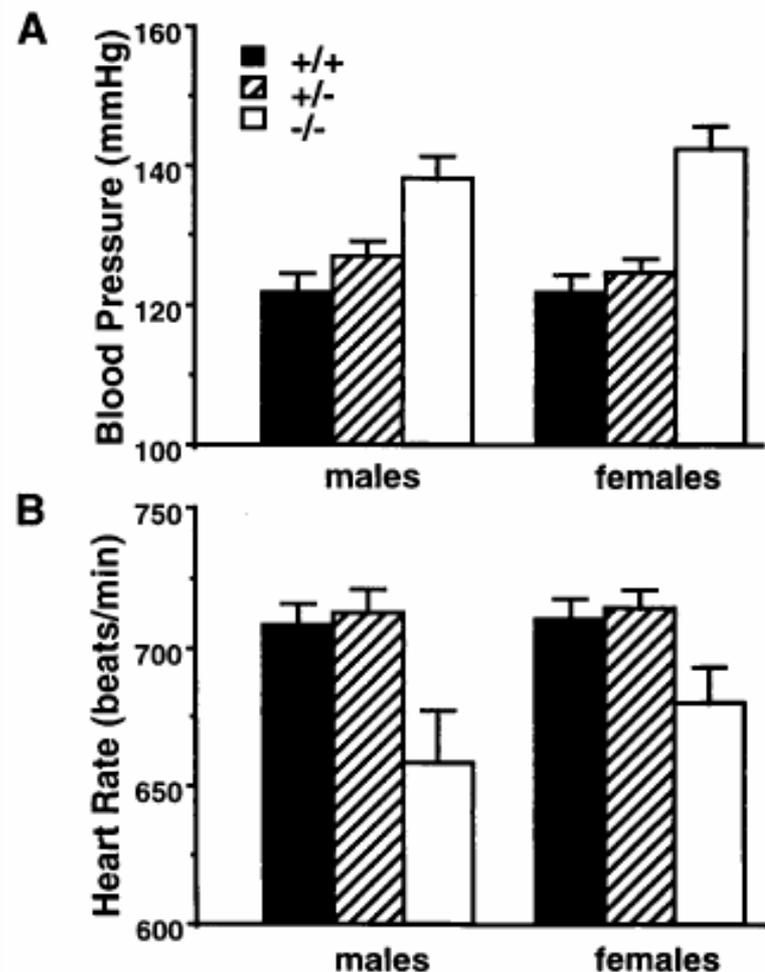
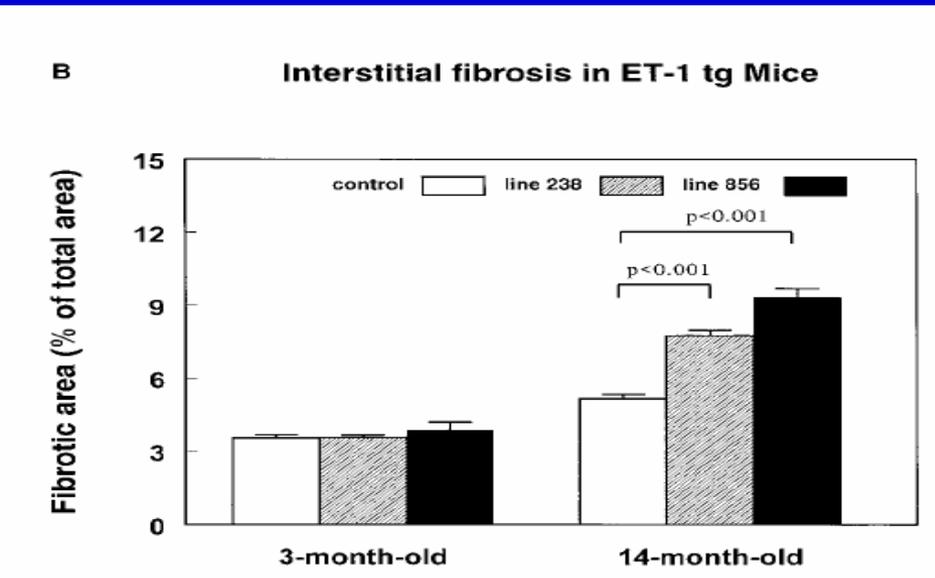
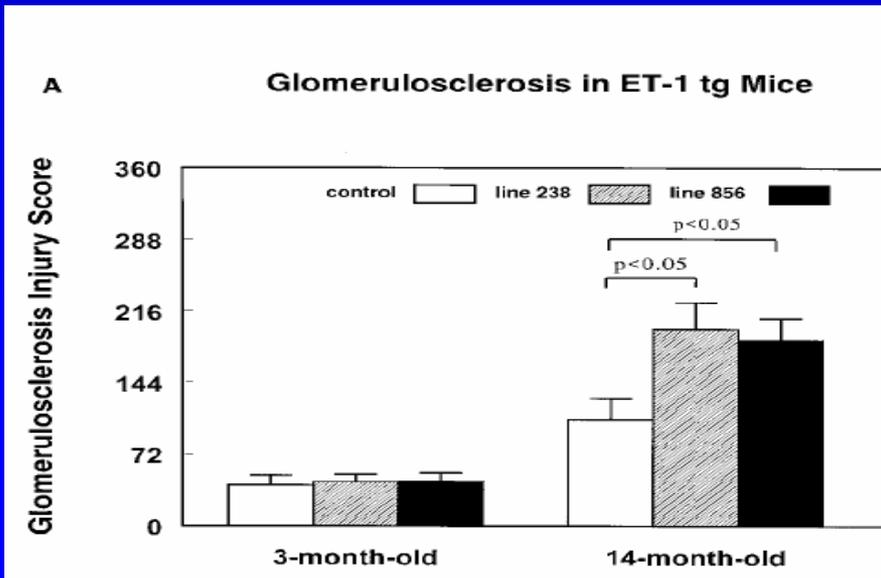
