



# Modèles expérimentaux dans l'HTA

Bernard Jover, Montpellier

# Que demandons-nous à un modèle animal?

- **Mimer** la maladie de l'homme dans sa complexité,
- Permettre d'**isoler** certains facteurs,
- Être **manipulable** (taille, durée de vie, reproductibilité, coût)

## Ce qui sous-entend

- **Comprendre** la physiopathologie de l'HTA clinique
- **Élucider** la relation entre PA et ses complications
- **Disposer** d'espèces et de souches adaptées

# 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
  - Sexe
- **Environnementaux**
  - Statut socio-économique
  - Obésité
  - Sédentarité
  - Age
  - Alimentation (sel, alcool,...)
  - Exposition à des agents divers
  - ...

# Pathophysiologie: les mécanismes impliqués dans l'HTA

- **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**
  - ...non exhaustif (Stress Oxydatif, Inflammation, .....

# 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**
- **Analyse des différents aspects de l'étude de l'HTA**
  - Génétique
  - Pathophysiologie
  - Pharmacologie

# 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)

Metro Goldwyn Mayer



TRADE

MARK



starring Guinness

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

*The various types of animal models of hypertension being used are:*

1. Renovascular hypertension
2. Dietary hypertension
3. Endocrine hypertension
4. Neurogenic hypertension
5. Psychogenic hypertension
6. Genetic hypertension
7. Other models

## Experimental Hypertension

---

Spontaneous hypertension

Renal artery stenosis hypertension

Overdosage of glucocorticoids

Overdosage of mineralocorticoids

Overdosage of salt

Obesity related hypertension

Uterine ischaemia

Reduced renal mass

---

## Clinical Hypertension

Essential hypertension

Renal artery stenosis

Cushing syndrome

Primary aldosteronism

Chronic high salt intake

Obese hypertension

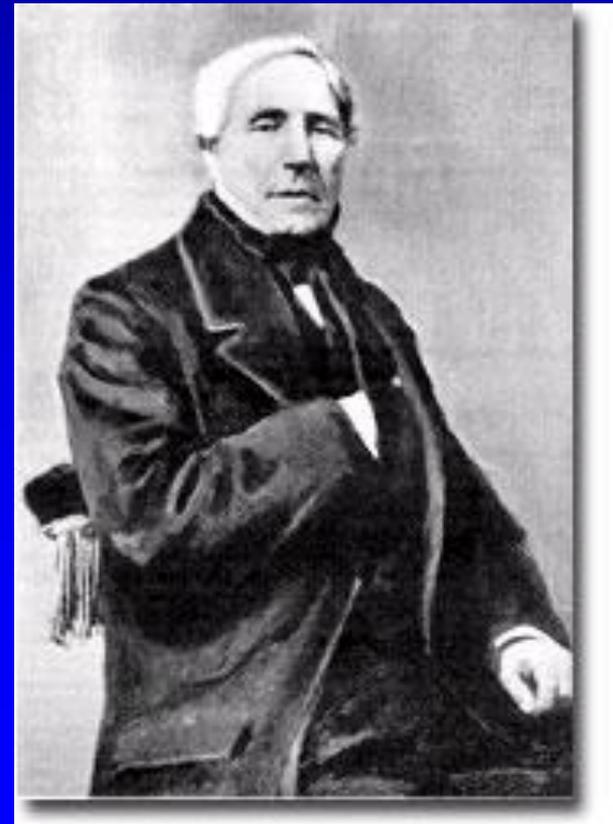
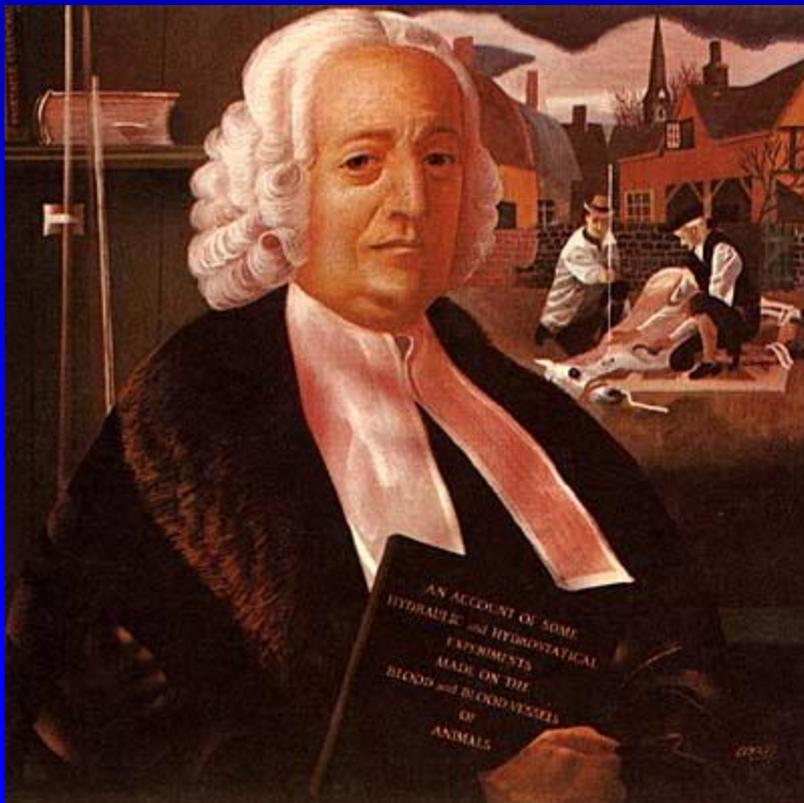
Preeclampsia

Renal diseases

---

# 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.



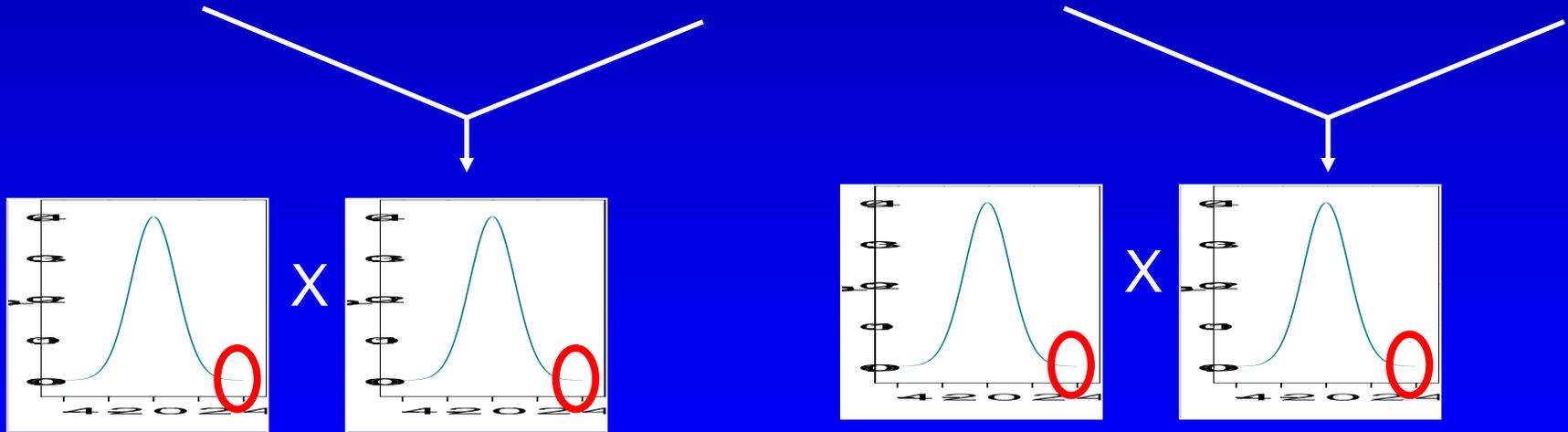
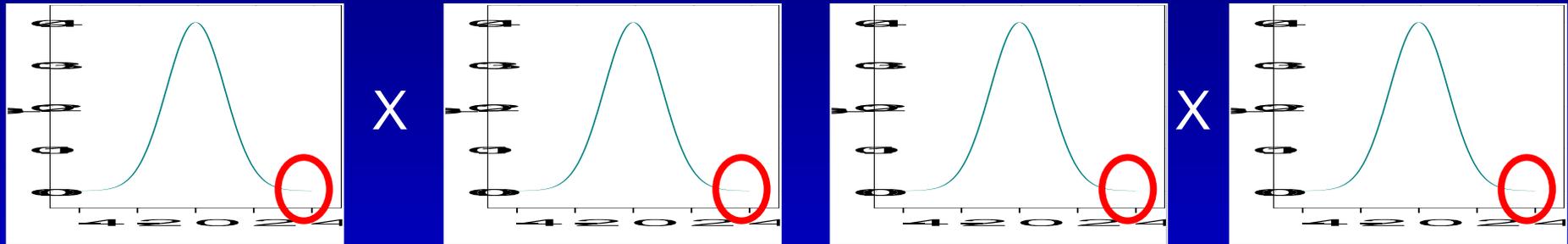
# SAVOIR MESURER LA PRESSION ARTERIELLE

- **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, contention)

# 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 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

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

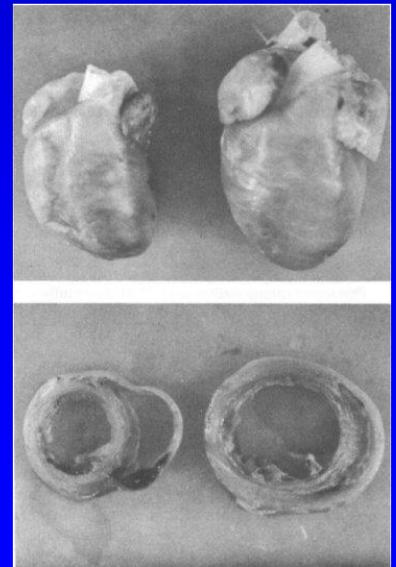
# Rats spontanément hypertendus: souches les plus utilisées

- **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

- **SHHF (Heart Failure)**

- HTA avec insuffisance cardiaque, DT, néphropathie, insulino-résistance



# Rats spontanément hypertendus: souches moins utilisées

- **Rats Milan**
  - HTA modérée avec glomérulosclérose précoce
- **Rats Lyon**
  - LH, LN (normotendus) et LL (rats « hypotendus »)
  - Hypercholestérolémie, HTA modérée, Forte UVprot
- **Rats Sabra**
  - SBN et SBH (Hebrew University) HTA sensible au sel avec protéinurie spontanée (tumeur de l'endomètre)

# Rats spontanément hypertendus: souches les moins utilisées

- Rats GH (NZ) :
  - HTA modérée avec forte HVG
- Rat Brown-Norway x NZ GH :
  - Fragilité vasculaire du BN exacerbée chez le rat F(1) = BN x New Zealand GH.
- Rat IMAI :
  - Glomérulosclérose focale spontanée évoluant vers une HTA, un syndrome néphrotique, une hyperlipidémie, et insuffisance rénale progressive.

