HAL
open science

L'hypertension pulmonaire : physiopathologie, traitements actuels et perspectives innovantes : exemple du facteur de croissance des nerfs (NGF) comme nouvelle cible potentielle

Noëlly Fontenaud

To cite this version:

Noëlly Fontenaud. L'hypertension pulmonaire : physiopathologie, traitements actuels et perspectives innovantes : exemple du facteur de croissance des nerfs (NGF) comme nouvelle cible potentielle. Sciences pharmaceutiques. 2014. dumas-01128675

HAL Id: dumas-01128675

https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01128675

Submitted on 10 Mar 2015

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.

Université de Bordeaux

U.F.R des SCIENCES PHARMACEUTIQUES

Année 2014 Thèse n°6

Thèse pour l'obtention du

DIPLOME d'ETAT de DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement le 17 Décembre 2014

Par **Noëlly FONTENAUD**

Née le 03 Décembre 1991

L'HYPERTENSION PULMONAIRE :

Physiopathologie, Traitements actuels et Perspectives innovantes

Exemple du facteur de croissance des nerfs (NGF) comme nouvelle cible potentielle

Directeur de thèse:

Docteur Véronique MICHEL

Membres du jury :

Mr Bernard MULLER	Professeur des Universités	Président
Mme Véronique MICHEL	Maître de conférences des Universités	Juge
Mme Virginie LOCHET	Docteur en Pharmacie	Juge

Remerciements :

A ma directrice de thèse : Véronique Michel

Je tiens à vous remercier pour m'avoir accueillie pendant le stage d'initiation à la recherche, pour avoir su me transmettre vos connaissances et votre bonne humeur. Je vous suis également reconnaissante d'avoir accepté de diriger ma thèse, de m'avoir aidé dans sa réalisation et sa finalisation dans les temps. Merci pour votre soutien et vos précieux conseils.

A mon président de thèse : Bernard Muller

Je vous remercie de me faire l'honneur de présider ma thèse. Veuillez trouver ici l'expression de ma sincère reconnaissance.

A Virginie Lochet :

Je vous remercie de m'accompagner dans cette étape importante de mes études en faisant partie du jury.

A mon Amour :

Un grand merci à toi, Michaël, pour ton extrême patience, pour être présent dans les bons comme dans les mauvais moments, et pour ton soutien.

A ma Famille :

Je tiens à remercier tout particulièrement mes parents pour leur soutien sans faille au cours de mes études et leur amour. C'est grâce à vous que j'ai pu mener à bien ce travail, vous m'avez toujours encouragé à avancer. Les mots ne seront jamais suffisants pour vous exprimer toute ma reconnaissance…

Merci Arnaud et Amélie de m'avoir soutenue et d'avoir été là lorsque j'en avais besoin.

Une pensée pour toi papi.

Merci à vous les filles pour votre bonne humeur et votre soutien. Un grand merci à mon « Kinder » pour sa joie de vivre, ces bons moments passés ensemble et surtout merci pour cette relecture de dernière minute.

Sommaire

Introduction

I. Définition et présentation de la pathologie
   A. Généralités
   B. Classification
      1. Groupe 1 : Hypertension artérielle pulmonaire (HTAP)
         a) HTAP idiopathique
         b) HTAP familiale ou héréditaire
         c) HTAP associée à la prise de substances médicamenteuses ou toxiques
         d) HTAP associée aux connectivites
         e) HTAP associée à l'infection par le VIH
         f) HTAP associée à l'hypertension portale
         g) HTAP associée aux cardiopathies congénitales avec shunt droit-gauche
         h) HTAP associée à la bilharziose
      2. Groupe 1' : Maladie veino-occlusive pulmonaire et hémangiomatose capillaire
      3. Groupe 1'' : Hypertension pulmonaire persistante du nouveau-né (PPHN)
      4. Groupe 2 : Hypertension pulmonaire associée à une cardiopathie gauche
      5. Groupe 3 : Hypertension pulmonaire associée aux affections respiratoires et/ ou l'hypoxémie
      6. Groupe 4 : Hypertension pulmonaire secondaire à une maladie thromboembolique chronique
      7. Groupe 5 : Hypertension de mécanismes multifactoriels ou incertains
   C. Les différents facteurs de risque intervenants dans l'HTP
   D. Manifestations cliniques de l'HTP
   E. Diagnostic
      1. Détection et confirmation de l'HTP
      2. Diagnostic étiologique
      3. Evaluation de la sévérité

II. Physiopathologie de l'HTP
   A. Voies de signalisations mises en jeu dans l'HTP
      1. Le monoxyde d'azote (NO)
      2. Les prostaglandines et le thromboxane A_2
      3. L'endothéline
      4. Les canaux potassiques
      5. La sérotonine
      6. La superfamille du Transforming growth factor-β
      7. Autres facteurs de croissance
      8. Le Vasoactive Intestinal Peptide (VIP)
      9. La voie des Rho-kinases
      10. L'hypoxia-inducible Factor (HIF)

B. Hyperréactivité vasculaire pulmonaire
C. Remodelage vasculaire
1. Hypertrophie de la media
2. Fibrose intimale
3. Lésions plexiformes
D. Inflammation
1. Les chimiokines
2. Les cytokines pro-inflammatoires
3. Les auto-anticorps
III. Traitements actuels et recommandations
A. Traitement conventionnel
1. Vasodilatateurs-inhibiteurs calciques
2. Anticoagulants
3. Traitements diurétiques
4. Digitaliques
B. Traitements médicamenteux spécifiques
1. Traitement initial
2. Traitement combiné
3. Prostacycline et analogues
4. Inhibiteurs de la PDE5
5. Antagonistes des récepteurs de l'endothéline
6. Stimulateur de la guanylyl-cyclase soluble
C. Traitements non médicamenteux
1. Oxygénothérapie au long cours
2. L'atrioseptostomie
3. La transplantation pulmonaire ou cardiopulmonaire
D. Education thérapeutique et adaptation du mode de vie
IV. Perspectives de traitement
A. Agoniste des récepteurs de la prostacycline : Selexipag
B. Antagoniste des récepteurs de l'endothéline : Macitentan
C. Inhibiteur de la PDE5 : Vardénafil
D. Inhibiteurs de tyrosine-kinase
E. VIP : Aviptadil
F. Statines
G. Inhibiteurs de Rho-kinases
H. Progéniteurs de cellules endothéliales

V. Le facteur de croissance des nerfs (NGF) et son rôle potentiel dans l'HTP
- A. Généralités
- B. Récepteurs et voies de signalisation de NGF
  1. Le récepteur TrkA
     - a) La voie Ras/Raf
     - b) La voie PLC/PKC
     - c) La voie PI3K
  2. Le récepteur $p75^{NTR}$
     - a) Voies de signalisation conduisant à l'apoptose
       - Recrutement de protéines adaptatrices
       - Synthèse de céramides
       - Activation de la protéine Rac-1
     - b) Voies de signalisation conduisant à la survie cellulaire
- C. NGF et asthme
  1. NGF et hyperréactivité bronchique
  2. NGF et inflammation
  3. NGF et remodelage bronchique
- D. Stage d'initiation à la recherche
  1. Contexte
  2. Objectifs
  3. Résultats obtenus au cours du stage
     - a) Protocole
     - b) Mesure de la pression artérielle pulmonaire *in vivo* chez le rat anesthésié
     - c) Mesure de l'hypertrophie ventriculaire droite
     - d) Zymographie
  4. Discussion

Conclusion

Abréviations

5-HT : Sérotonine

5-HT1B/2A : récepteur de la sérotonine

ALK-1: Activin Like Kinase 1

AMPc : Adénosine Monophosphate cyclique

ATP : Adénosine Triphosphate

AVC : Accident Vasculaire Cérébral

BMP : bone morphogenetic proteins

BMPR-I: Bone Morphogenetic Protein Receptor type I

BMPR-II: Bone Morphogenetic Protein Receptor type II

CaM : calmoduline

DAG: Diacylglycérol

EGF: Epithélial Growth Factor

ERK: Extracellular signal-Regulated Kinase

ET-1: Endothéline-1

ETA/B : récepteurs d'ET-1

ETT : Echographie TransThoracique

FC : facteur de croissance

GCs: Guanylyl-Cyclase soluble

GMPc : Guanosine MonoPhosphate cyclique

GPCR : récepteurs couplés aux protéines G

GTP: Guanosine Triphosphate

HGF : Hepatocyte Growth Factor

HTAP : Hypertension Artérielle Pulmonaire

HTP : Hypertension Pulmonaire

IC : Index Cardiaque

IdM : Infarctus du Myocarde

IGF : insulin-like growth factor-1

IKK : Kinase de IκB

IL: Interleukine

IP_3: Inositol Triphosphate

IRAK : Interleukin-1 receptor associated kinase

JNK : c-Jun N-terminal kinases

Kv : canaux potassiques voltages-dépendants

MKK : mitogen activated protein kinase kinase

MCL : Chaînes légères de la myosine

MLCK: Myosin Light Chain Kinase

MLCP: Myosin Light Chain Phosphatase

MMPs : Métalloprotéinases de la matrice

NF-κB : nuclear factor-κB

NO : Monoxyde d'azote

NOS-3 : NO synthase endothéliale

P : phosphorylation

p38MAPK: P38 mitogen-activated protein kinases

PAPs : Pression Artérielle Pulmonaire systolique

PDE5 : Phosphodiestérase de type 5 (isoenzyme inactivant le GMP cyclique)

PDGF : Platelet Derived Growth Factor

PGH2 : prostaglandines H2

PGI_2 : Prostacycline I_2 = Prostacycline

PGI2-R : récepteur de la prostaglandine

PI3K : phosphatidyl-inositol 3 kinase

PIP_2 : Phosphatidylinositol Diphosphate

PKCι : protéine kinase C atypique ι

PKA/PKB/ PKG : Protein Kinase A/B/G

PLC-β: Phospholipase C β

TGF-β: Transforming Growth Factor β

VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine

VEGF: Vascular Endothelial Growth Factor

R-cytokines : récepteurs des cytokines

RIP2 : receptor-interacting protein-2

ROCK : Rho-kinase

RVP : Résistances Vasculaires Pulmonaires

Smad 1/5/8: protein Smad

Smad4: Common partner Smad

SVO_2 : Saturation veineuse en oxygène

TPH1 : tryptophane hydroxylase 1

TRAF6 : TNF receptor-associated factor 6

TxA2 : thromboxane A2

TxA2-R : récepteur de la TxA2

VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine

VIP : vasoactive intestinal peptide

VPAC-1/2 : récepteurs de VIP

Liste des figures

Figure 1 : Algorithme de diagnostic de l'HTP

Figure 2 : Voies de signalisation impliquées dans la physiopathologie de l'HTAP

Figure 3 : Rôle du NO dans la vasodilatation

Figure 4 : Voie de synthèse des prostaglandines

Figure 5 : Voie de signalisation de la PGI_2

Figure 6 : Effet de l'endothéline dans la vasoconstriction

Figure 7 : Voie de signalisation physiologique de BMP/ TGFβ

Figure 8 : Coupes histologiques représentant les différents types de lésions intervenants dans le remodelage artériel pulmonaire

Figure 9 : Algorithme décisionnel dans le traitement de l'HTAP

Figure 10 : Action du riociguat ciblant la voie de signalisation du NO dans le traitement de l'HTAP

Figure 11 : Récepteurs aux neurotrophines

Figure 12 : Voies de signalisation du récepteurs TrkA

Figure 13 : Voies de signalisation du récepteur $p75^{NTR}$

Figure 14 : Voies de signalisation du récepteur $p75^{NTR}$ induisant la survie cellulaire

Figure 15 : Protocole mis en place lors du traitement préventif des rats par des anticorps bloquants anti-NGF

Figure 16 : Résultats expérimentaux : Mesure des pressions artérielles pulmonaires

Figure 17 : Résultats expérimentaux : Mesure des indices de Fulton

Figure 18 : Résultats expérimentaux : Mesure de l'activité enzymatique de la métalloprotéinase de matrice MMP-2

Liste des tableaux

Tableau 1 : Classification des HTP

Tableau 2 : Facteurs de risque des HTP

Tableau 3 : Classification fonctionnelle de la dyspnée adaptée à l'HTP

Tableau 4 : Caractéristiques des 3 isoformes de l'endothéline

Introduction

L'hypertension pulmonaire est une maladie rare. Les maladies dites rares sont celles qui touchent un nombre restreint de personnes et posent de ce fait des problèmes spécifiques liés à cette rareté. Le seuil admis en Europe est d'une personne atteinte sur 2 000. *(www.orpha.net)* En effet, sa prévalence en France est estimée à 6 cas par million d'habitants pour l'HTAP idiopathique et 15 cas par million d'habitants pour les HTAP associées. La prédominance est féminine. L'âge de survenue des HTAP est variable, avec un pic de fréquence entre 30 et 50 ans pour les HTAP idiopathiques. *(CEP, 2013 ; Humbert et al., 2006)*

Le système vasculaire pulmonaire a la particularité de recevoir la totalité du flux sanguin et toute modification importante de débit cardiaque, de la surface du lit vasculaire pulmonaire ou des pressions post-capillaires (cardiopathie gauche) perturbe donc l'équilibre hémodynamique de ce système. De plus, la circulation pulmonaire est un système à faible pression, à faible résistance, haute densité et à haut débit et ceci est principalement dû à une haute compliance des artérioles pré-capillaires qui s'explique par une paroi mince, constituée d'une monocouche de cellules endothéliales recouvrant une fine couche de cellules musculaires lisses, alors que la paroi des vaisseaux systémiques est plus épaisse et très musculeuse et a une haute capacité à recruter des vaisseaux pour faire face à une augmentation de flux sanguin.