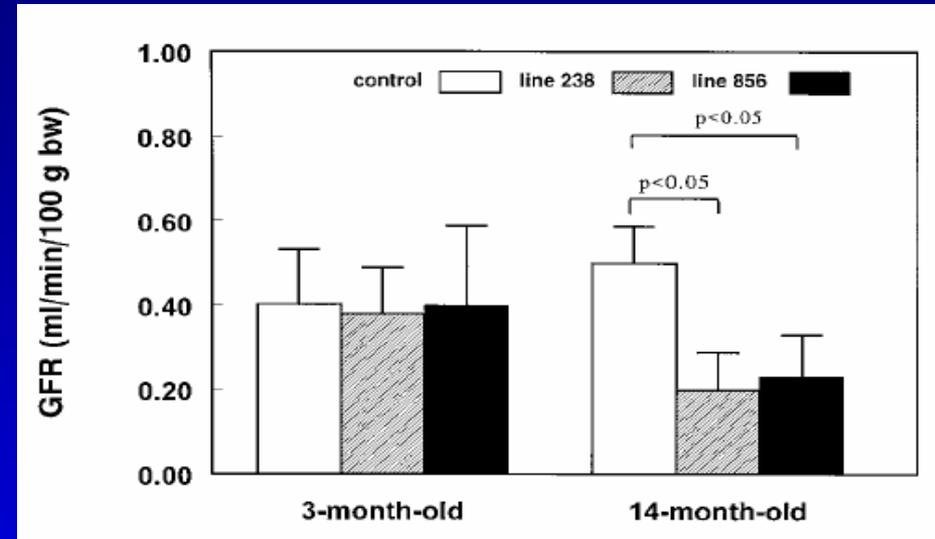
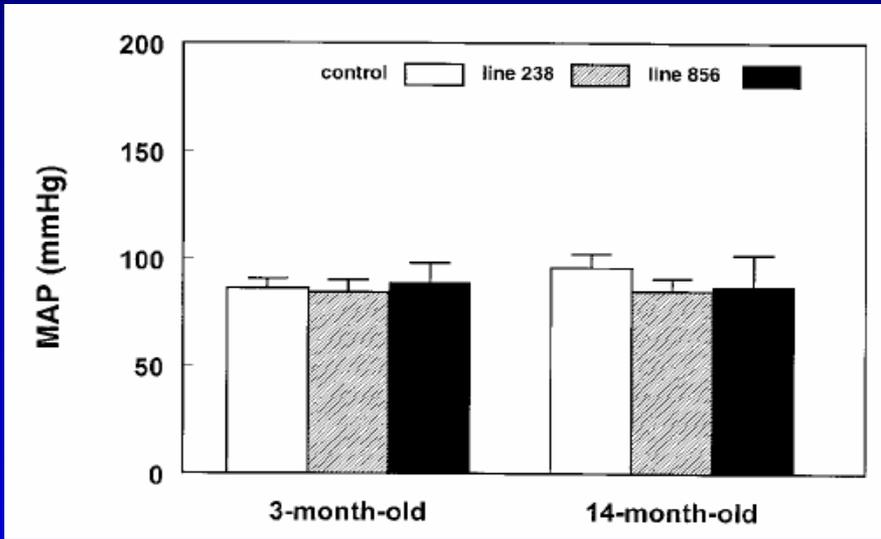