# Cardiovascular-Renal-Metabolic Research Rat Models

Spontaneously Hypertensive (SHR)

SHR Heart Failure (SHHF)

SHR Stroke Prone (SHRSP)

SHR Obese (SHROB)

## Dahl/Salt Sensitive (DAHL/SS)

Goto-Kakizaki (GK)

Zucker

Zucker Diabetic Fatty (ZDF)

ZSF1

## HTA si 8%NaCl –Rôle du NO

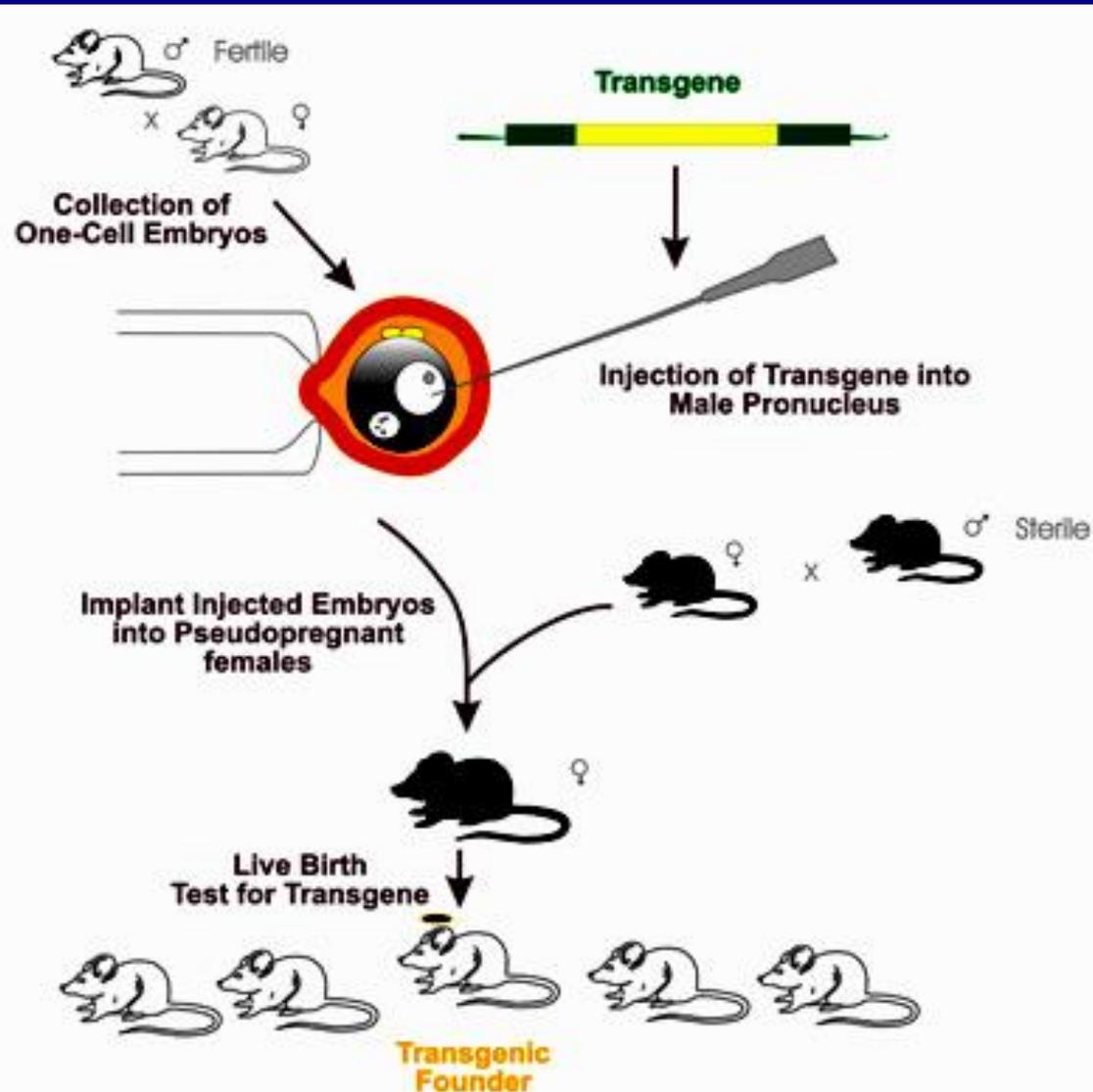
# Modulation des gènes d'un animal pour développer une HTA

- **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

# Animaux transgéniques

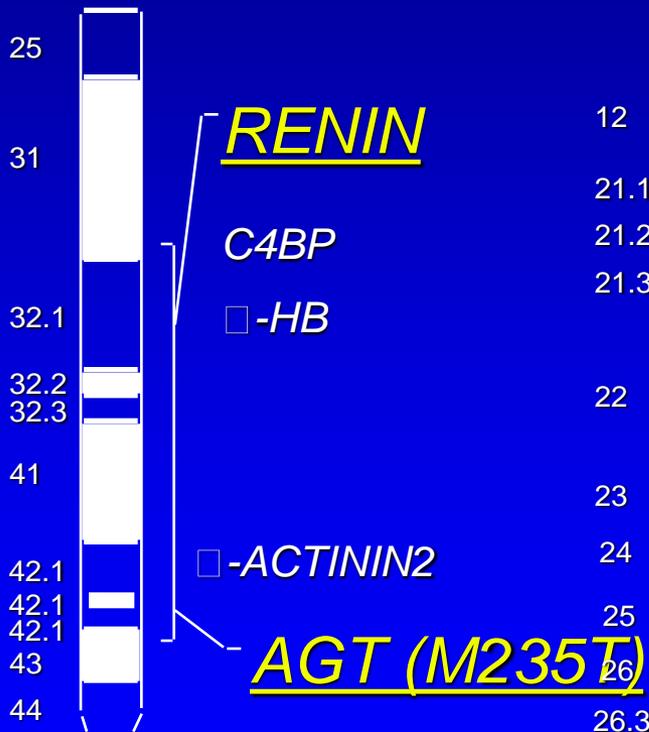
–Intégration au niveau du génome d'un gène codant pour une protéine -> surexpression de ce gène

–Quel(s) gène(s) ?