En l'absence d'anomalies et en condition normoxique, la pression moyenne dans l'artère pulmonaire est de l'ordre de 14 $\pm$ 3 mm Hg. De plus, d'importantes variations locales de vasoréactivité en réponse à divers stimuli tel que l'hypoxie sont observées, on parle de vasoconstriction pulmonaire hypoxique. Il s'agit d'un système d'auto adaptation loco-régionale permettant de maintenir un rapport ventilation/perfusion optimal, grâce à la redistribution du sang de zones pulmonaires mal ventilées vers des régions mieux ventilées. (Dao et al., 2006)

Une première partie présentera l'hypertension pulmonaire en détaillant la classification, les différents facteurs de risques, les manifestations cliniques, ainsi que quelques éléments permettant de poser le diagnostic d'hypertension pulmonaire.

Une deuxième partie abordera la physiopathologie de l'hypertension pulmonaire en expliquant les différentes voies de signalisations intervenant dans les trois grands mécanismes de cette pathologie qui sont : l'hyperréactivité, le remodelage et l'inflammation vasculaires pulmonaires.

Dans une troisième partie, les traitements actuels et les recommandations seront présentés, avec d'une part des traitements dits conventionnels et d'autre part des traitements dits spécifiques.

Les quelques traitements non médicamenteux ainsi que les moyens pour améliorer au mieux le quotidien des patients seront également abordés dans cette partie.

Enfin, dans une dernière partie, les nombreuses perspectives de nouveaux traitements seront détaillées, traitements déjà en essais cliniques ou encore en phase préclinique de validation. En particulier, les résultats d'un stage d'initiation à la recherche que j'ai pu mener au sein du laboratoire INSERM U1045 de l'Université de Bordeaux seront présentés et montreront l'intérêt thérapeutique potentiel du facteur de croissance des nerfs NGF comme nouvelle cible dans le traitement de l'hypertension pulmonaire.

I. Définition et présentation de la pathologie

A. Généralités

L'hypertension pulmonaire (HTP) est une maladie rare et grave pouvant survenir à n'importe quel âge. L'HTP est un terme général qui regroupe différents types d'HTP. En effet l'HTP peut être idiopathique, d'origine familiale ou secondaire à d'autres pathologies par exemple aux bronchopneumopathies chroniques obstructives (BPCO). (*Simonneau et al 2009*)

L'HTP est une maladie qui perturbe la circulation pulmonaire. Elle correspond à un groupe de maladies d'évolution progressive caractérisée par une élévation anormale de la pression sanguine au niveau des artères pulmonaires. L'hypertension pulmonaire est définie par une pression artérielle pulmonaire moyenne supérieure à 25 mmHg au repos attestée par des mesures faites lors d'un cathétérisme cardiaque droit. Chez le sujet sain, la pression artérielle pulmonaire est comprise entre 10 et 15 mmHg. Lors du vieillissement, cette pression artérielle pulmonaire peut augmenter mais cette augmentation est très discrète (de l'ordre de 1 mmHg par tranche de 10 ans).

Cette augmentation de pression résulte d'une augmentation des résistances au niveau des artères pulmonaires. Ceci est dû à un rétrécissement du calibre des vaisseaux, provoqué par un remodelage obstructif de la paroi des vaisseaux dû à la prolifération des cellules musculaires lisses et des cellules endothéliales associée à une surproduction de matrice extracellulaire, mais aussi à l'infiltration de cellules inflammatoires et à l'adhésion des plaquettes.

En parallèle au remodelage, la vasomotricité des artères pulmonaires est modifiée puisque les artères vont être beaucoup plus contractées. En effet, le dysfonctionnement de l'endothélium entraine un excès de synthèse de médiateurs vasoconstricteurs tel que l'endothéline et la sérotonine et un défaut de synthèse de médiateurs vasodilatateurs tels que le monoxyde d'azote (NO), ou la prostacycline (PGI_2).

L'élévation de la pression artérielle pulmonaire a principalement un retentissement sur le ventricule droit. Lorsqu'il est sain, ce dernier a une paroi mince qui se dilate facilement. Mais du fait de l'augmentation des résistances il va y avoir une augmentation du travail cardiaque. Ceci aboutit alors à une hypertrophie ventriculaire droite pour compenser ce travail supplémentaire provoqué par l'insuffisance. Puis au bout d'un moment, cette insuffisance ne peut plus être compensée conduisant à une décompensation accompagnée de dyspnée d'effort, d'œdèmes des membres inférieurs et une augmentation du volume du foie due à sa congestion (hépatomégalie). A long terme, cela peut entrainer jusqu'à la survenue d'un arrêt cardiaque brutal lors d'un effort.

B. Classification

L'utilisation d'une classification des hypertensions pulmonaires permet de regrouper des pathologies selon les similitudes dans leur physiopathologie, leur symptomatologie, et leur prise en charge. Avant 2004, l'hypertension était considérée soit comme primitive, c'est-à-dire sans cause connue, soit comme secondaire à une affection. *(Simonneau et al., 2004)* Depuis, cette classification a beaucoup évolué jusqu'à une dernière mise à jour en 2013, se basant sur les causes de la pathologie. On distingue ainsi sept catégories d'hypertension pulmonaire. *(Simonneau et al., 2013)* (Tableau 1)

1) Groupe 1 : Hypertension artérielle pulmonaire (HTAP)

L'HTAP regroupe un ensemble de pathologies touchant la microcirculation pulmonaire et caractérisées par une vasoconstriction, un remodelage vasculaire pulmonaire important et une inflammation. Le diagnostic se fait souvent très tard dans l'évolution de la pathologie. En effet, 75% des patients présentent une dyspnée d'effort de stade III (dyspnée pour les efforts modérés, avec importante limitation de l'activité physique) ou de stade IV (dyspnée au repos) de la New York Heart Association (NYHA). Les pourcentages entre parenthèses correspondent à la proportion de chaque HTAP dans le groupe 1.

a) HTAP idiopathique (40%)

L'hypertension artérielle pulmonaire est dite idiopathique quand aucune cause ne peut lui être associée. Cette forme est généralement sévère et en l'absence de traitement, la survie est estimée à environ 2 ans.

b) HTAP familiale ou héréditaire (4%)

L'hypertension artérielle pulmonaire héréditaire met en jeu une prédisposition génétique impliquant notamment des mutations génétiques au niveau des gènes codant pour des membres de la superfamille des récepteurs du TGF-β (Transforming Growth Factor-β). Dans 75% des cas, ces mutations affectent le gène codant pour BMPR-II (Bone Morphogenetic Protein Receptor type II). D'autres mutations moins communes peuvent toucher d'autres gènes tels que : BMPR-IB, ALK1, CAV1, ENG, Smad 9, ACVRL1 (5%). Quant aux 20% restants, aucune mutation n'a pu être identifiée. *(Chaouat et al., 2004 ; Harrison et al., 2003 ; Machado et al., 2009)*

Toutefois, la majorité des porteurs de la mutation ne développera jamais la maladie. Bien que les HTAP idiopathiques et familiales soient similaires sur le plan clinique, la seconde peut comporter des paramètres hémodynamiques plus sévères que la première et répond rarement aux traitements vasodilatateurs.

c) HTAP associée à la prise de substances médicamenteuses ou toxiques (6%)

Un certain nombre de médicaments et de toxines ont été identifiés comme des facteurs de risque impliqués dans le développement d'HTAP. La présentation clinique de patients atteints de cette forme d'HTAP semble comparable à celle de l'HTAP idiopathique. Les facteurs de risque ont été classés en fonction de la solidité des preuves comme définis, probables, possibles ou improbables. (Tableau 2 Sous-partie C)

d) HTAP associée aux connectivites (15%)

L'hypertension artérielle pulmonaire associée aux connectivites, maladies du tissu conjonctif, représente un important sous-groupe clinique, pour lequel la sclérodermie systémique représente la principale cause. *(Mujerkee et al., 2003)* L'atteinte des vaisseaux pulmonaires, et plus rarement l'atteinte du myocarde, sont la cause de l'élévation des pressions pulmonaires.

Cette forme d'HTAP répond difficilement aux traitements spécifiques mais la prise d'immunosuppresseurs semble montrer une amélioration des HTAP associées aux lupus et aux connectivites mixtes. *(Sanchez, 2010 ; Degano, 2006 ; Jais et al., 2008 ; Kuwana et al., 2013)*

e) HTAP associée à l'infection par le VIH (6%)

L'hypertension artérielle pulmonaire est une complication assez rare de l'infection par le VIH (Virus de l'Immunodéficience Humaine). D'un point de vue clinique, hémodynamique et histologique, l'HTAP associée au VIH est très proche de l'HTAP idiopathique. Les progrès dans la prise en charge du VIH ont permis de faire baisser la prévalence de l'HTAP associée au VIH. *(Mehta et al., 2000)*

f) HTAP associée à l'hypertension portale (10%)

L'association de l'HTAP avec une hypertension portale est connue sous le nom d'hypertension porto-pulmonaire. Elle est définie par le développement de l'HTAP associée à une pression accrue dans la circulation portale. *(Hoeper et al., 2004)*

Table 1	Updated Classification of Pulmonary Hypertension*

1. Pulmonary arterial hypertension
   1.1 Idiopathic PAH
   1.2 Heritable PAH
   1.2.1 BMPR2
   1.2.2 ALK-1, ENG, **SMAD9, CAV1, KCNK3**
   1.2.3 Unknown
   1.3 Drug and toxin induced
   1.4 Associated with:
   1.4.1 Connective tissue disease
   1.4.2 HIV infection
   1.4.3 Portal hypertension
   1.4.4 Congenital heart diseases
   1.4.5 Schistosomiasis

1′ Pulmonary veno-occlusive disease and/or pulmonary capillary hemangiomatosis

1″. Persistent pulmonary hypertension of the newborn (PPHN)

2. Pulmonary hypertension due to left heart disease
   2.1 Left ventricular systolic dysfunction
   2.2 Left ventricular diastolic dysfunction
   2.3 Valvular disease
   2.4 Congenital/acquired left heart inflow/outflow tract obstruction and congenital cardiomyopathies

3. Pulmonary hypertension due to lung diseases and/or hypoxia
   3.1 Chronic obstructive pulmonary disease
   3.2 Interstitial lung disease
   3.3 Other pulmonary diseases with mixed restrictive and obstructive pattern
   3.4 Sleep-disordered breathing
   3.5 Alveolar hypoventilation disorders
   3.6 Chronic exposure to high altitude
   3.7 Developmental lung diseases

4. Chronic thromboembolic pulmonary hypertension (CTEPH)

5. Pulmonary hypertension with unclear multifactorial mechanisms
   5.1 Hematologic disorders: **chronic hemolytic anemia**, myeloproliferative disorders, splenectomy
   5.2 Systemic disorders: sarcoidosis, pulmonary histiocytosis, lymphangioleiomyomatosis
   5.3 Metabolic disorders: glycogen storage disease, Gaucher disease, thyroid disorders
   5.4 Others: tumoral obstruction, fibrosing mediastinitis, chronic renal failure, **segmental PH**

*5th WSPH Nice 2013. Main modifications to the previous Dana Point classification are in **bold**.
BMPR = bone morphogenic protein receptor type II; CAV1 = caveolin-1; ENG = endoglin; HIV = human immunodeficiency virus; PAH = pulmonary arterial hypertension.