FIG. 1. eNOS targeting strategy. (A) Targeting construct pE-NOSX. The heavy line represents eNOS genomic sequences with the disrupted exon 12 indicated by solid bars. Shaded and open boxes represent the neo (neomycin resistance) gene and herpes simplex virus thymidine kinase genes, respectively. The thin line is plasmid vector (not to scale). (B) Portion of the endogenous murine eNOS gene. (C) Correctly targeted eNOS gene. (D) Southern blot, hybridized to probe A (indicated by a horizontal bar), of *Bam*HI digested genomic DNA from offspring of an eNOS  $+/-$   $\times$  eNOS  $+/-$  mating. The 5.3-kb band indicates a wild-type eNOS gene while the 6.4-kb band indicates a disrupted eNOS gene. B, *Bam*HI; N, *Not*I; X, *Xba*I.



# La souris transgénique recevant le gène de l'endothéline-1 humaine n'est pas hypertendue!

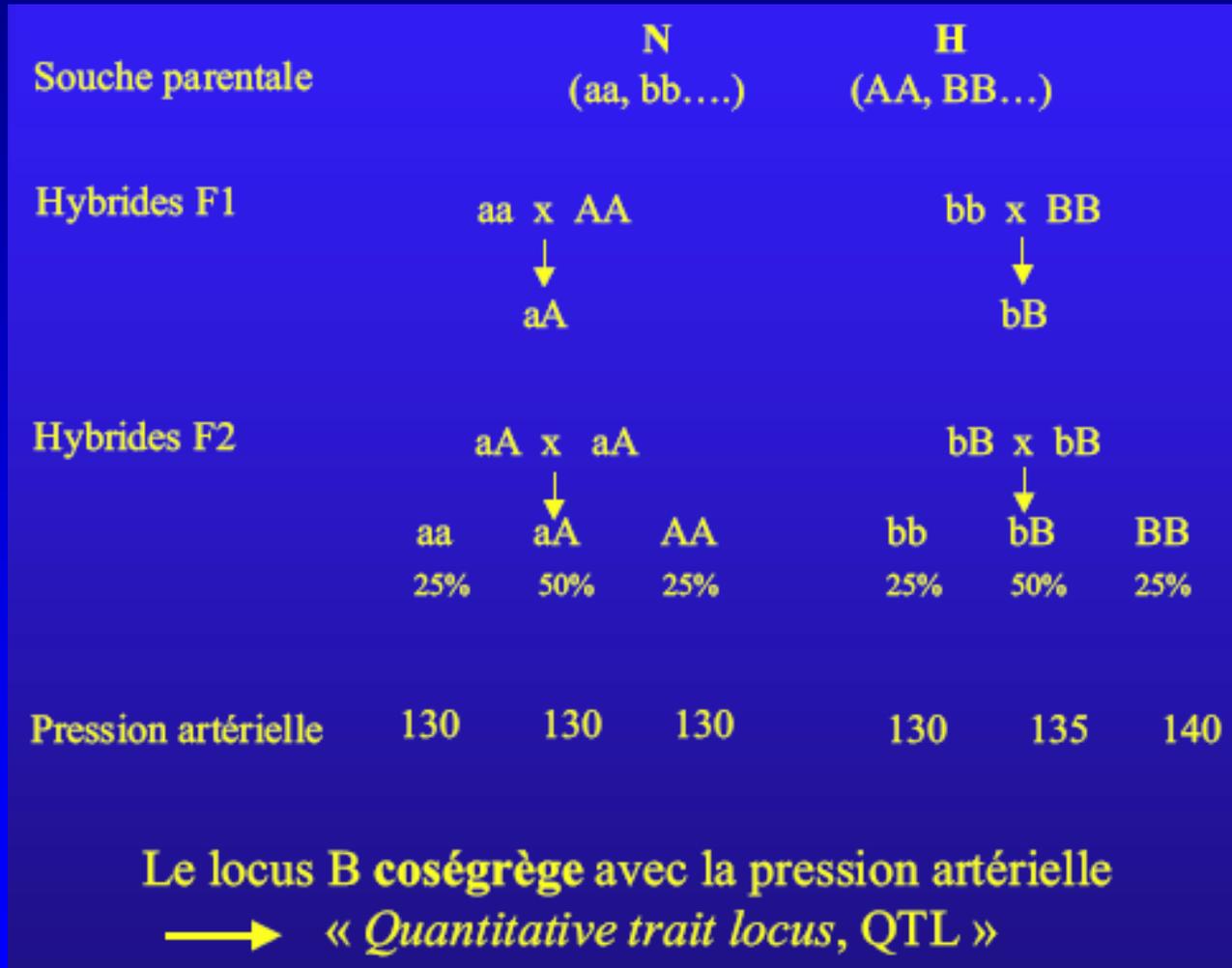


# Intérêt des modèles expérimentaux à l'étude de la génétique de l'HTA humaine

- **Stratégie**

- Etudes de liaison génétique (linkage analysis)
  - > teste le caractère dépendant ou indépendant de la transmission d'un marqueur polymorphique avec le trait quantitatif mesuré

# Etudes de coségrégation



# Rats Milan: variance de la PA expliquée par des loci identifiés

	chr 1	chr 10	chr 14	chr 20
Locus	D1Rat121	D10Rat33	<i>Add1</i>	D20Rat40
Phenotype	Direct SBP	Indirect SBP	Direct SBP	Indirect SBP
Max LOD	3.3	5	3.2	3
NN	144.8±1.4	149.1±0.8	143.5±1.3	154.1±1.0
NH	147.3±1.1	151.1±0.7	148.9±1.0	151.2±0.6
HH	152.4±1.3	155.4±1.1	150.5±1.6	149.4±0.8
% Vp*	6	9	6	6
ANOVA P†	0.0006	0.0001	0.0009	0.001

NN indicates homozygotes for MNS allele; NH, heterozygotes; HH, homozygotes for MHS allele. Blood pressure values are expressed in mean±SEM mm Hg.

\*Percentage of phenotypic variance explained with the single QTL.

†P value obtained with 1-way ANOVA.