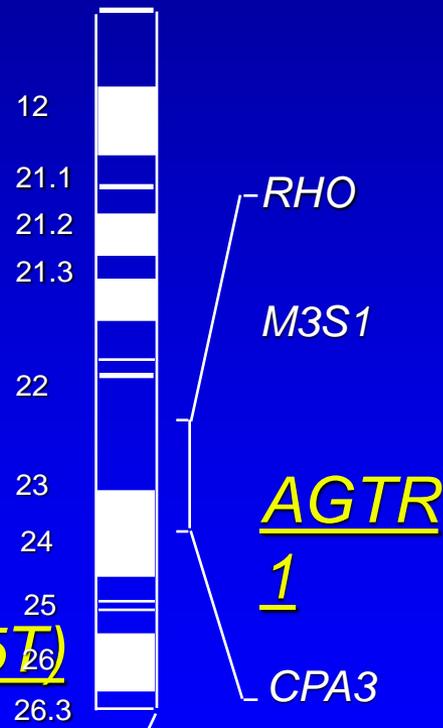


# RENIN ANGIOTENSIN SYSTEM

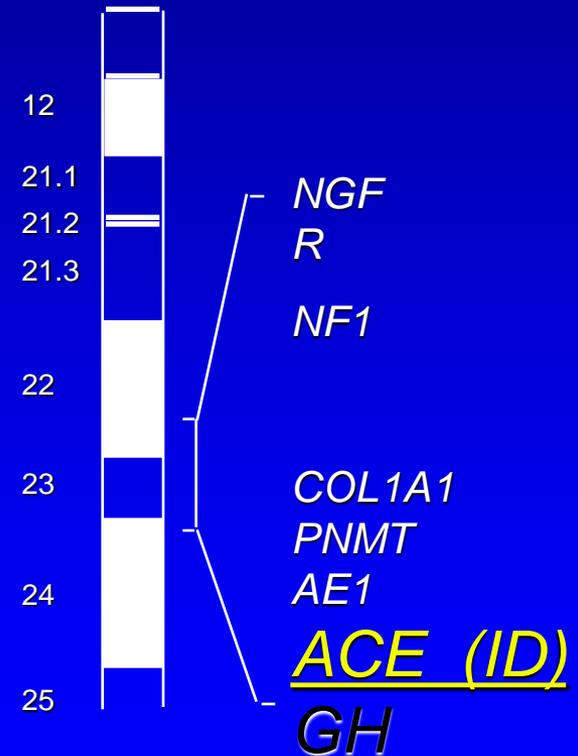
CHR 1q



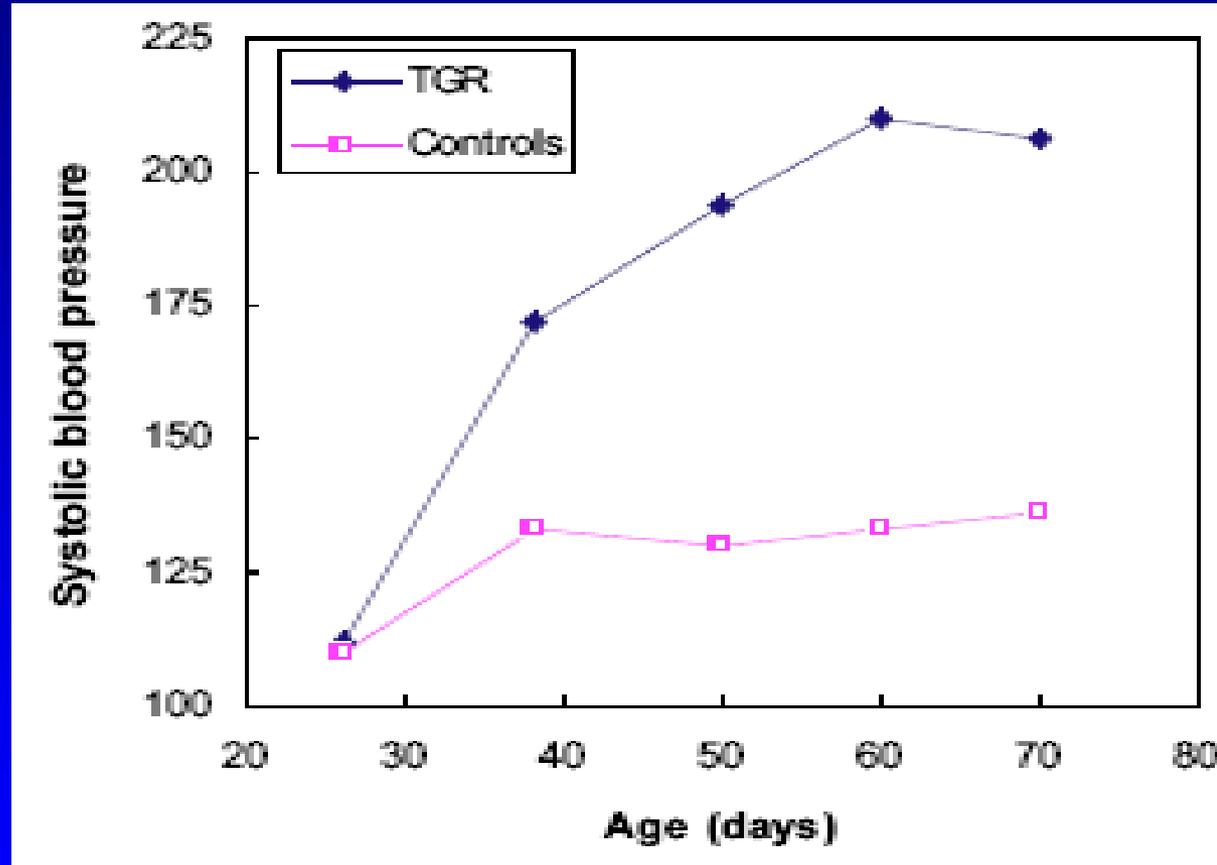
CHR 3q



CHR 17q



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

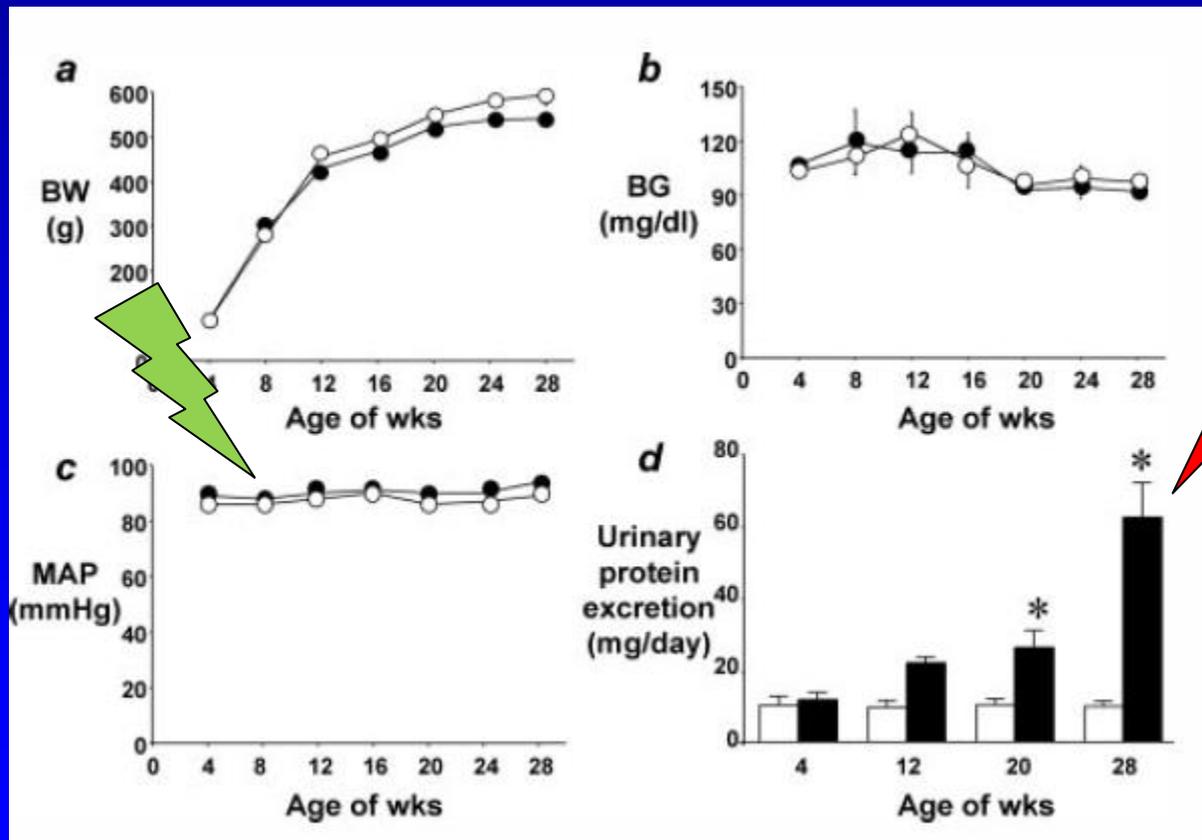




# Slowly Progressive, Angiotensin II–Independent Glomerulosclerosis in Human (Pro)renin Receptor– Transgenic Rats

Yuki Kaneshiro,\* Atsuhiro Ichihara,\* Mariyo Sakoda,\* Tomoko Takemitsu,\*  
A.H.M. Nurun Nabi,† M. Nasir Uddin,† Tsutomu Nakagawa,‡ Akira Nishiyama,§  
Fumiaki Suzuki,†† Tadashi Inagami,|| and Hiroshi Itoh\*

Surexpression ubiquitaire de hProRenRc

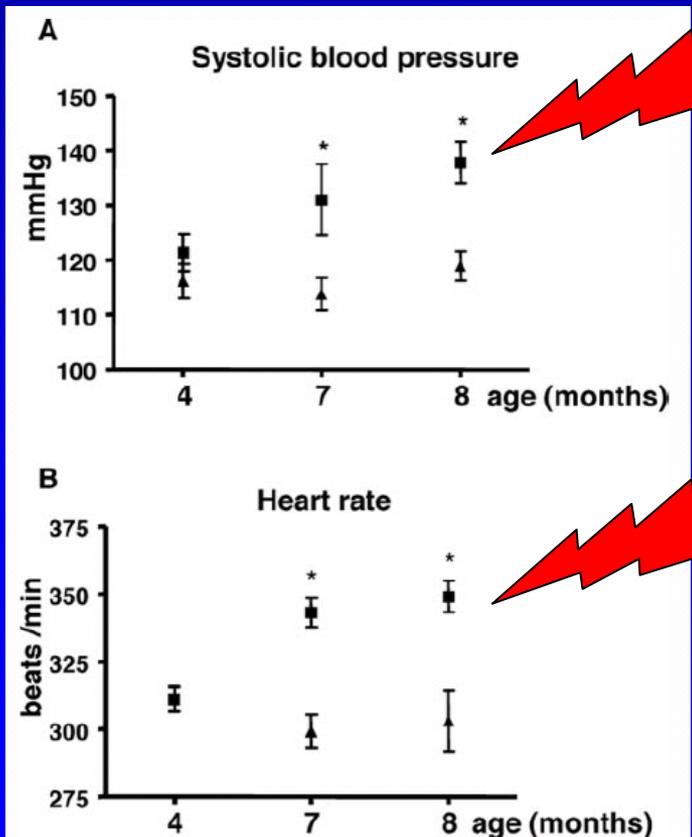


# Elevated Blood Pressure and Heart Rate in **Human Renin Receptor** Transgenic Rats

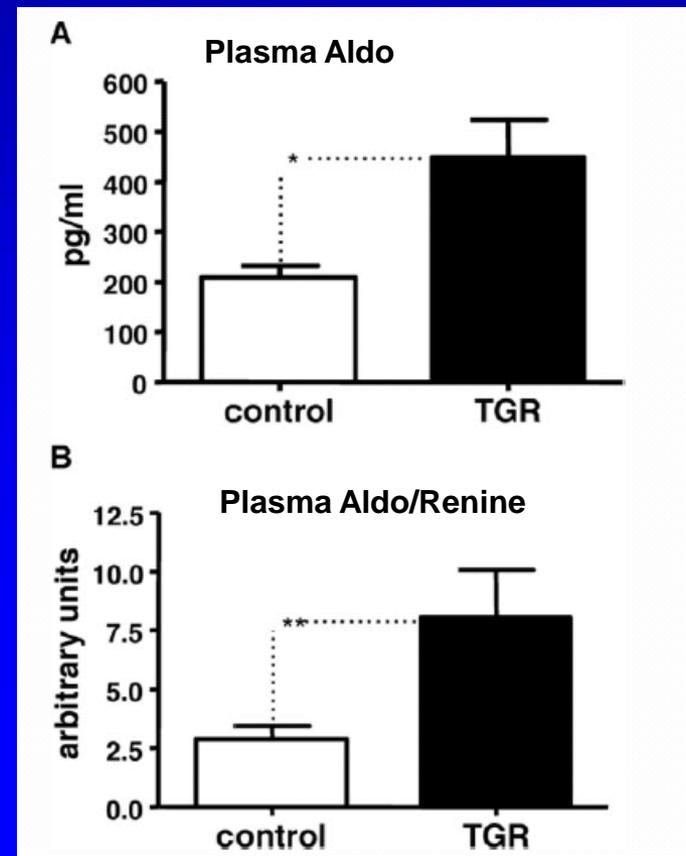
Céline A. Burcklé, A.H. Jan Danser, Dominik N. Müller, Ingrid M. Garrelds, Jean-Marie Gasc, Elena Popova, Ralph Plehm, Jörg Peters, Michael Bader and Geneviève Nguyen