<u>Tableau 1 :</u> Classification des HTP définie lors du 5th World Symposium on Pulmonary Hypertension (WSPH) en Octobre 2013, à Nice, France

(Simonneau et al., 2013)

g) HTAP associée aux cardiopathies congénitales avec shunt droit-gauche (15%)

Une proportion importante de patients ayant une cardiopathie congénitale avec un shunt droit-gauche développeront une HTAP si elle n'est pas traitée. Le syndrome d'Eisenmenger définit tous les cas d'hypertension artérielle pulmonaire induite par des shunts qui font communiquer les circulations pulmonaires et systémiques. Ces cardiopathies sont classées en fonction du type, de la taille et de la correction spontanée ou chirurgicale des anomalies. Ce sont ces caractéristiques, et plus particulièrement la taille de l'anomalie, qui influent sur le risque de développer une HTAP. Ce risque est d'autant plus élevé qu'il existe des communications interventriculaires ou interauriculaires. *(Vogel et al., 1999)*

En comparaison à l'HTAP idiopathique, les complications hémorragiques et thrombotiques sont plus fréquentes en présence d'une cardiopathie congénitale mais le pronostic vital à long terme semble plus favorable.

h) HTAP associée à la bilharziose

Cette forme d'HTAP a été ajoutée au groupe 1 en raison de ses points communs avec l'HTAP idiopathique notamment d'un point de vue clinique et histopathologique. Cette maladie est caractérisée par la présence de larves de *Schistosoma* qui vont migrer par voie sanguine aux poumons puis vers d'autres organes comme le foie, l'intestin ou la vessie. Au stade adulte, elles vont se reproduire sous forme d'œufs qui peuvent persister dans l'organisme, principalement au niveau hépatique, avant de migrer au niveau pulmonaire où ils créent une réaction inflammatoire intense à l'origine de l'HTAP. La mise en jeu d'une hypertension portale semble probable. *(Lapa et al., 2009)*

2) Groupe 1' : Maladie veino-occlusive pulmonaire et hémangiomatose capillaire

Du fait de leurs similitudes avec l'HTAP idiopathique, la maladie veino-occlusive pulmonaire et l'hémangiomatose capillaire ont été indexées dans une catégorie particulière du groupe 1. En effet, le remodelage au niveau des veinules et des capillaires pulmonaires est comparable. La sévérité de ces anomalies chez un patient souffrant d'HTAP réside dans le risque d'aggravation, parfois mortelle, de l'œdème pulmonaire sous traitement vasodilatateur. *(Montani et al., 2009)*

3) Groupe 1'' : Hypertension pulmonaire persistante du nouveau-né (PPHN)

Cette forme d'HTP serait liée à une production inadéquate de NO. En effet, une étude réalisée sur 65 nouveau-nés en détresse respiratoire a montré que ceux souffrant d'une hypertension pulmonaire persistante avaient des taux plus faibles d'arginine. Cette baisse de la quantité d'arginine disponible pour produire du NO serait due à une variation de l'activité de la carbamyl-phosphatase synthétase qui est une enzyme clé participant au cycle de l'urée. Il semblerait que son gène ait subi une modification. *(Blaysat, 2010 ; Byers et al., 2011)*

4) Groupe 2 : Hypertension pulmonaire associée à une cardiopathie gauche

L'élévation de la pression veineuse pulmonaire liée à une cardiopathie gauche provoque une élévation des pressions dans l'ensemble de la circulation pulmonaire. Ainsi, la prise en charge consiste à corriger cette anomalie et/ou à améliorer la contractilité ventriculaire gauche. *(Simonneau et al., 2013)*

5) Groupe 3 : Hypertension pulmonaire associée aux affections respiratoires et/ou l'hypoxémie

Dans ce groupe, la cause principale d'hypertension pulmonaire est l'hypoxie alvéolaire résultant d'une maladie pulmonaire chronique ou d'un séjour prolongé à haute altitude. L'hypertension pulmonaire est donc fonction du degré d'insuffisance respiratoire causée par une mauvaise oxygénation du sang. L'oxygénothérapie constitue donc le traitement de référence pour cette catégorie d'hypertension pulmonaire. *(Simonneau et al., 2013)*

6) Groupe 4 : Hypertension pulmonaire secondaire à une maladie thromboembolique chronique

La persistance et l'organisation fibreuse de caillots après une ou plusieurs embolies pulmonaires peut entrainer une hypertension pulmonaire post-embolique. Le remodelage de la microcirculation pulmonaire, similaire à celui observé dans l'HTAP idiopathique se développe et s'associe à l'obstruction liée aux caillots fibreux pour entrainer une défaillance progressive du ventricule droit. C'est la seule forme d'hypertension pulmonaire curable grâce à une opération chirurgicale. L'association du Bosentan (Tracleer® : antagoniste des récepteurs de l'endothéline) à des anticoagulants semble efficace dans le traitement des formes distales inopérables. *(Simonneau et al., 2013)*

7) Groupe 5 : Hypertension pulmonaire de mécanismes multifactoriels ou incertains

Des pathologies variées constituant des causes rares d'hypertension pulmonaire sont maintenant individualisées et regroupées dans cette cinquième catégorie qui inclut les HTP dues à une compression extrinsèque des vaisseaux pulmonaires par des adénopathies, des tumeurs ou une fibrose médiastinale par exemple. *(Simonneau et al., 2013)*

C. Les différents facteurs de risque intervenant dans l'HTP

Iatrogènes et toxiques
Prouvés ou très probables : – Anorexigène : Aminorex, dérivés de la fenfluramine (Benfluorex : Médiator®) – Amphétamines – L-tryptophane Possibles : – Cocaïne – Méta-amphétamines – Chimiothérapie
Conditions démographiques
Prouvés ou très probables : – Sexe féminin – Grossesse – Hypertension artérielle systémique Possible : Obésité
Pathologies médicales
Prouvés ou très probables : – Infection par le VIH – Hypertension portale/Atteinte hépatique chronique – Connectivite – Cardiopathie congénitale avec shunt Possible : Pathologies thyroïdiennes

Tableau 2 : Facteurs de risque des hypertensions artérielles pulmonaires,

(Montani, et al, 2005)

D. Manifestations cliniques de l'HTP

Actuellement, aucun signe spécifique de l'HTP n'a pu être décrit. Les manifestations que l'on peut observer ne sont en réalité que le retentissement de la maladie sur le cœur droit ou des manifestations liées à la maladie sous-jacente (sclérodermie, cirrhose, …).

Le signe le plus souvent retrouvé est la dyspnée. Elle est présente chez 95% des patients. En règle générale, cette dyspnée apparaît de façon progressive, ce qui fait qu'elle est souvent négligée expliquant ainsi le fréquent retard à la prise en charge (estimé à environ 2 ans entre le début des symptômes et le diagnostic).

A l'effort, il peut apparaitre des douleurs thoraciques, des lipothymies ou des syncopes. Ces signes représentent des critères majeurs de gravité de la maladie. Des palpitations ou des troubles du rythme peuvent être notés.

Des hémoptysies peuvent compliquer l'HTP, nécessitant quelque fois une embolisation artérielle bronchique du fait d'une hypertrophie.

Il faut également rechercher de façon systématique des signes d'insuffisance ventriculaire droite tel que la turgescence jugulaire, le reflux hépatojugulaire et les hépatalgies. Les œdèmes des membres inférieurs, l'ascite et l'anasarque (syndrome œdémateux généralisé) soulignent la sévérité de l'insuffisance cardiaque droite. (*Montani, et al, 2005)*

E. Diagnostic

Les symptômes sont liés à des troubles hémodynamiques en rapport avec la maladie vasculaire pulmonaire sous-jacente. Les symptômes de l'HTP sont aspécifiques et apparaissent typiquement à l'effort incluant dyspnée, asthénie, syncope, angine de poitrine et toux. La rétention hydrique, en particulier l'ascite, apparaît dans les cas les plus sévères.

Une certitude diagnostique est requise, car le traitement adapté est guidé par l'étiologie et la sévérité de l'HTP.

Le diagnostic d'HTP repose sur une démarche clinique rigoureuse comportant trois étapes incluant les données de l'interrogatoire, de l'examen clinique et les résultats d'explorations complémentaires :

- Détection et confirmation d'HTP (diagnostic positif)
- Elimination des autres causes d'HTP et classement en fonction ou non de la présence d'une pathologie associée (diagnostic étiologique)
- Evaluation de la sévérité

Il est important de classer les patients selon la classification clinique d'HTP afin de pouvoir adapter le traitement à la sévérité de la maladie, surtout lorsqu'il s'agit d'une hypertension pulmonaire liée à une cardiopathie gauche ou à une pathologie pulmonaire avec ou sans hypoxémie, pour lesquelles l'efficacité des traitements n'a pas encore été bien établie. *(Barst et al., 2004 ; HAS, 2007 ; Collège des Enseignants de Pneumologie, 2013)*

1) Détection et confirmation de l'HTP

Il faut faire le bilan des symptômes cliniques compatibles avec une HTP, la dyspnée étant le principal point d'appel de la maladie. Elle est retrouvée dans plus de 90% des cas, son aggravation progressive est responsable d'un retentissement fonctionnel sur les activités quotidiennes.

Les autres signes fonctionnels d'appel sont l'asthénie, la lipothymie à l'effort, les syncopes, les douleurs angineuses, les palpitations, les hémoptysies.

Pour les signes physiques, on va retrouver des signes d'HTP sont retrouvés tels qu'un souffle holosystolique d'insuffisance tricuspidienne se majorant à l'inspiration profonde, éclat de B2 au foyer pulmonaire, souffle systolique d'insuffisance pulmonaire. On retrouve aussi des signes d'insuffisance cardiaque droite compliquant l'HTP tels que la tachycardie, le galop, la turgescence jugulaire, le reflux hépato-jugulaire, une hépatomégalie, des œdèmes des membres inférieurs, voire une anasarque. *(Collège des Enseignants de Pneumologie, 2013)*

Certains examens paracliniques usuels peuvent mettre en évidence des éléments orientant vers une HTP :

- Imagerie thoracique : hypertrophie du tronc et des branches proximales des artères pulmonaires et augmentation de l'index cardio-thoracique. On peut également observer des anomalies parenchymateuses suggérant une pathologie respiratoire associée ou une forme particulière d'HTAP. *(Montani et al., 2005 ; Montani et al., 2013 ; HAS, 2007 ; Collège des Enseignants de Pneumologie, 2013)*
- ECG : démontre l'hypertrophie de l'oreillette et du ventricule droit. *(Montani et al., 2005 ; Montani et al. ,2013 ; HAS, 2007 ; Collège des Enseignants de Pneumologie, 2013)*

Mais, l'examen non invasif de référence devant toute suspicion d'HTP ou dans le cadre du dépistage est l'échographie transthoracique (ETT) couplée au doppler. Elle permet d'estimer la Pression Artérielle Pulmonaire systolique (PAPs) par la mesure de la vitesse maximale de la fuite tricuspide et l'estimation de la pression auriculaire droite. On suspecte une HTP quand la PAPs évaluée en échographie est supérieure à 35mmHg. En général, on retrouve une dilatation des cavités droites associée à un mouvement paradoxal du septum interventriculaire et l'existence éventuelle d'un épanchement péricardique.