# L'HTA a un composant environnemental évident

Vous voulez créer des modèles (non  
génétiques) de rats hypertendus

# HTA rénovasculaire



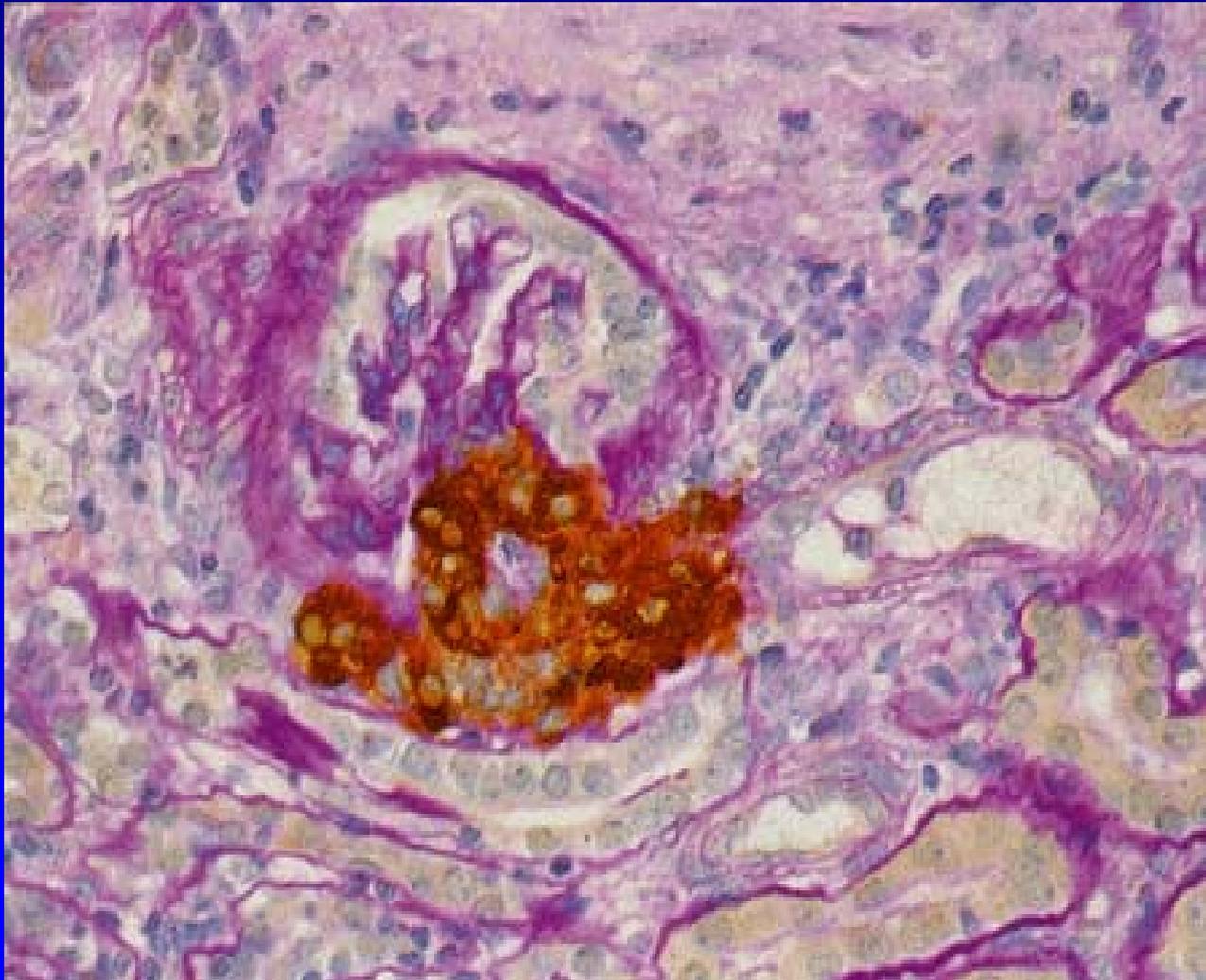
# Modèles d'HTA rénovasculaire

- **Expériences de Goldblatt (1934)**
  - 1-Kidney, 1 clip
    - volume dépendant, rénine basse
  - 2-Kidney, 1 clip
    - rénine dépendant
  - 2-Kidney, 2 clip
    - rénine basse
- **Initialement: modèle d'HTA essentielle**
- **A l'origine de la découverte du SRAA**



FIG. 1. Harry Goldblatt and "Flossie," research dog hero of the year, about 1955. Dr. Goldblatt was in his sixties, and Flossie was about the same in dog years.

Hyperplasie / hypertrophie de l'appareil juxta-glomérulaire au cours d'une HTA rénovasculaire  
*(immunoperoxydase anti-rénine)*



# Modèles d'HTA par administration de minéralocorticoïde et de sel

- **Modèle DOCA- salt**
  - Uni-néphrectomie + DOCA + NaCl (1%)
  - Rénine effondrée, rétention hydrosodée
  - HTA volo-dépendante

# Modèles d'HTA par administration d'un vasoconstricteur

- **Cyclosporine**

- Marmoset, chien, rat
- HTA volo-dépendante ou rénine dépendante selon dose et modèle