Hypertension. 2006;47[part 2]:552-556

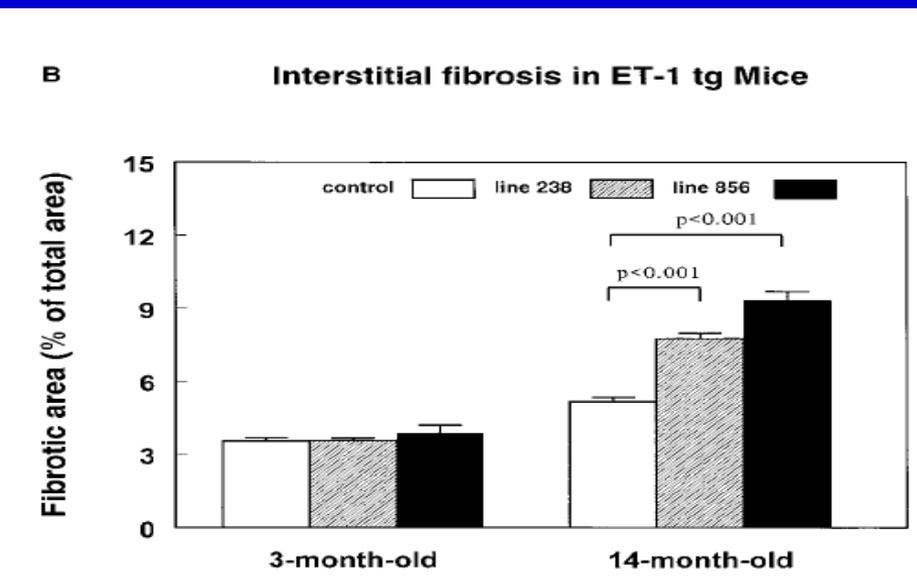
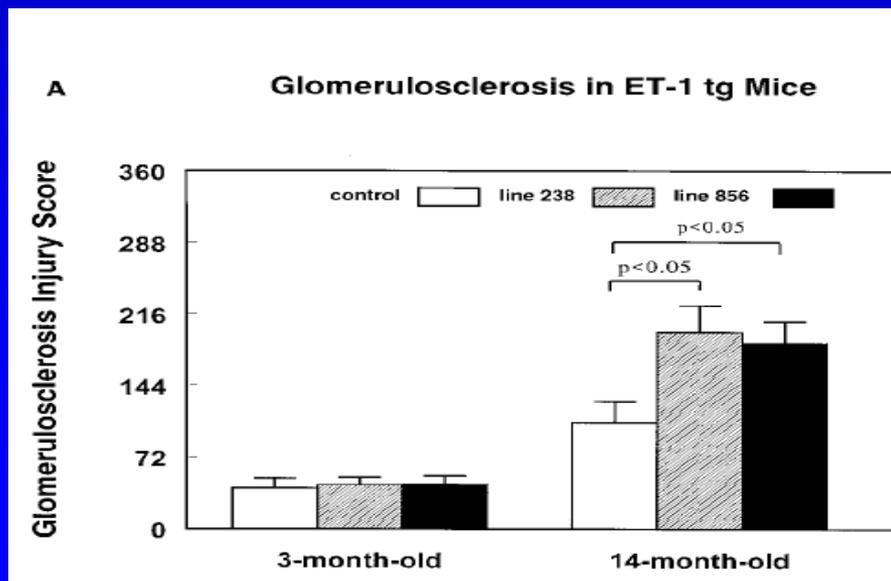
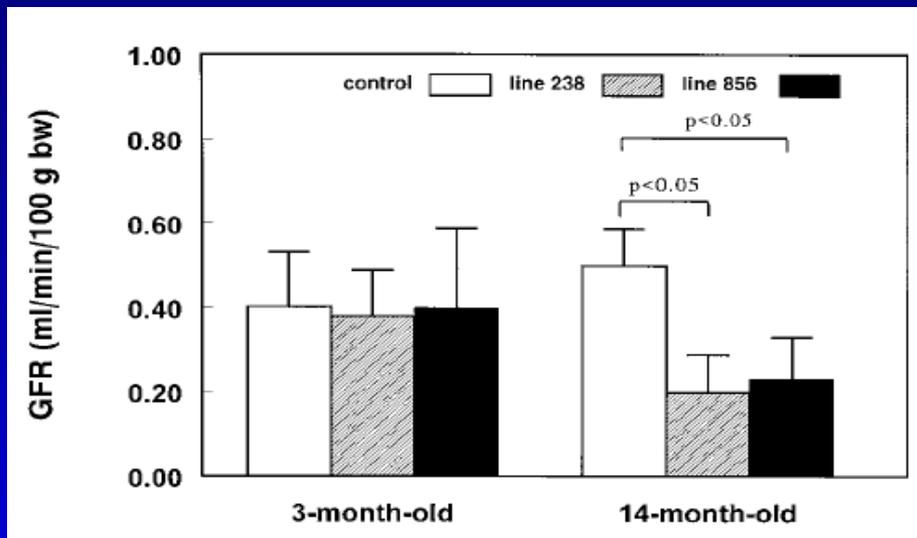
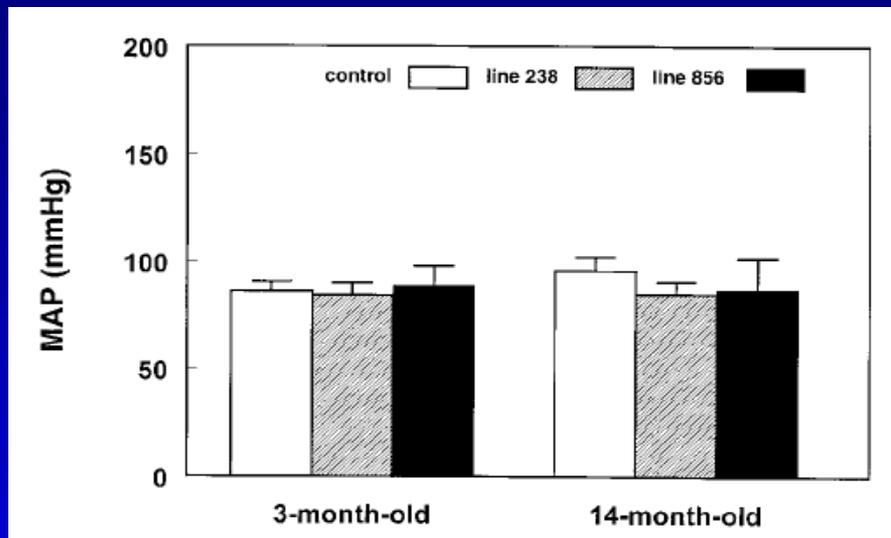
Surexpression de hR(P)R dans les cellules musculaires lisses vasculaires



Similar PRC, PRA, and angiotensin I generation  
⇒ primary adrenal cause



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

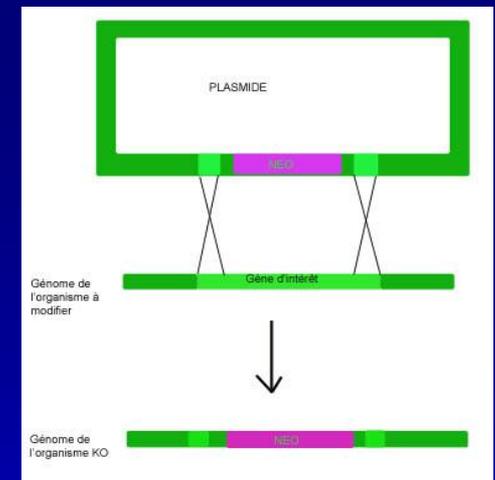


## Chromosome substitution reveals the genetic basis of Dahl salt-sensitive hypertension and renal disease

Mattson DL, Dwinell MR, Greene AS, Kwitek AE, Roman RJ, Jacob HJ, Cowley AW Jr. Chromosome substitution reveals the genetic basis of Dahl salt-sensitive hypertension and renal disease. *Am J Physiol Renal Physiol* 295: F837–F842, 2008. First published July 23, 2008; doi:10.1152/ajprenal.90341.2008.—This study examined the genetic basis of hypertension and renal disease in Dahl SS/Mcwi rats. Consomic rats were generated by chromosome substitution of 20 autosomes and the Y chromosome from the Brown Norway (BN) rat onto the Dahl SS/Mcwi genetic background. Male and female rats of each of the two parental and 22 consomic strains (10–12 rats/group) were fed a high-salt (8.0% NaCl) diet for 3 wk. Mean arterial blood pressure rose by 60 mmHg and urinary protein and albumin excretion increased 3- and 20-fold, respectively, in male SS/Mcwi rats compared with BN controls. Substitution of chromosomes 1, 5, 7, 8, 13, or 18 from the BN onto the SS/Mcwi background attenuated the development of hypertension, proteinuria, and albuminuria in male rats. In female rats, substitution of chromosomes 1 and 5 also decreased blood pressure, protein excretion, and albumin excretion. These studies also identified several chromosomes in male (6, 11, Y) and female (4, 6, 11, 19, 20) rats that reduced albuminuria without altering blood pressure. These data indicate that genes contributing to salt-sensitive hypertension are found on multiple chromosomes of the Dahl SS/Mcwi rat. Furthermore, this consomic rat panel provides a stable genetic platform that can facilitate further gene mapping by either linkage studies or the breeding of congenic and subcongenic rats.