On peut également rechercher une dysfonction cardiaque gauche systolique ou diastolique, une valvulopathie, une cardiopathie congénitale, ou un shunt droit-gauche par réouverture du foramen ovale *(Montani et al., 2005 ; Montani et al.,2013 ; Has, 2007 ; Collège des Enseignants de Pneumologie, 2013).*

En cas de détection d'une HTP par l'échographie transthoracique, il est nécessaire d'effectuer un cathétérisme cardiaque droit pour confirmer le diagnostic et affirmer l'atteinte précapillaire. Il s'agit de l'examen invasif de référence pour le diagnostic positif d'HTP. L'HTP est définie par une PAPm supérieure ou égale à 25mmHg. Le caractère précapillaire est défini par une Pression Artérielle Pulmonaire Ocluse (PAPO) inférieure ou égale à 15mmHg. *(Montani et al., 2005 ; Montani et al., 2013 ; Has, 2007 ; Collège des Enseignants de Pneumologie, 2013)*

2) Diagnostic étiologique

Il s'agit d'une étape essentielle à la prise en charge. En effet, l'examen clinique complété par un certain nombre d'investigations va permettre d'identifier une étiologie à l'HTP et/ou de classer le groupe auquel se réfère l'HTP. A ce moment-là, il sera possible de proposer un traitement adapté. La démarche diagnostique vise à identifier d'abord les trois causes les plus fréquentes d'HTP : cardiaque, respiratoire, et thromboembolique chronique. (Figure 1)

Tout d'abord, un interrogatoire va permettre de lister des antécédents connus comme étant des facteurs de risques d'HTP (comme par exemple la prise d'anorexigènes, la sclérodermie, infection au VIH, hypertension portale, cardiopathie congénitale, …), ou bien des antécédents familiaux d'HTP ainsi que des signes évocateurs d'une pathologie associée (comme par exemple un phénomène de Raynaud dans la sclérodermie). De plus, le médecin va rechercher à l'examen des signes d'une pathologie associée (signes cutanés de sclérodermie, signes d'hypertension portale, cyanose en faveur d'une cardiopathie congénitale) mais également de pathologies pouvant compliquer l'HTP telles qu'une insuffisance cardiaque gauche, une pathologie valvulaire ou une maladie respiratoire chronique.

L'échographie transthoracique va permettre de rechercher une altération de la fonction ventriculaire gauche systolique ou diastolique, une pathologie valvulaire ou une cardiopathie congénitale.

Ensuite, on va réaliser des explorations fonctionnelles associées à la gazométrie artérielle dans le but de détecter et de chiffrer un trouble ventilatoire obstructif ou restrictif, un trouble de la diffusion ou une hypoventilation alvéolaire. Dans l'HTP les débits et les volumes pulmonaires sont normaux mais la diffusion libre du monoxyde de carbone (DLCO) est abaissée traduisant l'atteinte vasculaire pulmonaire.

La scintigraphie pulmonaire de ventilation/perfusion est systématique afin d'éliminer une pathologie thromboembolique chronique. Un examen normal permet d'exclure ce diagnostic.

L'imagerie thoracique et la tomodensitométrie thoracique à haute résolution recherchent des signes évocateurs d'une pathologie pulmonaire chronique (emphysème, pathologie interstitielle sur coupes parenchymateuses) et des signes évocateurs d'une thromboembolie chronique (sur coupes médiastinales après injection). Ceux-ci doivent être confirmés par une angiographie pulmonaire.

Par ailleurs, une exploration hépatique est nécessaire par un bilan biologique hépatique et une échographie abdominale couplée au doppler du tronc porte pour rechercher une éventuelle hypertension portale.

On peut aussi réaliser une sérologie VIH, VHB et VHC (Hépatite B et C) après accord du patient et une recherche de marqueurs d'auto-immunité afin de dépister une éventuelle connectivite.

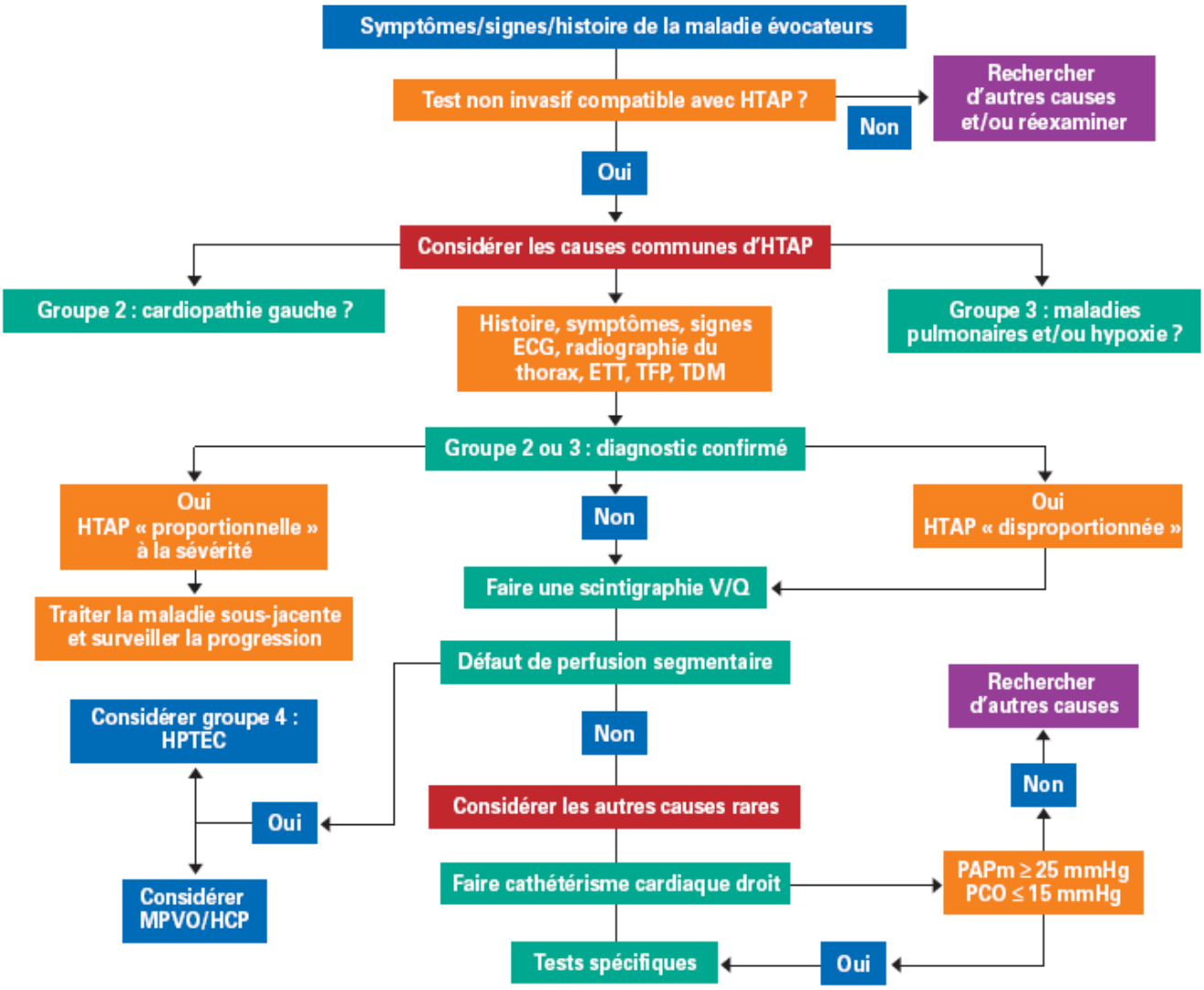


Figure 1 : Algorithme de diagnostic de l'hypertension artérielle pulmonaire

(Duong-Quy, 2010)

3) Evaluation de la sévérité

L'importance de la dyspnée est évaluée selon la classe fonctionnelle NYHA adaptée pour les patients atteints d'HTP. Elle permet une évaluation simple et reproductible au cours du suivi. Cette classification NYHA est un élément pronostique majeur, puisque les patients en classe fonctionnelle III et IV ont une survie très inférieure à celle des patients en classe fonctionnelle I ou II. (Tableau 3)

L'évaluation de la dyspnée est complétée par un test de marche de 6 minutes. Il s'agit d'un moyen simple et facilement reproductible d'évaluer le handicap fonctionnel causé par la maladie. On y associe la mesure continue de l'oxymétrie, de la fréquence cardiaque et l'évaluation par le patient d'un score de dyspnée (Echelle de Borg). *(Miyamoto et al., 2000 ; Paciocco et al., 2001)*

Lors du cathétérisme droit, la mesure de la pression auriculaire droite, de l'index cardiaque, de la saturation en oxygène du sang veineux même ainsi que le calcul des résistances pulmonaires totales permettent d'évaluer la gravité et le pronostic des sujets atteints d'HTP. De même, l'existence d'une réponse en aigu aux vasodilatateurs est un élément de bon pronostic.

Le dosage de certaines substances est corrélé à la sévérité de la maladie. C'est le cas en particulier du brain natriuretic peptide (BNP) mais aussi de l'endothéline-1, de l'uricémie, et de la troponine T. *(Barst et al., 2004 ; Montani et al., 2005 ; Montani et al.,2013 ; Has, 2007)*

Classe I
Patients atteints d'HTP ne présentant pas de limitation de l'activité physique. Les activités physiques habituelles n'induisent pas de dyspnée ou de fatigue excessive, ni de douleurs thoraciques ou de sensations lipothymiques.
Classe II
Patients atteints d'HTP, légèrement limités dans leur activité physique. Ces patients ne sont pas gênés au repos. Les activités physiques habituelles induisent une dyspnée ou une fatigue excessive, des douleurs thoraciques ou des sensations lipothymiques.
Classe III
Patients atteints d'HTP, très limités dans leur activité physique. Ces patients ne sont pas gênés au repos. Les activités physiques même légères induisent une dyspnée ou une fatigue excessive, des douleurs thoraciques ou des sensations lipothymiques.
Classe IV
Patients atteints d'HTP, incapables de mener quelque activité physique que ce soit sans ressentir de symptômes. Ces patients ont des signes d'insuffisance cardiaque droite. Une dyspnée et/ou une fatigue peut être présente même au repos. Le handicap est augmenté par n'importe quelle activité physique.

Tableau 3: Classification fonctionnelle de la dyspnée adaptée à l'HTP (OMS, Evian 1998- Version modifiée de la classification NYHA)

II. Physiopathologie de l'HTP

Au cours de l'HTP, on observe trois phénomènes physiopathologiques majeurs : une hyperréactivité, un remodelage et une inflammation des artères pulmonaires.