- **Angiotensine II**

- Selon la dose HTA administrée: HTA minime -> HTA maligne

# Modèles d'HTA par administration d'un antagoniste d'un vasodilatateur

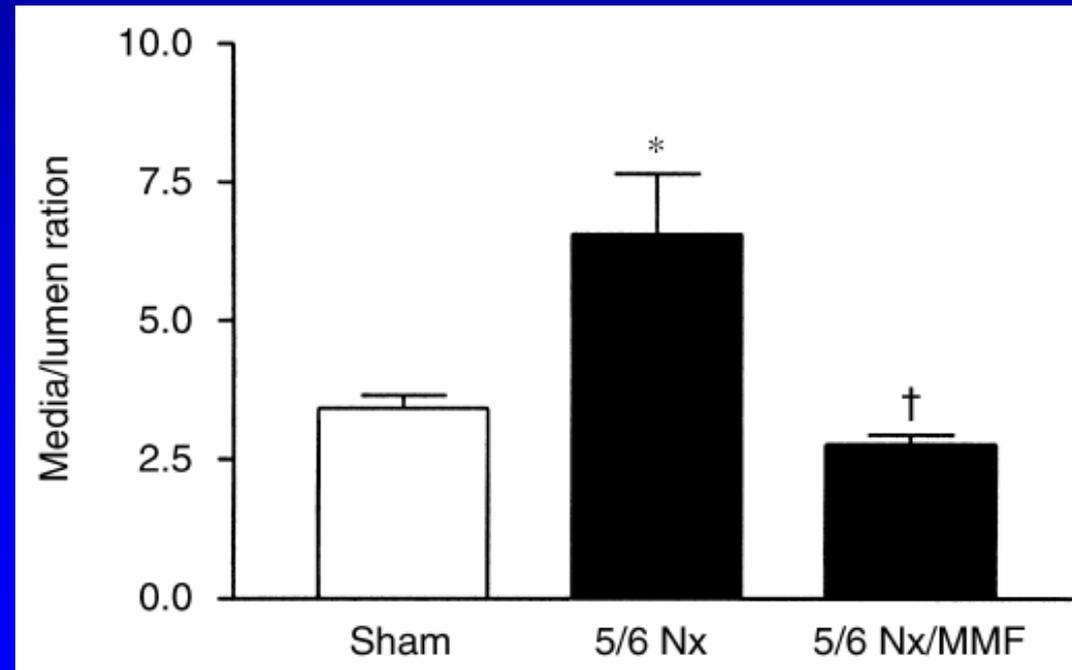
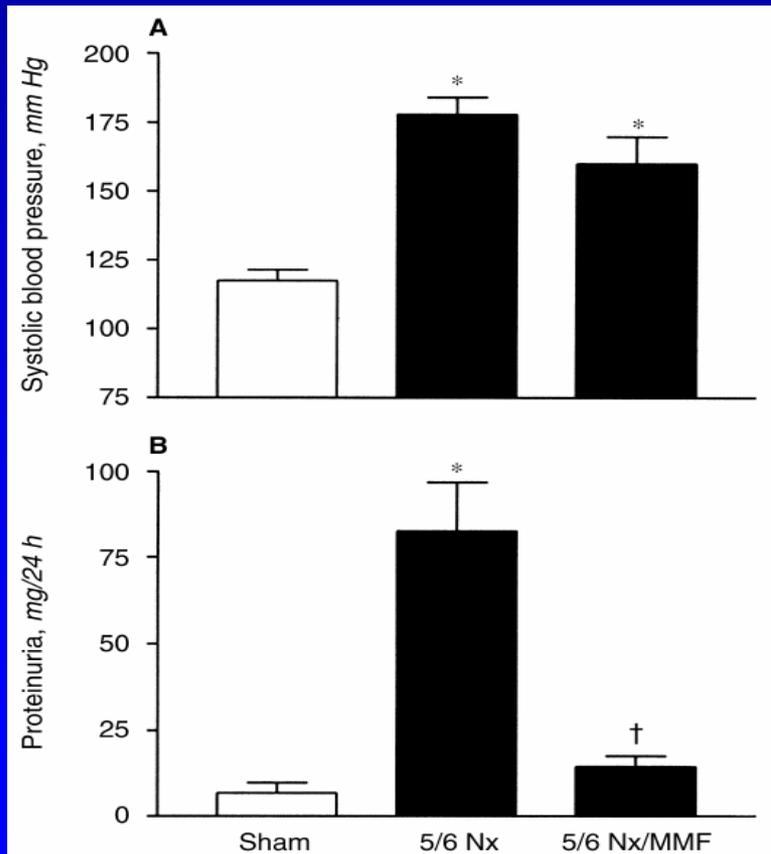
- **L-NAME**

- Antagoniste du NO
- Modifie la relation pression – natriurèse
- HTA sensible au sel
- Rénine normale ou basse
- Forte mortalité à 3 mois

# Modèles d'HTA et d'atteinte rénale

- **Néphrectomie des 5-6<sup>e</sup>**

- HTA, protéinurie puis insuffisance rénale



# Autres modèles

- **New England Deaconess Hospital rat line**
  - Phéochromocytome spontané
- **Inhibition de la Glutathione synthétase**
  - HTA sévère par augmentation du stress oxydant
- **Rat VDN (Vitamine D+Nicotine)**
  - HTA systolique isolée (calcification des vaisseaux)

**Intérêt pour expliquer des  
situations cliniques**

### Flash Pulmonary Edema heralding Renal Artery Stenosis

Shehzad Basaria, MD; Herbert L. Fred, MD

A 41-year-old woman was referred for evaluation of long-standing, poorly controlled systemic hypertension. Her medical records disclosed that she had suffered numerous bouts of pulmonary edema that always came on abruptly and resolved rapidly. Between these bouts, she was asymptomatic, and her only physical abnormality was the persistently elevated blood pressure. Her interim chest radiographs, echocardiograms, urinalyses, and serum creatinine concentrations were normal.

These findings were diagnostic of so-called "flash" pulmonary edema, a potentially reversible condition frequently associated with occlusive disease of the renal arteries (usually both). We, therefore, obtained a magnetic resonance angiogram that showed bilateral renal artery stenosis (Figure 1). After angioplasty of the affected arteries and placement of stents therein (Figure 2), her blood pressure normalized. She has remained free of pulmonary edema for 3 years.



Figure 1. Magnetic resonance angiogram showing bilateral renal artery stenosis (arrows).