hypertension; kidney disease; rats; consomic

# Animaux invalidés (knock out)



- **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

# Animaux invalidés (knock out)

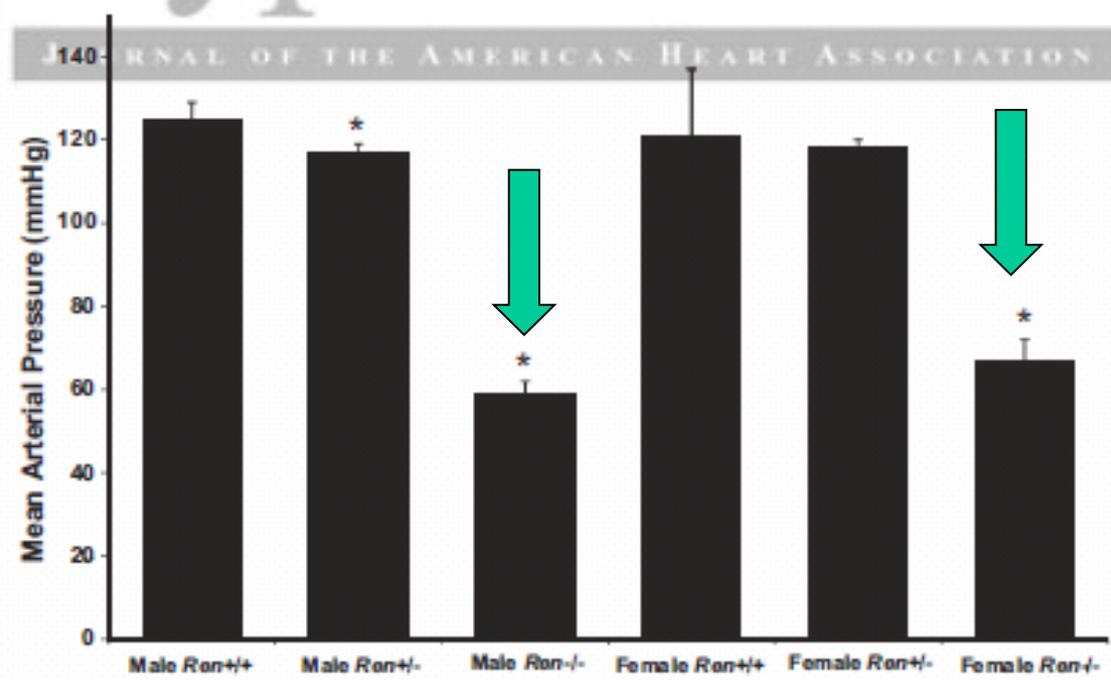
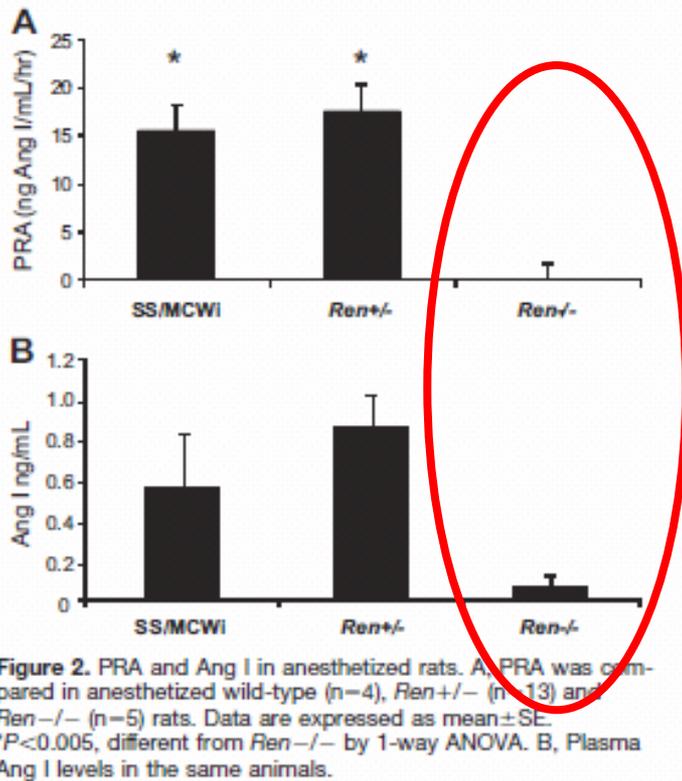
Uniquement la souris ?



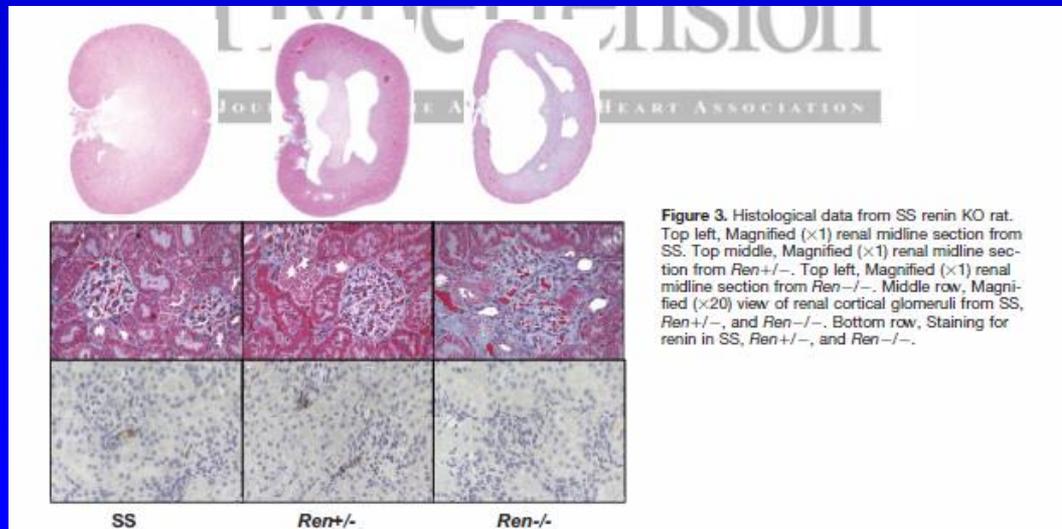
## Creation and Characterization of a Renin Knockout Rat

Carol Moreno, Mathew Hoffman, Timothy J. Stodola, Daniela N. Didier, Jozef Lazar, Aron M. Geurts, Paula E. North, Howard J. Jacob, Andrew S. Greene

**Abstract**—The renin-angiotensin system plays an important role in the control of blood pressure (BP) and renal function. To illuminate the importance of renin in the context of a disease background *in vivo*, we used zinc-finger nucleases (ZFNs) designed to target the renin gene and create a renin knockout in the SS/JrHsdMewi (SS) rat. ZFN against renin caused a 10-bp deletion in exon 5, resulting in a frameshift mutation. Plasma renin activity was undetectable in the *Ren*<sup>-/-</sup> rat, and renin protein was absent from the juxtaglomerular cells in the kidney. Body weight was lower in the *Ren*<sup>-/-</sup> rats (than in the *Ren*<sup>+/-</sup> or wild-type littermates), and conscious BP on low-salt diet (0.4% NaCl) was 58±2 mm Hg in the *Ren*<sup>-/-</sup> male rats versus 117 mm Hg in the *Ren*<sup>+/-</sup> littermates, a reduction of almost 50 mm Hg. Blood urea nitrogen (BUN) and plasma creatinine levels were elevated in the *Ren*<sup>-/-</sup> strain (BUN 112±7 versus 23±2 mg/dL and creatinine 0.53±0.02 versus 0.26±0.02 mg/dL), and kidney morphology was abnormal with a rudimentary inner renal medulla, cortical interstitial fibrosis, thickening of arterial walls, and abnormally shaped glomeruli. The development of the first rat knockout in the renin-angiotensin system demonstrates the efficacy of the ZFN technology for creating knockout rats for cardiovascular disease on any genetic background and emphasizes the role of renin in BP regulation and kidney function even in the low-renin SS rat. (*Hypertension*. 2011;57:00-00.)



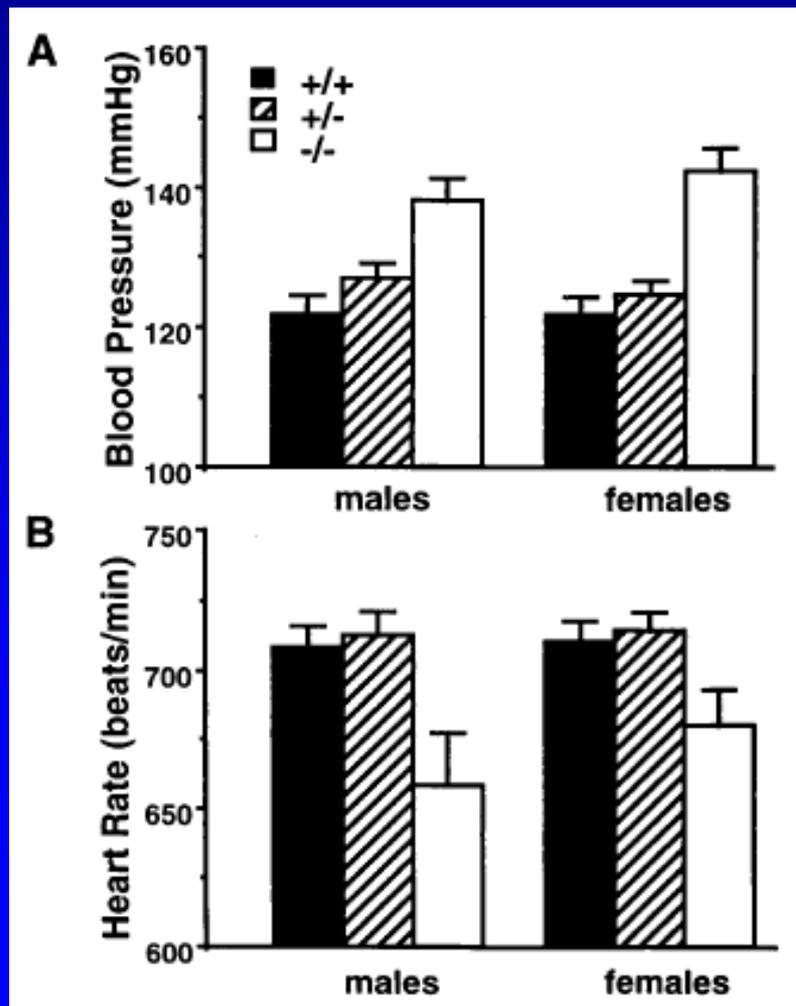
C'est un modèle d'hypotension !