A. Voies de signalisation mises en jeu dans l'HTP

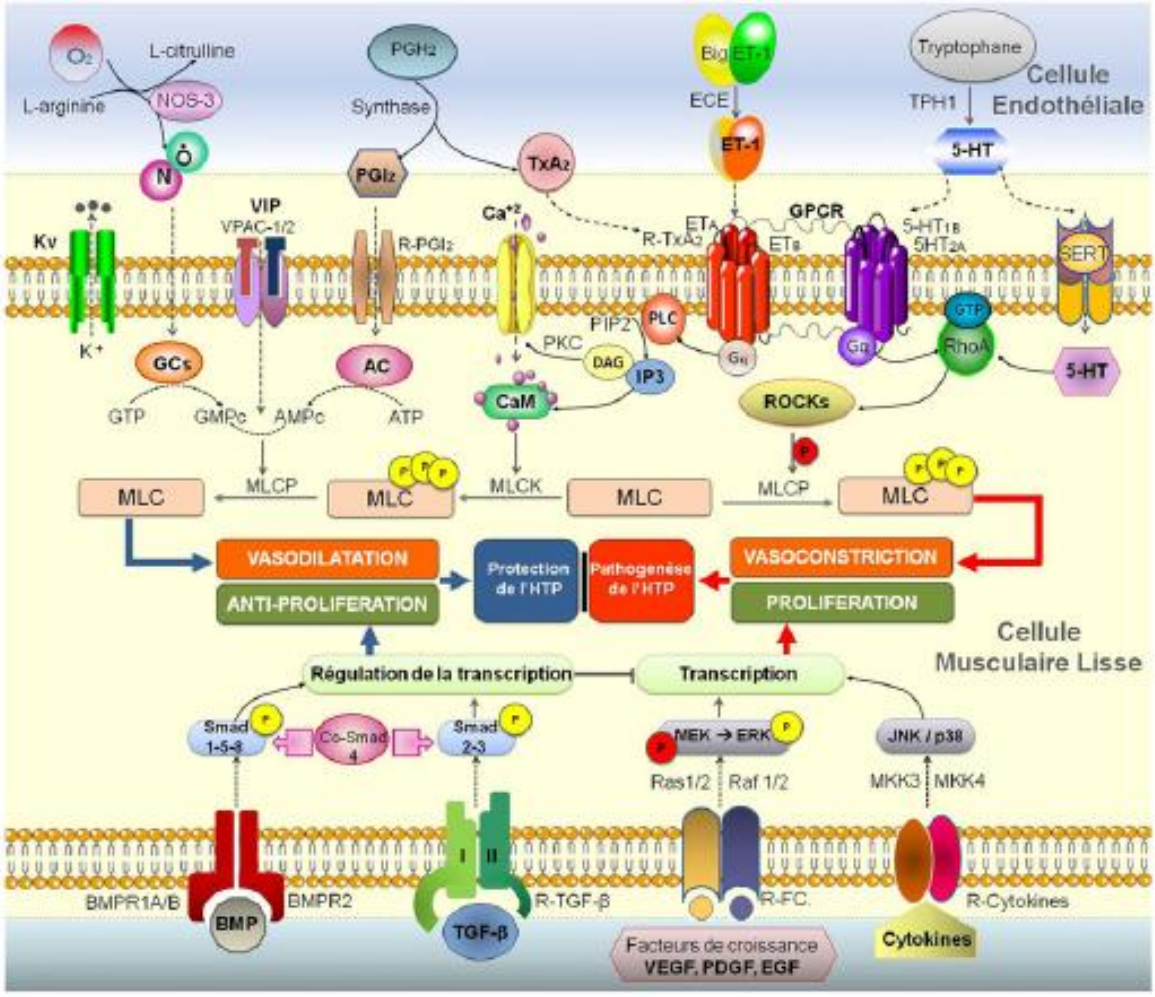


Figure 2 : Voies de signalisation impliquées dans la physiopathologie de l'HTP. (Duong-Quy et al., 2012)En haut : dans la cellule musculaire lisse la vasodilatation est médiée par le NO, la prostacycline et le VIP via le GMPc et l'AMPc ; la vasoconstriction est régulée par des récepteurs membranaires couplés aux protéines G et l'IP3, et la voie RhoA/Rho-kinase. En bas : la prolifération de la cellule musculaire lisse est sous le contrôle des cytokines, des facteurs de croissances et du TGF-β. La transcription est médiée par les protéines BMP, ses récepteurs membranaires et les voies de signalisation des Smad et des MAP kinases (MKK et ERK) Abréviations : NOS-3 : NO synthase endothéliale ; NO : monoxyde d'azote ; PGH_2 : prostaglandines H_2 ; PGI_2 : prostaglandine I_2 ; PGI_2-R : récepteur de la prostaglandine ; TxA_2 : thromboxane A_2 ; TxA_2-R : récepteur de la TxA_2 ; ET-1 : endothéline-1 ; ETA/B : récepteurs d'ET-1 ; TPH1 : tryptophane hydroxylase 1 ; 5-HT : sérotonine ; 5-$HT_{1B/2A}$: récepteur de la sérotonine ; GPCR : récepteurs couplés aux protéines G ; Kv : canaux potassiques voltages-dépendants ; VIP : vasoactive intestinal peptide ; VPAC-1/2 : récepteurs de VIP ; CaM : calmoduline ; PLC : phospholipase C ; PIP2 : phosphatidyl-inositol-diphosphate ; IP3 : inositol-triphosphate ; PKC : protéine kinase C ; DAG : diacylglycérol ; SERT : transporteur de la sérotonine ; ROCK : Rho-kinase ; MLCK : chaînes légères de la myosine kinase ; MLCP : chaînes légères de la myosine phosphate ; MCL : Chaînes légères de la myosine ; P : phosphorylation ; JNK : c-Jun N-terminal kinases ; MKK : mitogen activated protein kinase kinase ; R-cytokines : récepteurs des cytokines ; ERK : extracellular signal-regulated kinases ; FC : facteurs de croissance ; TGF-β : transforming growth factor-β ; PDGF : platelet-derived growth factor ; VEGF : vascular endothelial growth factor ; EGF : epidermal growth factor ; BMP : bone morphogenetic proteins ; BMPR1A-B/2 : récepteurs des protéines BMP.

1) Le Monoxyde d'azote (NO)

Le NO est synthétisé grâce à la NO synthase endothéliale (NOSe). Cette dernière est activée suite à la stimulation des récepteurs membranaires activés par la sérotonine (5-HT), l'acétylcholine (ACh) et l'adénosine monophosphate (ADP), qui induit une augmentation du calcium (Ca^{2+}) intracytosolique et ensuite l'activation de la calmoduline. La synthèse de NO induite par les forces de cisaillement est indépendante de la concentration de Ca^{2+} intracellulaire.

La NOSe produit alors du NO et de la L-citrulline suite à la réaction entre la L-arginine et l'oxygène (O_2). Une fois synthétisé, le NO diffuse rapidement à l'extérieur de la cellule qui le synthétise pour agir sur les cellules avoisinantes selon un mode paracrine. Ici, il va diffuser au sein des cellules musculaires lisses vasculaires pulmonaires et entrainer la production de GMPc (Guanosine Monophosphate cyclique) à partir de GTP (Guanosine Triphosphate) grâce à l'activation d'une enzyme cytosolique, la Guanylyl Cyclase soluble (GCs). (Figure 3)
L'augmentation du GMPc est responsable de la relaxation des cellules musculaires lisses. Puis la Phosphodiestérase-5 (PDE-5) transforme la GMPc en GMP interrompant la relaxation.

En effet, le GMPc active une série de protéines kinases notamment les protéines kinases G de type I, qui en déclenchant une cascade de phosphorylation sur diverses protéines cibles, contrôle directement ou indirectement la contractilité de la cellule musculaire lisse. L'activation de ces protéines kinases dépendant du GMPc (PKG) provoque l'ouverture des canaux potassiques avec efflux de potassium (K+) hors de la cellule entrainant ainsi l'hyperpolarisation de la membrane cellulaire. Il y a aussi une diminution de la concentration de calcium intracellulaire responsable de la relaxation des cellules musculaires lisses.

La diminution de l'expression de la NOSe observée chez les sujets atteints d'HTAP participe au défaut de vasodilatation lié à la dysfonction endothéliale. On peut également citer les espèces réactives de l'oxygène qui vont interagir avec le NO et diminuer son efficacité. *(Duong-Quy et al., 2012 ; Giad et al., 1995)*

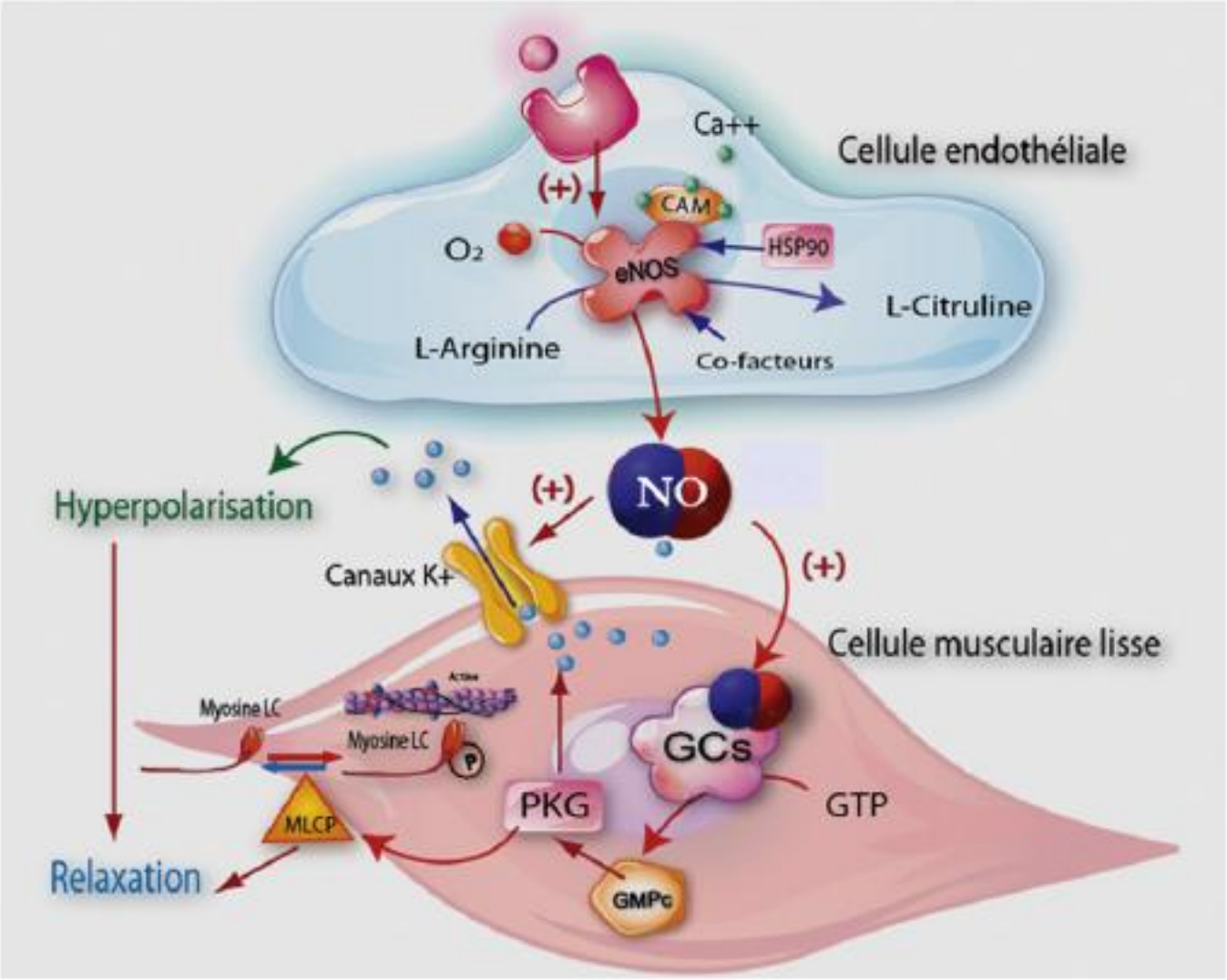


Figure 3 : Rôle du monoxyde d'azote dans la vasodilatation. (Duong-Quy et al., 2012) Abréviations: Ca : calcium ; O2 : CaM : calmoduline ; NOSe : NO synthase endothéliale ; NO : monoxyde d'azote ; HASP: K+: potassium ; GCs: guanylyl cyclase soluble ; GTP: guanosine triphosphate ; GMPc: guanosine monophosphate cyclique ; PKG : protéines kinases dépendant du GMPc ; P : phosphate ; MLCP : phosphatase des chaînes légères de la myosine.

2) Prostaglandines et Thromboxane A_2

Les prostanoïdes sont des métabolites de l'acide arachidonique obtenus à partir de phospholipides membranaires par action de la phospholipase A2 (PLA2). L'action des cyclo-oxygénases (COX) sur l'acide arachidonique donne plusieurs métabolites dont la prostacycline (PGI_2) et le thromboxane A2 (TXA2).