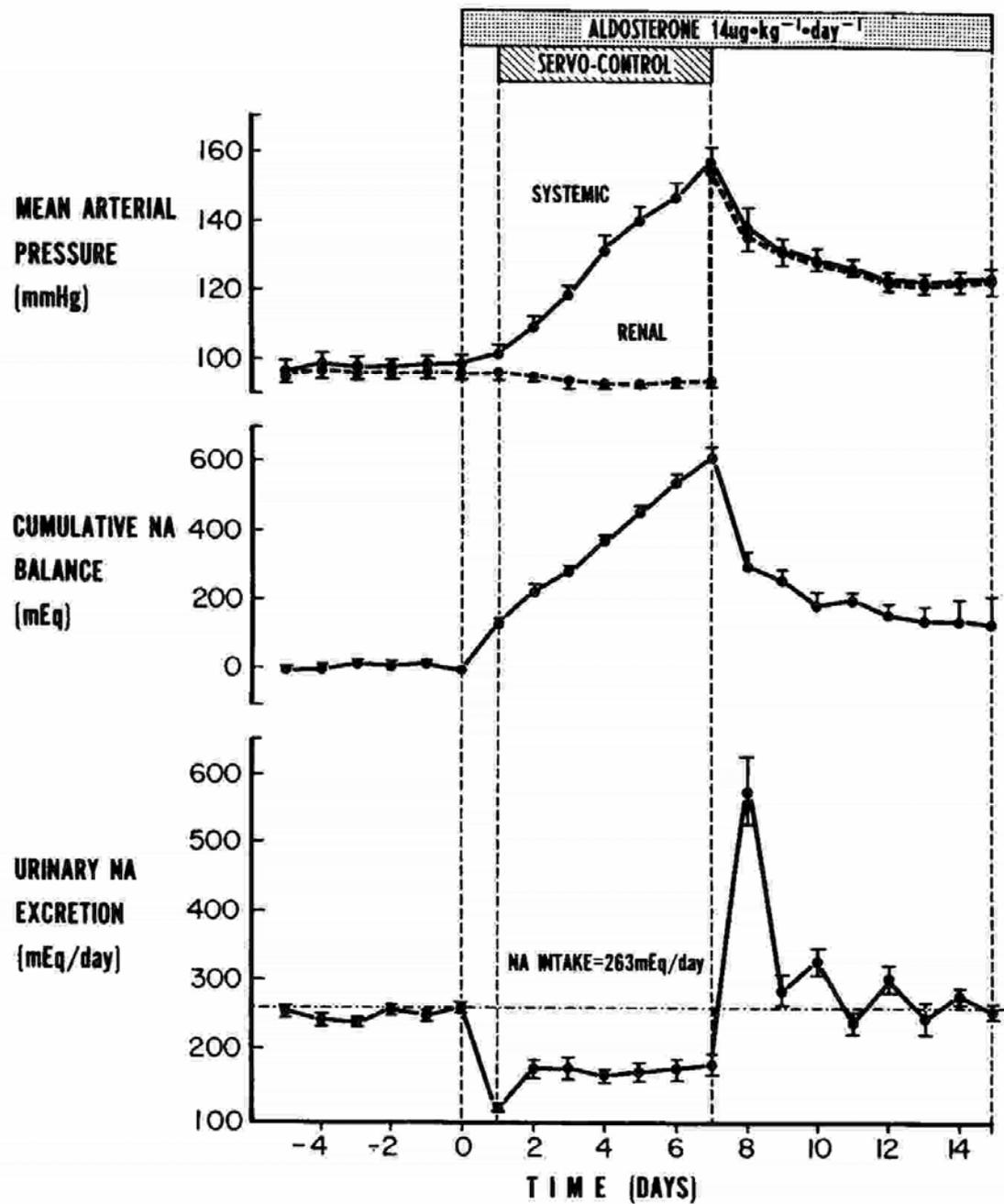


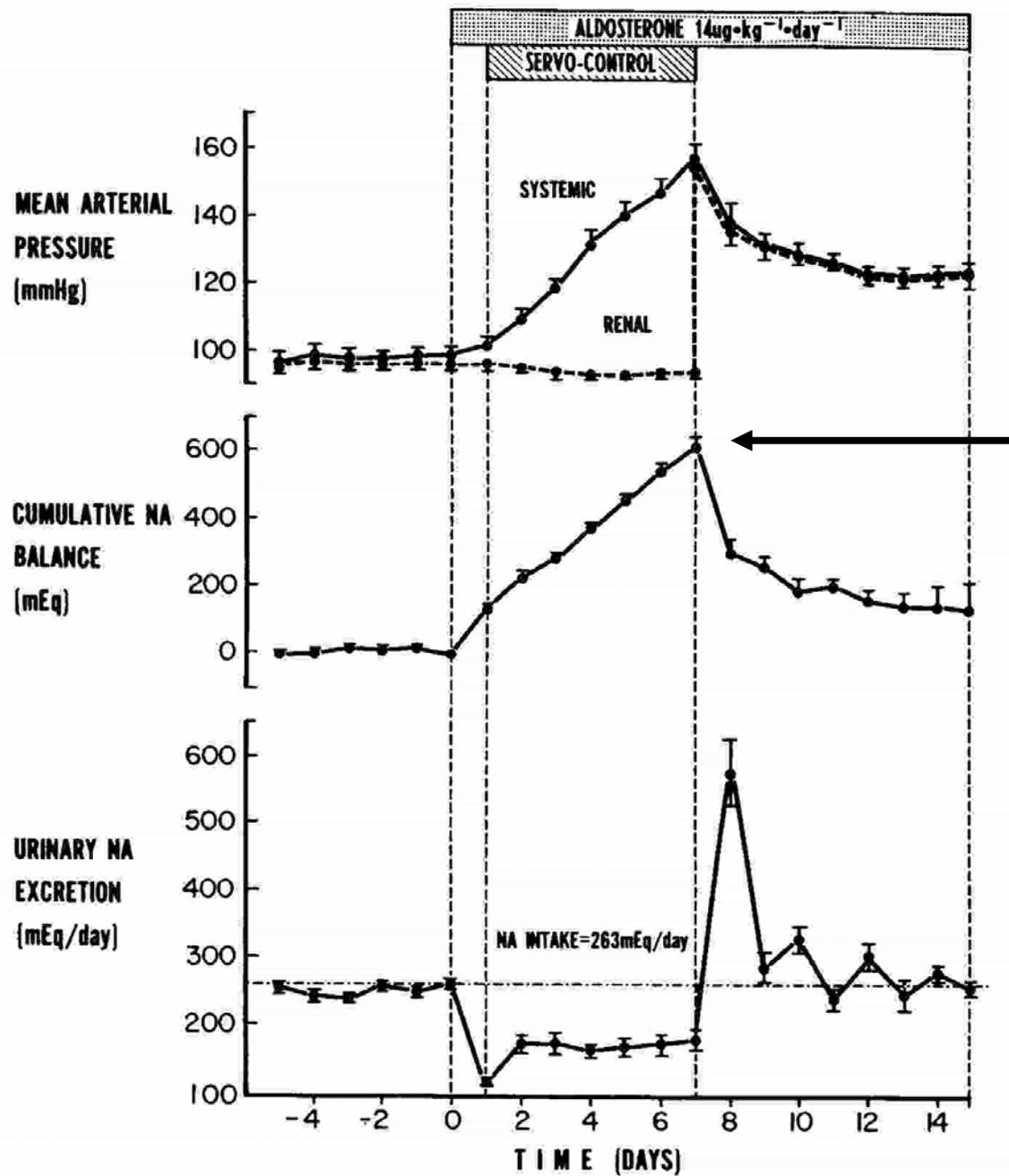
Figure 2. Digital subtraction angiogram showing renal arteries after angioplasty with stents in place (arrows).

# Relation pression natriurèse (mécanisme à long terme de régulation de la PA)

- L'élévation de la pression de perfusion rénale *est indispensable* pour excréter normalement le  $\text{Na}^+$  quand il existe une perfusion chronique d'angiotensine II (ou d'aldostérone ou d'ADH, Hall 1984-86)
- Egaleme nt vrai en cas d'insuffisance rénale.

**Si on empêche le rein de sentir l'élévation de la PA systémique que se passe-t-il?**





OAP: anomalie du produit volémie - PA  
 Produit par l'absence d'élévation de la pression de perfusion rénale lorsque la PA systémique s'élève

**OAP**

# Intérêt pharmacologique

Le développement des médicaments

# Quel modèle utiliser pour montrer que votre médicament est efficace sur la PA?

- **Modèles rénine dépendant**

- 2K-1C, 1K-1C désodé, Ren2...

- > IEC, ARA 2, inhibiteurs de la rénine: OK (diurétiques : NON; Inh. calciques: pas trop)

- **Modèles volo-dépendant**

- DOCA-salt, Dahl sensible

- > Inh. Calciques, diurétiques: OK (IEC-ARA2: NON)

- **Modèles d'HTA spontanés**

- SHR, LH

- > IEC, ARA-2, inh. calciques