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

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

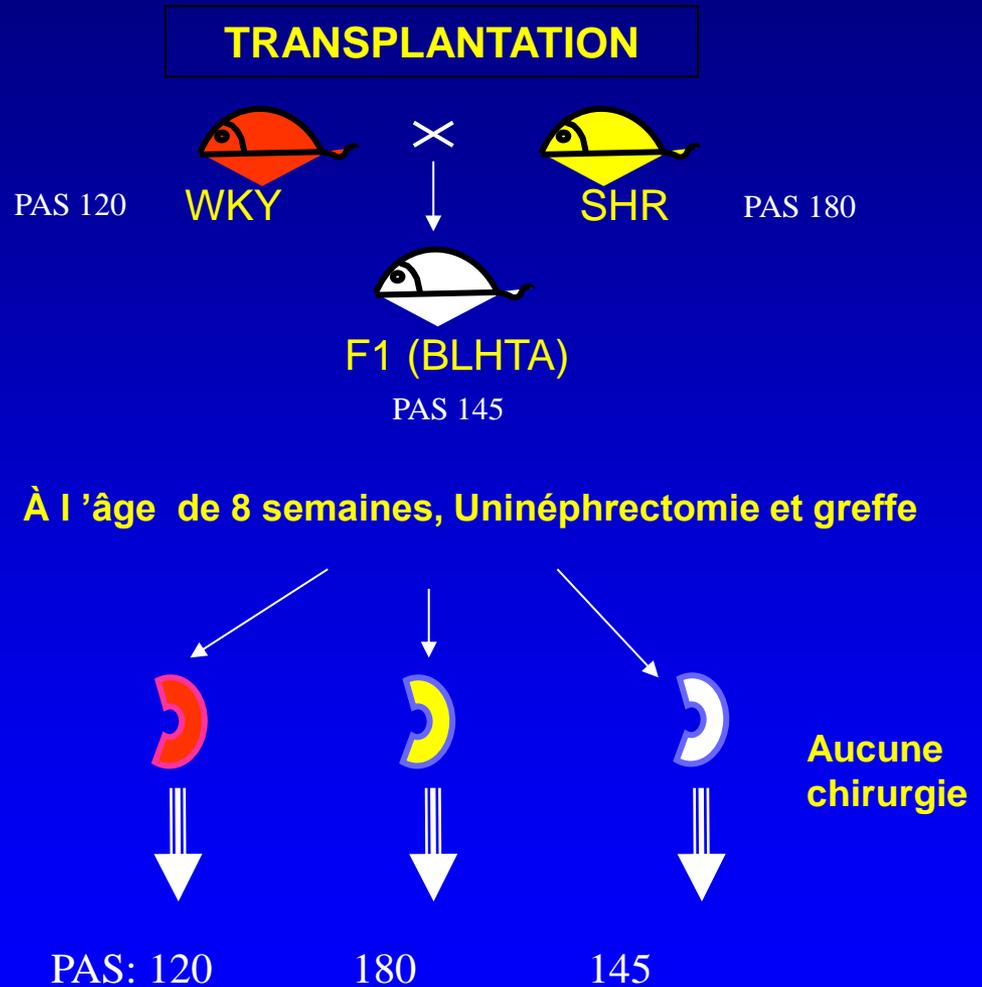
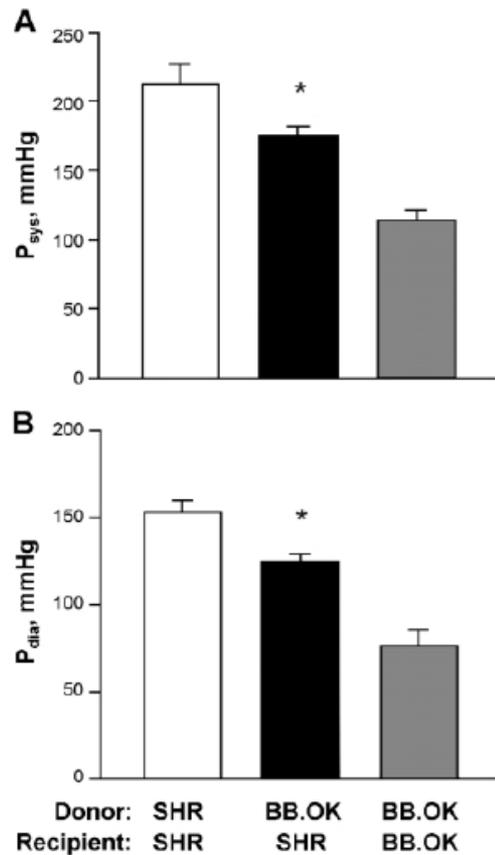
EDWARD G. SHESELY\*, NOBUYO MAEDA\*, H.-S. KIM\*, KAUSHIK M. DESAI†, JOHN H. KREGE\*‡, VICTOR E. LAUBACH§, PAULA A. SHERMAN‡, WILLIAM C. SESSA†, AND OLIVER SMITHIES\*¶



# L'HTA a un composant environnemental évident

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

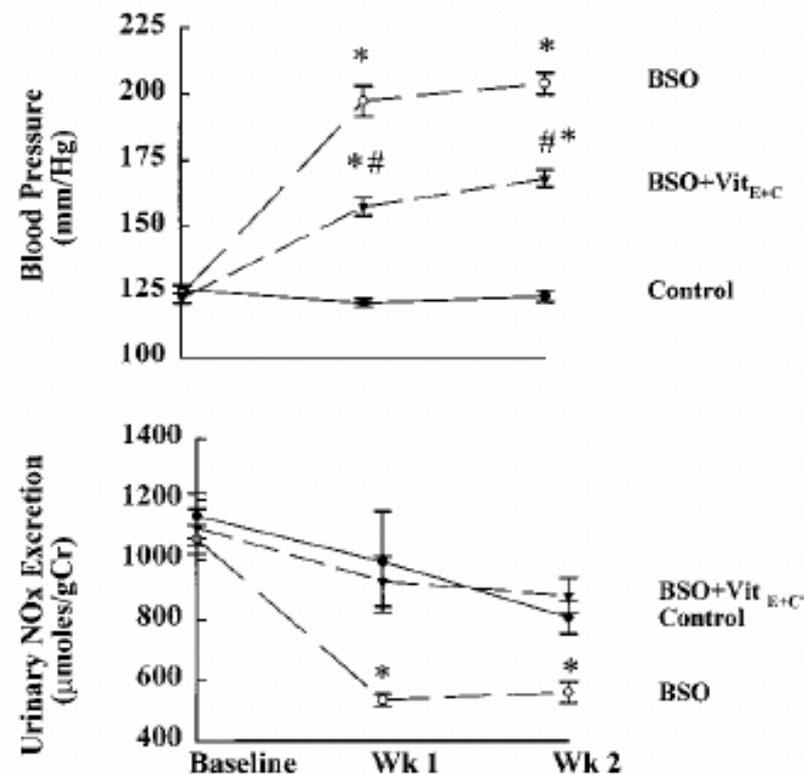
# L'HTA suit le rein



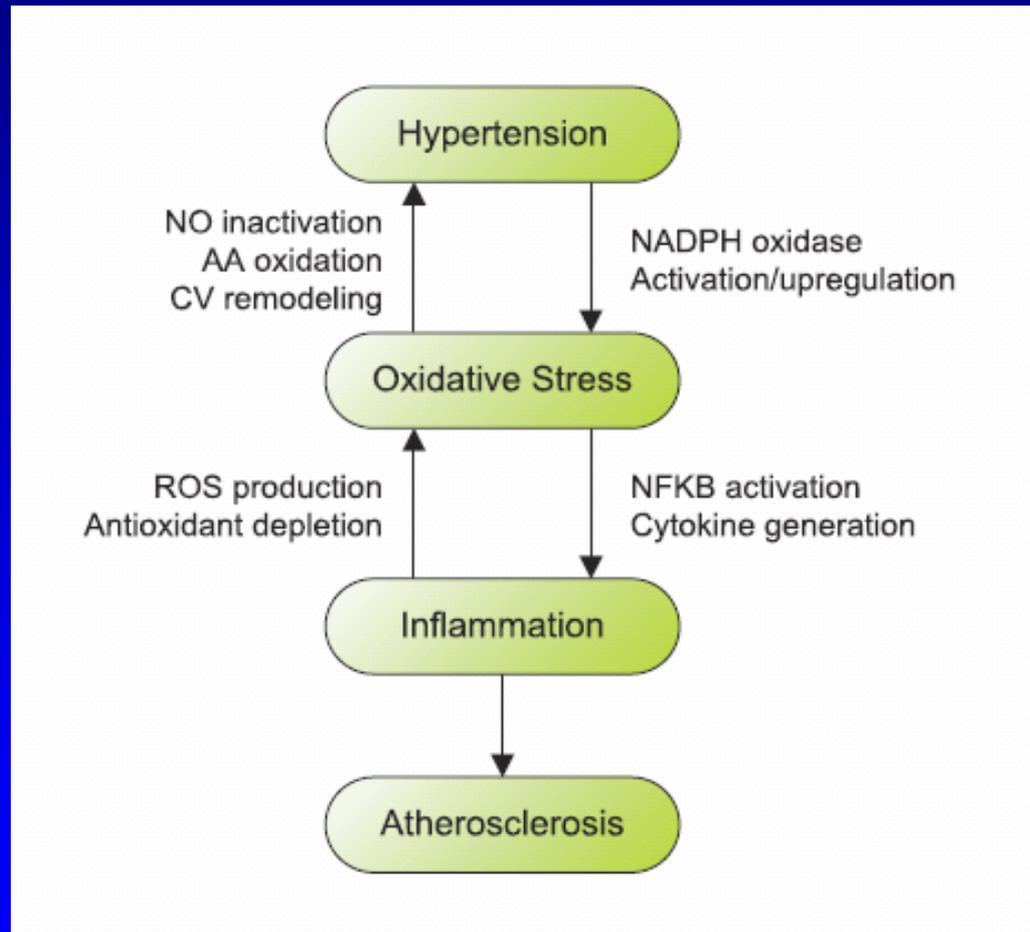
**FIGURE 3.** Systolic ( $P_{sys}$ ; *A*) and diastolic ( $P_{dia}$ ; *B*) arterial pressure in conscious, freely moving rats 6 wk after renal transplantation. SHR were transplanted with kidneys from genetically normotensive Biobreeding/Ottawa Karlsburg rats (BB.OK;  $n = 15$ ). Control SHR ( $n = 11$ ) 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.