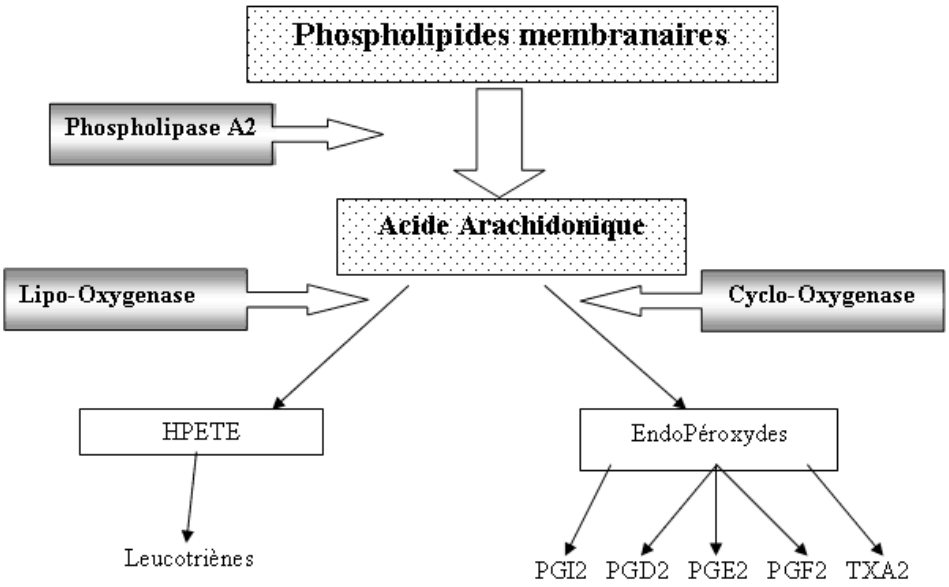


Figure 4 : Voie de synthèse des prostaglandines

(*http://www.medecine.ups-tlse.fr/DCEM2/module8/item112/indexI1.htm)*

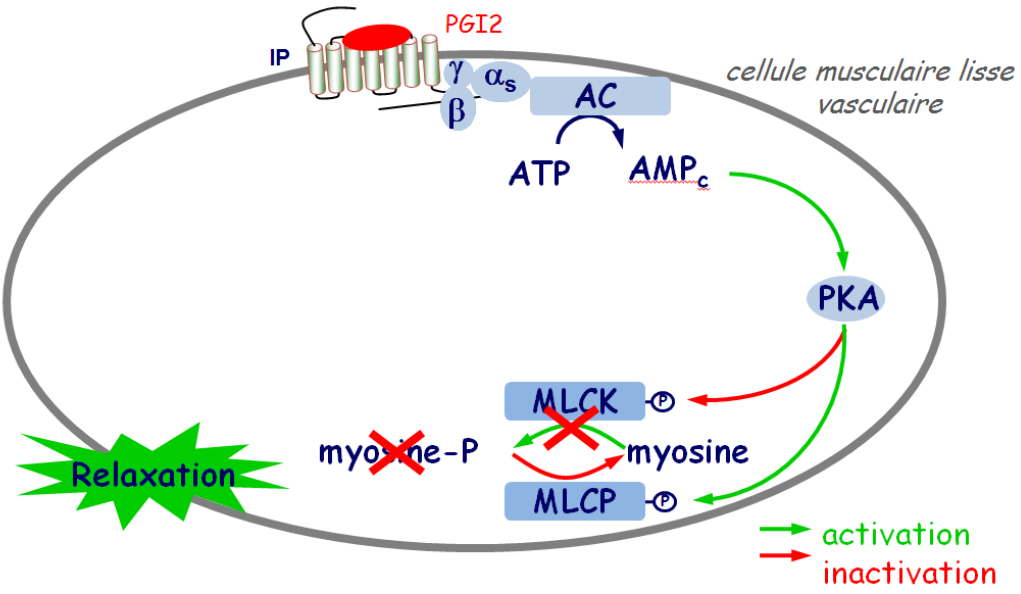


Figure 5 : Voie de signalisation de la PGI_2 (cours de 3ème année, transmissions adrénergiques). La PGI2 agit sur son récepteur IP et permet l'augmentation d'AMPc grâce à l'activation de l'adénylate cyclase. L'AMPc va activer la PKA qui va phosphoryler la MLCP et la MLCK. La myosine n'étant plus phosphorylée, elle ne peut plus se lier à l'actine ce qui conduit à une relaxation des cellules musculaires lisses vasculaires. Abréviations : IP : récepteur de la PGI_2 ; PGI_2 : Prostacycline ; AC : adénylate cyclase ; ATP : adénosine triphosphate ; AMPc : adénosine monophosphate cyclique PKA : protéine kinase A ; MLCK : kinase des chaînes légères de la myosine ; MLCP : phosphatase chaînes légères de la myosine ; P : phosphorylation.

La prostacycline, principalement sécrétée au niveau de l'endothélium vasculaire pulmonaire, est un vasodilatateur pulmonaire endogène important qui agit par le biais de l'activation des voies dépendantes de l'adénosine monophosphate cyclique (AMPc). En effet, elle entraine une augmentation d'AMPc qui va activer la protéine kinase A (PKA) qui va phosphoryler la kinase (MLCK) et la phosphatase (MLCP) des chaines légères de la myosine provoquant l'inhibition de la première et l'activation de la seconde. La myosine n'étant plus phosphorylée, elle ne peut plus interagir avec l'actine induisant la relaxation des cellules musculaires lisses artérielles pulmonaires et donc une diminution de la pression artérielle (Figure 5). Elle inhibe aussi la prolifération des cellules musculaires lisses et diminue l'agrégation plaquettaire.

La synthèse de PGI_2 est diminuée dans les cellules endothéliales pulmonaires des patients atteints d'HTP, du fait de la diminution d'expression de la prostacycline synthase dans ces cellules. *(Perros et al, 2007 ; Duong-Quy, 2012)*

Le thromboxane A2 (TXA2), un puissant agrégant plaquettaire, également produit par les cellules endothéliales, est quant à lui un vasoconstricteur. En effet, l'activation de la phospholipase Cβ (PLCβ) par le TXA2 au niveau des cellules musculaires lisses entraine une augmentation de la concentration de calcium intracellulaire qui va pouvoir se complexer avec la calmoduline, activer la MLCK qui va permettre la phosphorylation de la myosine. Celle-ci pourra alors interagir avec

l'actine et entrainer ainsi la contraction cellulaire. On observe alors une augmentation de la pression artérielle pulmonaire.

Chez les patients atteints d'HTP idiopathique, il y a une diminution des produits du métabolisme de la PGI_2 dans les urines associée à une augmentation des produits du métabolisme du tromboxane A2. De plus, l'expression des récepteurs du tromboxane A2 est significativement élevée chez les patients atteints d'HTP. *(Christman et al., 1992 ; Duong-Quy, 2012)*

Il y a donc un déséquilibre causé par un défaut de production de la PGI_2 et une augmentation de l'activité du TXA2 entrainant un trouble de la relaxation et un remodelage des artères pulmonaires.

3) L'Endothéline

L'endothéline est un puissant vasoconstricteur. Il existe 3 isoformes nommées respectivement ET1, ET2, ET3 qui ont une forte similitude de séquences en acides aminés mais qui diffèrent par leur profil d'expression tissulaire par les cellules endothéliales principalement et dans une moindre mesure par les leucocytes, les cellules musculaires lisses, les cardiomyocytes et les cellules épithéliales et par leur affinité pour les récepteurs de l'endothéline. (Tableau 4) *(Dao et al., 2006 ; Lüscher et al., 2000)*

Tableau II.
Caractéristiques de l'ET-1, l'ET-2 et l'ET-3.

	ET-1	ET-2	ET-3
Gène (préproET)	**EDN1**	**EDN2**	**EDN3**
Localisation du gène codant la préproET	Chromosome 6 6p23-p24	Chromosome 1 1p34	Chromosome 20 20q13.2-13.3
Tissu produisant ET	Pulmonaire ++ Cardiaque *Circulante dans le plasma*	Cardiaque, Rénal, Placentaire *Circulante dans le plasma*	Pulmonaire, Rénal, Intestinal *Circulante dans le plasma*
Cellules productrices	Cellules endothéliales, Cellules épithéliales, Macrophages, Fibroblastes, Cardiomyo-cytes, Neurones	Cellules épithéliales du rein et de l'intestin, Cardiomyocytes,	Cellules endothéliales, Neurones, Cellules épithéliales du rein et de l'intestin Cellules épithéliales du rein et de l'intestin
Récepteurs	ET_A et ET_B	ET_A et ET_B	$ET_B >> ET_A$

Tableau 4 : Caractéristiques des trois isoformes de l'endothéline. (P.Dao et al., 2006) (Abréviations : ET : Endothéline)

Les endothélines sont synthétisées sous forme de précurseur, les pré proendothélines, puis les proendothélines à partir de 3 gènes différents. Ces précurseurs sont secondairement clivés par des endopeptidases de type furine en peptides de 38 acides aminés inactifs, nommés big-endothélines. Ces big-endothélines sont à leur tour clivées par les enzymes de conversion de l'endothéline (ECE-1 et ECE-2) en peptides de 21 acides aminés, biologiquement actifs, les endothélines (ET). *(Lüscher et al., 2000)*

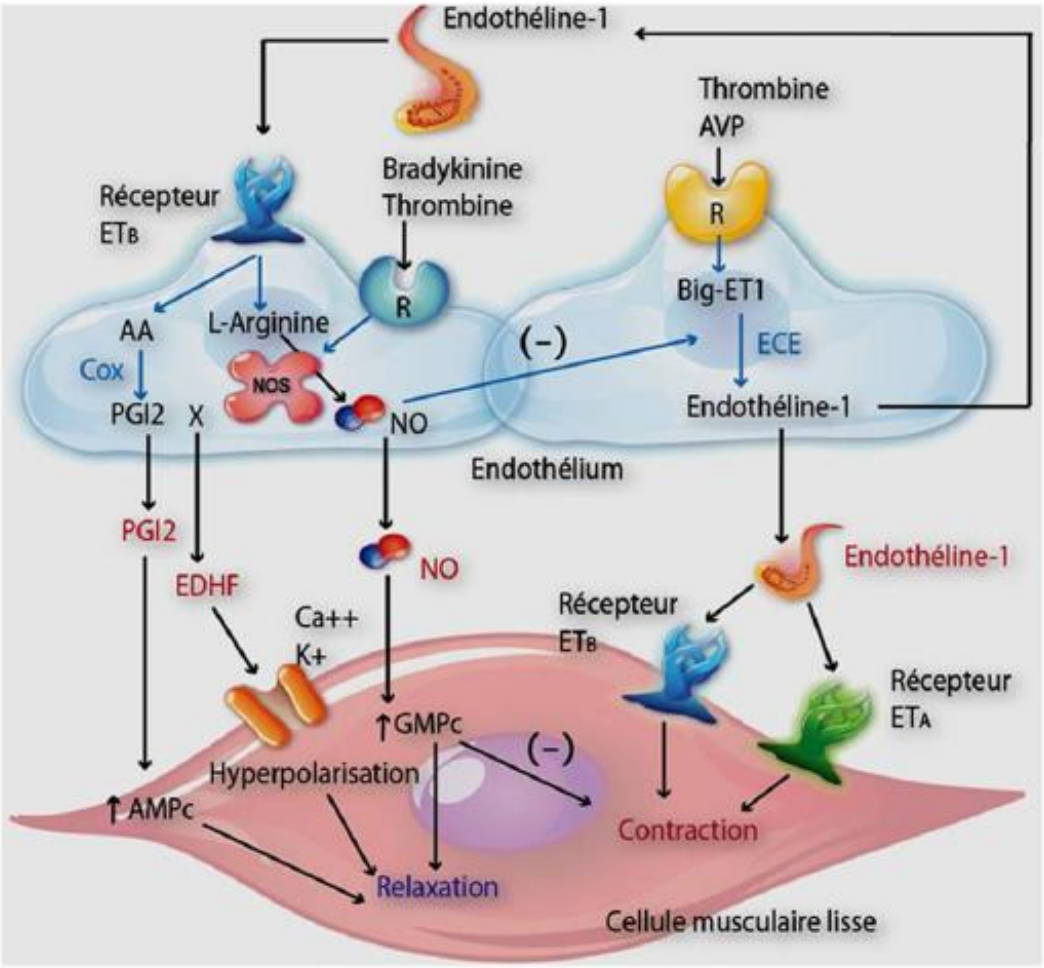
Il y a 2 récepteurs des endothélines, les récepteurs ET_A et ET_B. Ces récepteurs appartiennent à la famille des récepteurs à 7 domaines transmembranaires couplés aux protéines G. L'affinité de l'ET-1 pour le récepteur ET_A est 100 fois supérieure à celle de l'ET3 alors que les 3 isoformes ont la même affinité pour le récepteur ET_B. *(Seo et al., 1994)* Dans les artères pulmonaires, les récepteurs ET_A sont exprimés au niveau des cellules musculaires lisses alors que les récepteurs ET_B sont présents sur les cellules endothéliales et sur les cellules musculaires lisses.