# Induction of Oxidative Stress by Glutathione Depletion Causes Severe Hypertension in Normal Rats

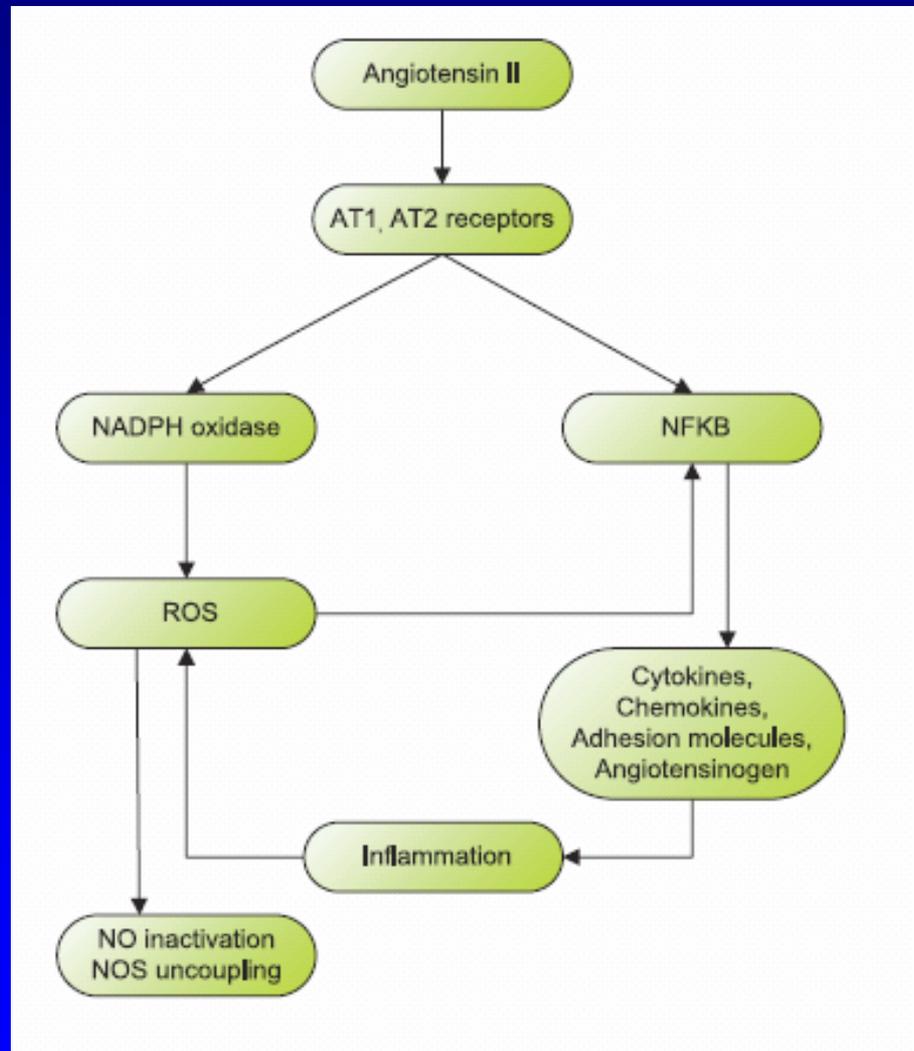
Nosratola D. Vaziri, Xiu Q. Wang, Fariba Oveisi, Behdad Rad



# Causal Link Between Oxidative Stress, Inflammation, and Hypertension

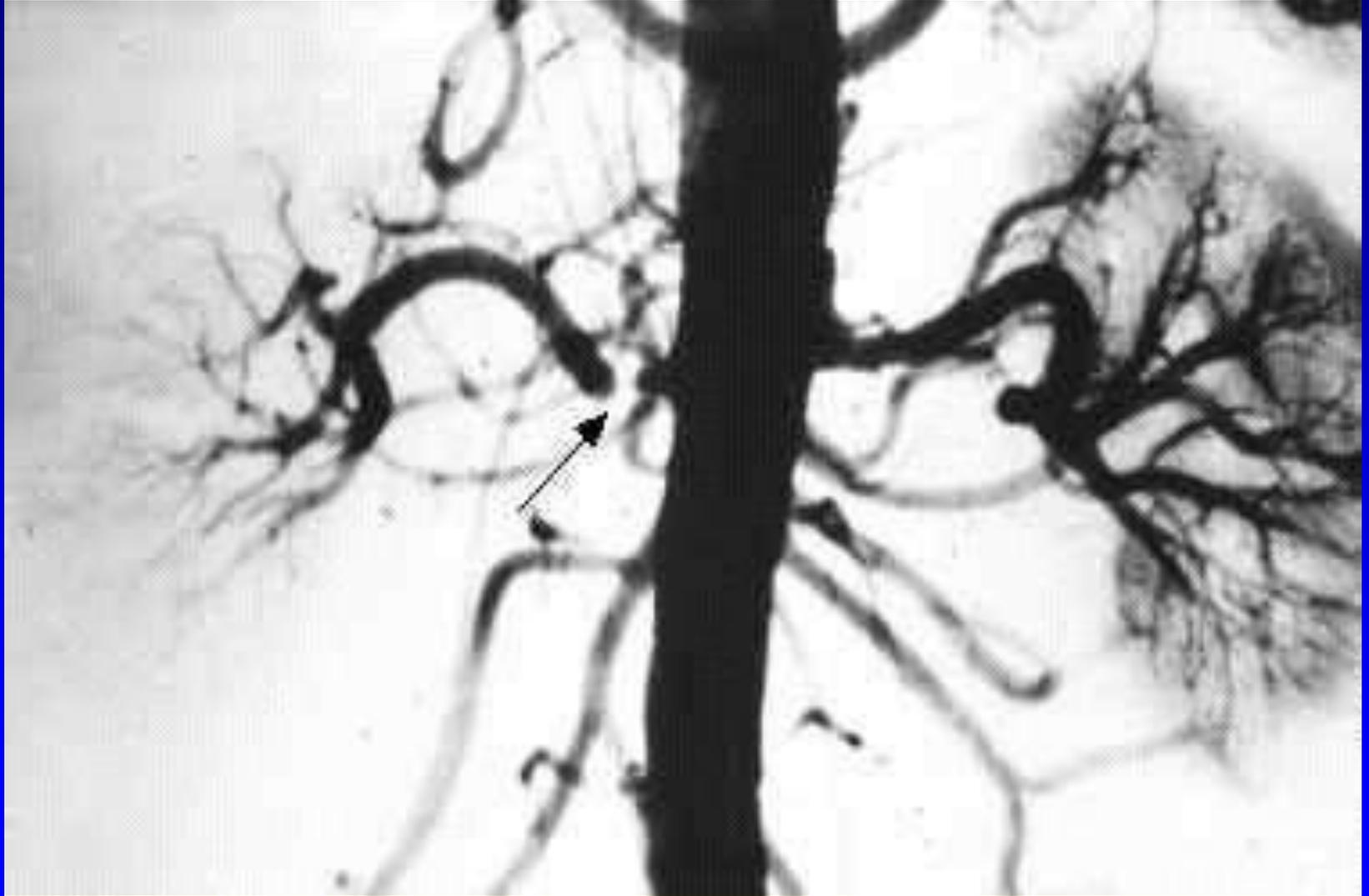


# Participation of tissue angiotensin system in the vicious cycle of oxidative stress, inflammation, and hypertension



This interconnection provides the rationale for renin angiotensin system blockade in the management of hypertension.

# HTA rénovasculaire



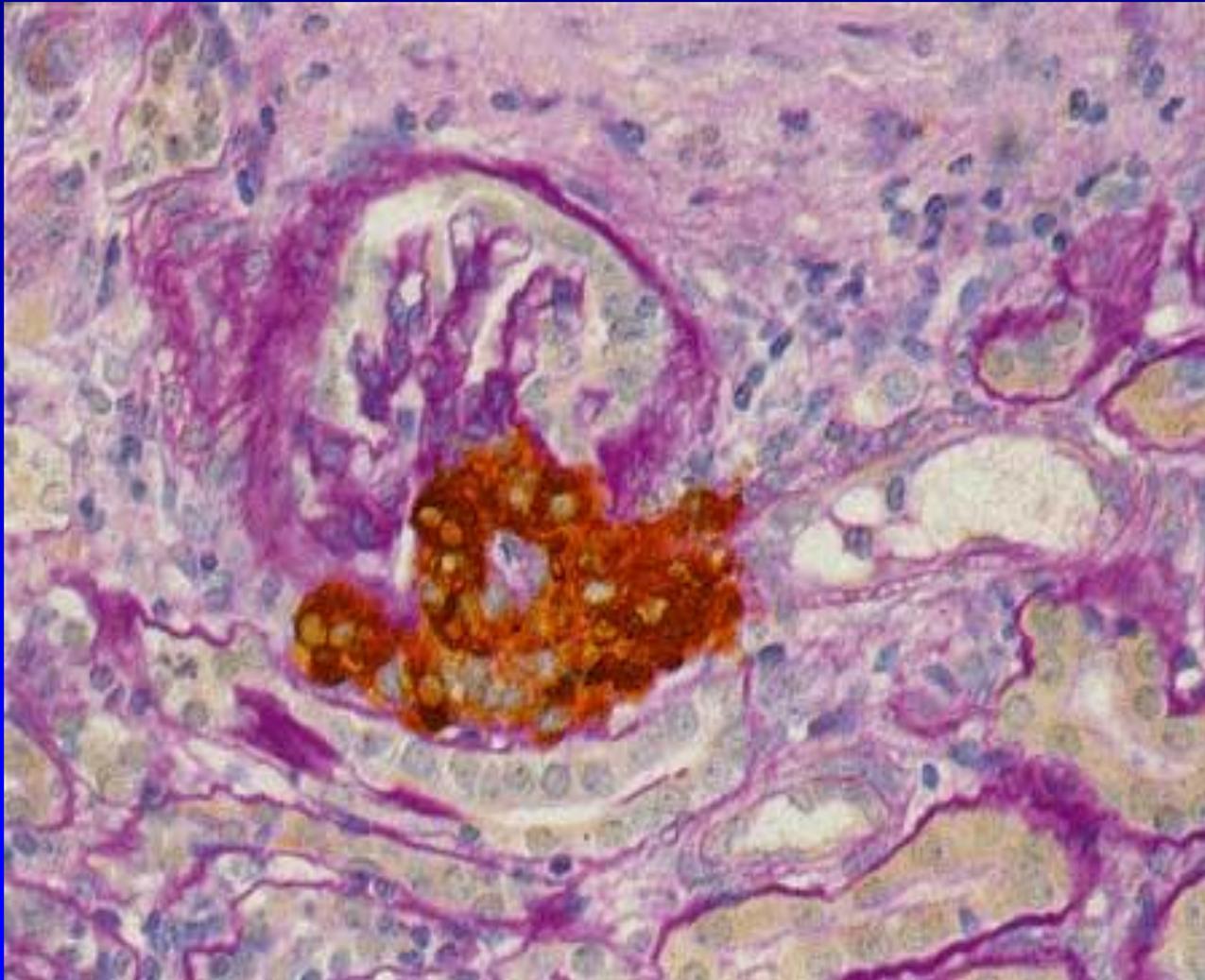
# Modèles d'HTA rénovasculaire

- 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

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

- Angiotensine II

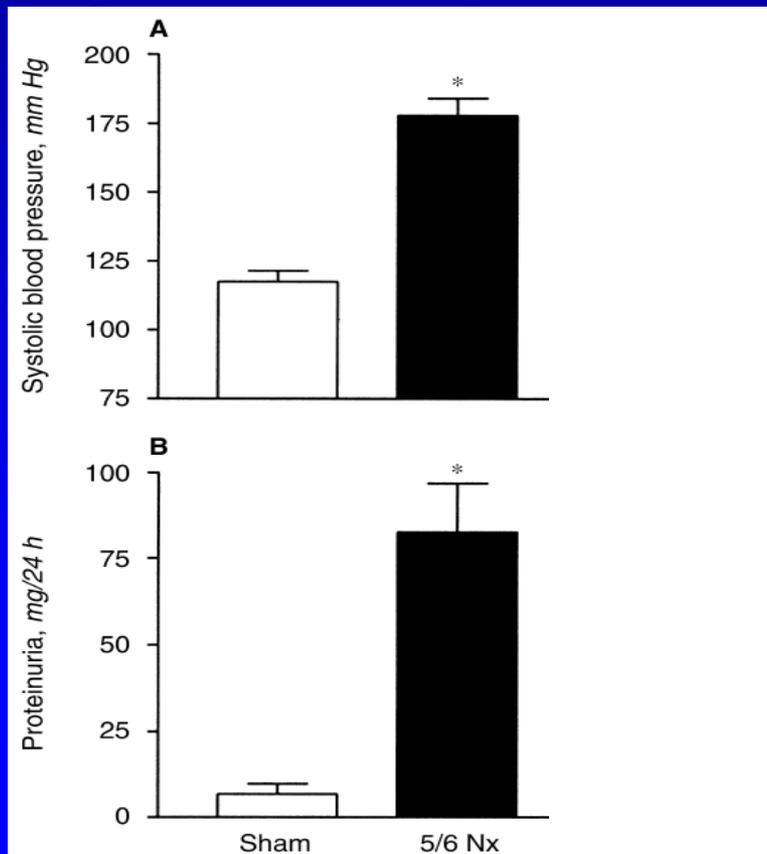
- Selon la dose HTA administrée: HTA minime  
-> HTA maligne

# 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
- Rat VDN (Vitamine D+Nicotine)
  - HTA systolique isolée (calcification des vaisseaux)
- Prééclampsie chez la souris

# Intérêt pharmacologique

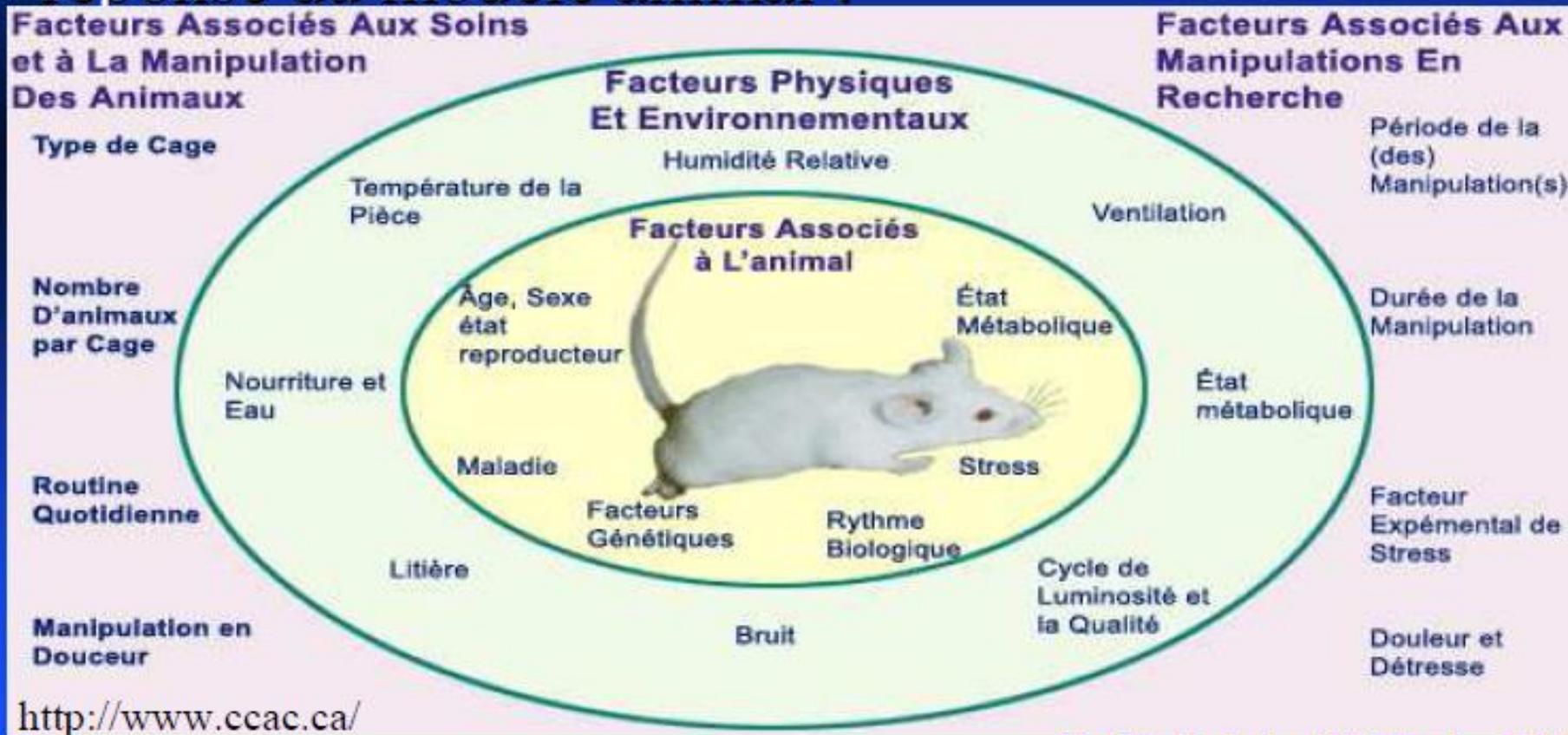
Le développement des médicaments

# 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 (diurétiques : NON; Inh. calciques: pas trop)
- **Modèles volo-dépendant**
  - DOCA-salt, Dahl sensible
  - > Inh. Calciques (IEC-ARA2: NON)
- **Modèles d'HTA spontanés**
  - SHR, LH
  - > IEC, ARA-2, inh. Calciques

# Limites d'un modèle

- Influence des facteurs non expérimentaux sur la réponse du modèle animal :



**GROUPE REIN ET HYPERTENSION**  
**INSTITUT UNIVERSITAIRE DE RECHERCHE CLINIQUE**



---

**Etablissement d'Expérimentation Animale agréé auprès du  
Ministère de l'Agriculture et de la Forêt**

**N° d'agrément B-34-172-26, Arrêté N° 03 XIX 55**

**Responsable identifié et agréé**

---

**Autorisation d'expérimenter nominative**

**Autorisation d'expérimenter sur les animaux vivants N° 34.179 (validité 9 décembre 2013)**