La liaison de l'endothéline au récepteur $ET_{A,}$ sur les cellules musculaires lisses, active une protéine Gq couplée à la phospholipase C. Cette dernière hydrolyse des phospholipides membranaires, donnant ainsi naissance à l'inositol triphosphate d'une part, et au 1-2 diacyl-glycérol d'autre part. Par des voies de transductions intracellulaires différentes, ces deux messagers intracellulaires entrainent une augmentation de la concentration intracellulaire de calcium responsable de la contraction du muscle lisse vasculaire. De plus, l'ET1 a une action proliférative sur les cellules musculaires lisses par fixation aux récepteurs ET_A et ET_B.

L'activation des récepteurs ET_B situés sur les cellules endothéliales provoque la libération de NO et de PGI_2 possédant des propriétés vasodilatatrices et prévient l'apoptose des cellules endothéliales. *(Seo et al., 1994)* L'ET1 participe, par son effet vasoconstricteur, à la régulation du tonus vasculaire basal et de la pression artérielle systémique. L'ET1 possède également des propriétés pro-inflammatoires. *(Davie et al., 2002)*

L'ET1 se retrouve principalement au niveau des poumons. Chez l'adulte sain, les concentrations plasmatiques d'ET1 sont très faibles de l'ordre de 1-2 pg/mL. Chez les sujets atteints d'HTAP, il a été décrit des concentrations plasmatiques élevées de l'ordre de 3,5 pg/mL. (*Dao et al. 2006 ; Rubens et al., 2001)*

L'ET1 serait responsable de la contraction prolongée des artères pulmonaires mais également d'un effet proliférant, participant au remodelage vasculaire caractéristique de l'HTAP. Il a également été montré que les concentrations plasmatiques d'ET1 étaient corrélées à plusieurs paramètres de gravité de l'HTP (résistance vasculaire pulmonaire, index cardiaque, PAPm, test de marche de 6min) faisant suggérer que l'ET1 puisse être un facteur de pronostic de l'évolution de l'HTP. On parle également d'augmentation du rapport ET1/ET3 car dans le même temps on observe une diminution de l'ET3. (*Dao et al., 2006 ;Rubens et al., 2001)*



<u>Figure 6</u> : Effets de l'endothéline-1 (ET-1) dans la vasoconstriction. (Duong-Quy et al. 2012) Abréviations : R : Récepteurs ; ECE : Enzyme de Conversion de l'Endothéline ; NOS : NO Synthase ; AA : acides aminés ; PGI_2 : prostaglandine I_2 ; EDHF : Endothelium-Derived Hyperpolarizing Factor ; Ca : Calcium ; K : potassium ; Récepteur $ET_{A/B}$: récepteur de l'endothéline ; GMPc : guanosine monophosphate cyclique ; AMPc :adénosine monophosphate cyclique

4) Canaux potassiques

Les canaux potassiques dépendants du voltage (Kv) jouent un rôle important dans la régulation du potentiel membranaire de repos des cellules musculaires lisses et dans la vasoconstriction pulmonaire hypoxique.

La diminution de l'expression ou le dysfonctionnement des canaux Kv induit une dépolarisation membranaire favorisant l'influx calcique par l'intermédiaire des canaux calciques dépendants du voltage, une augmentation de la concentration de calcium intracytosolique et la vasoconstriction.

Un dysfonctionnement des canaux Kv des cellules musculaires lisses des sujets atteints d'HTAP idiopathique et familiale a été mis en évidence. De plus, l'hypoxémie et les dérivés de la fenfluramine inhibent les canaux Kv. *(Duong-Quy, 2012 ; Yuang et al., 1998)*

Chez les patients souffrant d'HTP, le canal Kv 1.5 est sous exprimé dans les cellules musculaires lisses des artères pulmonaires, ceci étant dû à une diminution de l'expression du gène codant pour ces canaux. *(Pozeg et al., 2003)*

La perte de ces canaux Kv entraine une dépolarisation des cellules musculaires lisses des artères pulmonaires, augmente la concentration de calcium intracellulaire et conduit à la fois à une vasoconstriction et à une prolifération cellulaire. *(Perros et al, 2007)*

5) La Sérotonine

La sérotonine (ou 5-hydroxytryptamine, 5-HT) est synthétisée par catalyse du tryptophane grâce à l'enzyme tryptophane hydroxylase-1 (TPH1). Après sa synthèse, la sérotonine est captée par les cellules musculaires lisses par un transporteur membranaire spécifique (5-HTT), mais elle peut aussi se lier aux récepteurs 5-HT_{1B}, 5-HT_{1D}, 5-HT_{2A}. Dans les cellules musculaires lisses, la sérotonine active, par la même voie de signalisation que l'endothéline, les Mitogen-Activated Protein Kinase (MAPK) et Rho-kinases, provoquant ainsi une vasoconstriction. Elle a également un effet proliférative sur les cellules musculaires lisses.

Les cellules musculaires lisses des artères pulmonaires de patients atteints d'HTAP idiopathique présentent une activité proliférative anormalement élevée en réponse à la 5-HT ou au sérum 0,2% (qui contient des concentrations élevées de 5-HT de 10^{-8} à 10^{-6} mol/L) alors que leur réponse à d'autres facteurs de croissance tels que le PDGF, FGF, TGF-β, EGF, IGF ne diffère pas de celle des sujets témoins. (*Eddahibi et al., 2006*)

De plus, la surexpression du 5-HTT, principalement exprimé par les cellules musculaires lisses, apparait comme une anomalie intrinsèque des cellules musculaires lisses en liaison avec le phénotype pathologique de l'HTAP idiopathique. Ce transporteur est codé par un gène unique exprimé principalement par les neurones, les plaquettes, les cellules endothéliales et les cellules musculaires lisses des vaisseaux pulmonaires. Or, chez l'homme, le niveau d'expression du transporteur 5-HTT semble considérablement plus élevé dans le poumon d'où le retentissement plus important sur l'activité proliférative du muscle lisse des vaisseaux pulmonaires. (*Eddahibi et al., 2006*)

L'expression du transporteur 5-HTT prédomine dans la media des artères pulmonaires épaissies et dans les lésions en bulbe d'oignon. (voir partie II sous partie C) En présence d'inhibiteur du transporteur 5-HTT, l'activité proliférative du sérum et de la sérotonine est considérablement réduite et la différence entre le patient et le témoin disparait. (*Eddahibi et al., 2006*)

Le mécanisme à l'origine de la surexpression du 5-HTT dans les cellules musculaires lisses de patients porteurs d'une HTAP reste peu connu.

Le fait que cette expression persiste après mise en culture de ces cellules fait penser à une origine génétique. Pourtant la séquence des régions régulatrices du gène 5-HTT ne sont pas modifiées. Une modification du polymorphisme de la région promotrice du gène 5-HTT serait une explication, en effet 2 allèles différents induisent une réponse proliférative plus élevée de ces cellules à la 5-HT. Néanmoins, cela ne suffit pas à expliquer le niveau élevé de transporteurs dans les cellules. Certains facteurs environnementaux peuvent également participer à la surexpression du 5-HTT tels que l'hypoxie, l'inflammation, ou une dysfonction du gène codant pour la protéine BMPR-II (Bone Morphogenetic protein receptor type II). *(Perros et al, 2007)*

6) Superfamille du transforming growth factor-β

Les protéines morphogéniques osseuses (Bone morphogenic protein (BMP)), les isoformes du TGF-β (TGF-β1-3) et les facteurs de croissances et de différenciation (Growth Differentiation Factor (GDF)) appartiennent à la superfamille du TGF-β. Ces protéines sont impliquées dans les processus physiologiques de l'homéostasie vasculaire tels que la prolifération, la migration, la différentiation, et l'apoptose.

Ces protéines interagissent avec un récepteur de type I (Activin receptor Like Kinase ALK3/BMPR-IA, ALK/BMPR-IB) et un récepteur de type II (BMPR-II, TGF-βR-II,…) pour former un hétérodimère. *(Perros et al., 2007)*

Des mutations germinales dans le gène codant pour un récepteur de type II, BMPR-II, ont été identifiées dans 74% des HTAP familiales et dans 10 à 40% des HTAP idiopathiques. *(Duong-Quy et al., 2012 ; Rosenzweig et al., 2008)*

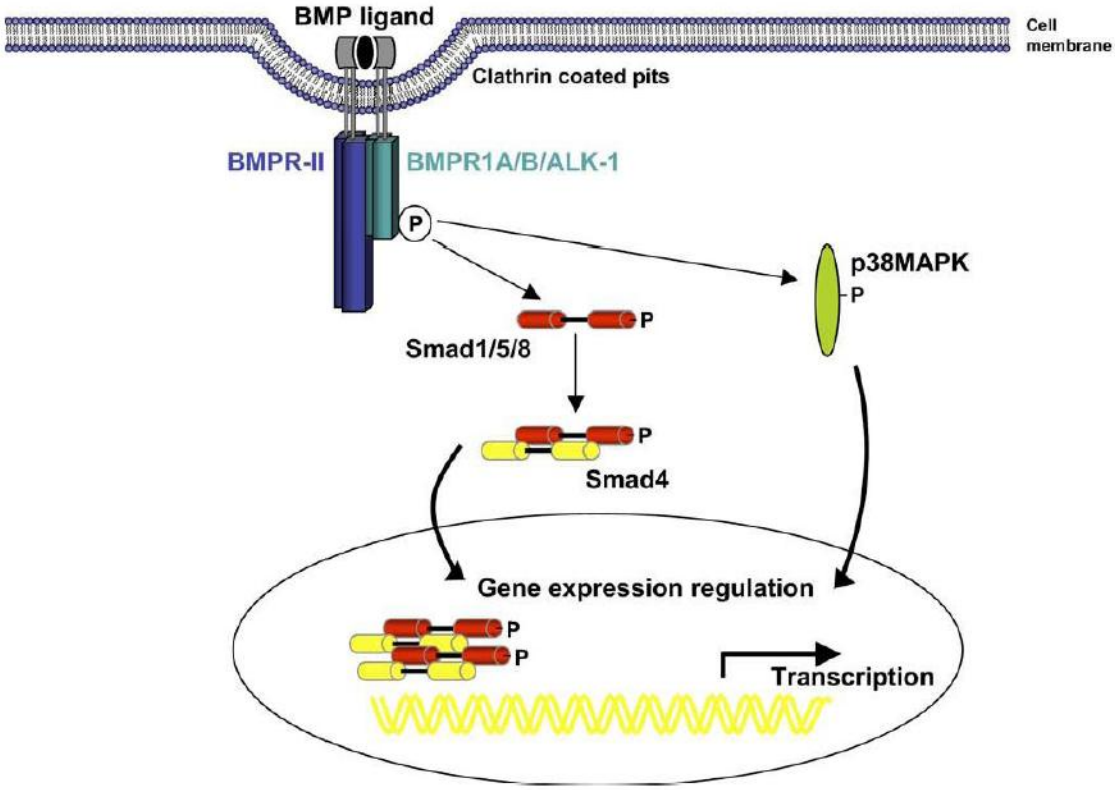
Des mutations d'autres récepteurs de la superfamille du TGF-β, Activin Like Kinase 1 (ALK1) ou endogline, ont été décrites dans des cas d'HTAP. *(Perros et al., 2007 ; Girerd et al., 2010)*

BMPR-II est un récepteur constitutivement actif, à activité sérine thréonine-kinase, qui forme des hétérocomplexes avec un ou plusieurs récepteurs de types I lorsqu'il se fixe à un ligand. BMPR-II phosphoryle un domaine riche en glycine et en sérines dans la partie proximale intracellulaire du récepteur de type I associé. L'activation du domaine kinase du récepteur de type I induit la phosphorylation de protéines cytoplasmiques de la famille Smad. Ces protéines sont responsables de la transduction des signaux déclenchés par les molécules de la famille de TFG-β. Les BMP génèrent des signaux en activant un ensemble spécifique de protéines Smad (Smad 1,5 et 8) appelées Receptor activated Smad (R-Smad) qui doivent former un complexe avec une molécule Common partner Smad (Co-Smad ou Smad 4). Ce complexe pénètre dans le noyau où il régule la transcription de différents gènes. (Figure 7) *(Perros et al., 2007)*

La majorité des mutations siégeant sur le gène codant pour BMPR-II aboutit à la production d'une protéine tronquée. La plupart de ces mutations est à l'origine d'une altération de la signalisation impliquant les Smad ce qui pourrait exacerber la susceptibilité des cellules vasculaires pulmonaires à proliférer et à supprimer l'apoptose.

De plus, une réduction de l'expression de BMPR-II semble être une caractéristique spécifique et importante de la physiopathologie de l'HTAP et suggère que d'autres facteurs environnementaux, ou génétiques pourraient réduire encore plus l'expression de BMPR-II en deçà d'un niveau qui conduit alors au remodelage vasculaire pulmonaire.

Les effets des BMP sur les cellules endothéliales et les cellules musculaires lisses artérielles pulmonaires fourniraient une hypothèse sur la formation des lésions vasculaires pulmonaires et du remodelage. En effet, chez les patients atteints d'HTP, des niveaux élevés d'apoptose au niveau endothélial favoriseraient l'apparition de clones des cellules endothéliales résistants à l'apoptose ce qui aboutirait à la formation de lésions plexiformes. (voir partie II sous partie C) Les cellules musculaires lisses artérielles pulmonaires sont également affectées dans leurs capacités à répondre aux effets antiprolifératifs des BMP et sont exposées à des facteurs de croissance stimulant leur prolifération à l'origine de l'hypertrophie de la media. *(Sanchez, 2010)*



<u>Figure 7</u> : Voie de signalisation physiologique du BMP/TGFβ (Eddahibi et al., 2003) Abréviations : BMP: Bone morphogenic protein ; BMPR-II : récepteur de type 2 du BMP ; BMPR1A/B: récepteur de type 1 du BMP ; ALK-1: Activin Like Kinase 1 ; p38MAPK: P38 mitogen-activated protein kinases ; P: phosphate ; Smad 1/5/8: protein Smad ; Smad4: Common partner Smad

7) Autres facteurs de croissances

Comme autres facteurs de croissances impliqués dans l'HTP, on peut citer le Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF), le Platelet Derived Growth Factor (PDGF), Le basic Fibroblast Growth Factor (FGFb), L'Epithelial Growth Factor (EGF), et l'Angiopoiétine (Ang-1).

La plupart de ces facteurs se lient à des récepteurs membranaires possédant une activité enzymatique de type tyrosine kinase. La signalisation intracellulaire de ces facteurs de croissance est relayée par l'activation des enzymes de la famille sérine-thréonine kinase (Raf-kinases). La Raf-kinase phosphoryle et active MEK1/2 (Mitogen-activated protein kinase kinase), puis ERK1/2 (Extracellular signal Regulated Kinase). Une fois activée, ERK1/2 va phosphoryler des effecteurs contrôlant la transcription des gènes dans le noyau. Au niveau des artères pulmonaires, la protéine Raf est impliquée dans l'apoptose, la prolifération des cellules vasculaires et l'angiogenèse. *(Duong-Quy, 2012)*

Le Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF), abondamment présent dans les poumons, est impliqué dans de nombreux processus biologiques des cellules endothéliales tel que la prolifération, la synthèse de NO et de PGI_2, l'angiogenèse et le contrôle de la perméabilité vasculaire. Ce facteur agit par l'intermédiaire de deux récepteurs VEGFR-1 et VEGFR-2, dont l'expression est augmentée dans les cellules endothéliales pour VEGFR-1 et dans les lésions plexiformes pour VEGFR-2. De plus, les deux isoformes VEGF-A et VEGF-B sont plus exprimées dans l'HTAP au niveau des vaisseaux pulmonaires au sein des lésions plexiformes. Toutefois, le rôle du VEGF est controversé dans la mesure où un inhibiteur de VEGFR-2 est utilisé pour générer un modèle sévère d'HTP chez le rat. *(Perros et al., 2007) (Duong-Quy, 2012)*

Le Platelet Derived Growth Factor (PDGF), le basic Fibroblast Growth Factor (bFGF) et L'Insulin-like Growth Factor (IGF-1) sont impliqués dans le remodelage artériel pulmonaire. Leur expression est accrue dans l'HTAP. Le peroxyde d'hydrogène induit l'expression du PDGF dans les cellules endothéliales pulmonaires humaines tout comme l'hypoxie, les étirements mécaniques ou les contraintes de cisaillement. Par ailleurs, il a été mis en évidence une régression des lésions de remodelage vasculaire pulmonaire par l'inhibiteur de l'activité tyrosine kinase du récepteur du PDGF, le composé STI571 (Imatinib) dans deux modèles animaux d'HTAP.

L'Epithelial Growth Factor (EGF) induit par le stress oxydant ou par les médiateurs inflammatoires est aussi impliqué dans l'HTP. Le blocage de la voie de son récepteur a également permis la régression de l'HTAP chez un modèle de souris. (*Merklinger et al.,* 2005 ; *Perros et al., 2007 ; Duong-Quy, 2012)*

L'Angiopoiétine-1 (Ang-1) est une glycoprotéine appartenant à la famille des facteurs de croissance. Il s'agit d'un facteur angiogénique qui exerce ses effets principalement au niveau des cellules musculaires lisses pulmonaires. Elle est produite par les cellules musculaires lisses et les péricytes précurseurs. L'Ang-1 stabilise le développement des vaisseaux sanguins en recrutant les cellules musculaires lisses par migration ou par division.

Le récepteur transmembranaire de l'Ang-1 à activité tyrosine kinase, le TIE-2 est uniquement présent à la surface de l'endothélium vasculaire. L'interaction de l'Ang-1 avec son récepteur induit la prolifération des cellules musculaires lisses autour du réseau vasculaire endothélial. Quand le développement est terminé, l'Ang-1 est exprimée à un niveau indétectable dans les poumons humains. Néanmoins, au cours de l'HTAP, il y a une augmentation de la production de l'Ang-1 et de la phosphorylation de TIE-2. Cette augmentation serait directement corrélée avec la sévérité de la maladie. Cette phosphorylation des récepteurs TIE-2 entraine la stimulation des cellules endothéliales pulmonaires responsables de la production et de la sécrétion de la sérotonine, pouvant potentiellement provoquer une hyperplasie des cellules musculaires lisses des artérioles pulmonaires. *(Perros et al., 2007)*

8) Vasoactive Intestinal peptide (VIP)

Il s'agit d'un médiateur neuroendocrine ayant des propriétés vasoactives systémiques. En effet, c'est un puissant vasodilatateur systémique et pulmonaire ce qui lui confère un rôle non négligeable dans l'HTP. Il agit sur des récepteurs membranaires spécifiques qui sont couplés aux protéines G (VPAC1 et VPAC2 (VIP and PACAP receptor)). La stimulation de ces récepteurs va stimuler l'adénylate cyclase puis il y a synthèse de l'AMPc par l'adénylate cyclase et activation de la protéine kinase A ce qui conduit à une vasodilatation. *(Couvineau et al., 2011)* Une partie de l'effet vasodilatateur du VIP passe également par la voie de signalisation NO/ GMPc/ PKG.

La diminution de l'expression tissulaire pulmonaire et de la concentration sérique du VIP a été retrouvée chez les patients atteints d'HTP. *(Petkov et al., 2003)* Le VIP inhibe également la prolifération des cellules musculaires lisses des artères pulmonaires chez les patients ayant une HTP idiopathique ainsi que l'agrégation plaquettaire. On observe également une altération du gène codant pour le VIP. *(Halbert et al., 2007 ; Said et al., 2007 ; Duong-Quy, 2012)*

9) Voies des Rho-kinases

La protéine RhoA fait partie de la famille des protéines Rho. Elle régule un grand nombre des fonctions cellulaires fondamentales comme la contraction, la migration, la prolifération et l'apoptose. Les protéines-kinases de Rho (ROCKs) sont les mieux caractérisées des protéines effectrices de RhoA. Elles ont un rôle important au niveau du cœur et des vaisseaux.

Il a été montré *in vitro* sur des cultures de cellules endothéliales humaines que la diminution d'expression de la NO synthase endothéliale sous l'effet de l'hypoxie est médiée par les RhoKs. Plusieurs études ont également montré que l'activation de la voie RhoA/RhoKs contribue à la fois à la vasoconstriction et au remodelage vasculaire pulmonaire de l'HTAP. *(Perros et al, 2007)*

10) Hypoxia-inducible Factor (HIF-1)

L'hypoxia-Inducible Factor (HIF-1) est un facteur de transcription qui fonctionne comme régulateur principal de l'adaptation cellulaire à l'hypoxie. Il a été montré que ce facteur régule une douzaine de gènes impliqués dans l'angiogenèse, l'érythropoïèse, le métabolisme énergétique et la survie cellulaire. HIF-1 est un hétérodimère composé d'une sous-unité régulée par l'oxygène, HIF-1α et d'une sous-unité constitutivement exprimée, HIF-1β. L'expression de ce facteur est régulée par la pression en oxygène mais aussi par des cytokines et des facteurs de croissance tel que l'EGF, le FGF-2, l'HGF (hepatocyte growth factor), l'IGF-1, l'IGF-2, l'interleukine-1β, l'insuline, la prostaglandine E2, le TGFα, le TGFβ, la thrombine et le TNFα (Tumor Necrosis Factor α). Chez l'homme, des analyses immunohistochimiques de lésions plexiformes (voir partie II sous partie C) d'HTAP sévère ont révélé une surexpression de HIF-1α dans les cellules endothéliales en prolifération. *(Semenza et al., 2005 ; Perros et al, 2007)*

B. Hyperréactivité vasculaire pulmonaire

Cette hyperréactivité met en jeu un ensemble de médiateurs moléculaires. Mais pour mieux comprendre il faut bien distinguer les dysfonctions endothéliales des dysfonctions des cellules musculaires lisses.

L'endothélium vasculaire, qui est à l'interface entre le milieu sanguin et la paroi interne des vaisseaux sanguins, présente des altérations majeures au cours de la progression de l'HTP :

- Transition d'un état quiescent (ne présentant pas de capacité d'adhésion) à un état activé et migratoire.
- Une moindre capacité à produire des médiateurs vasodilatateurs comme le monoxyde d'azote (NO) et la prostacycline.
- Une production et un relargage excessif de médiateurs vasoconstricteurs comme l'endothéline 1 (ET1) et la sérotonine (5-HT).

Au niveau des cellules musculaires lisses on observe une contraction excessive du fait :

- D'une altération de l'expression et de l'activité des canaux potassiques.
- De l'activation de la voie RhoA-ROCK.
- De l'excès de médiateurs vasoconstricteurs et du défaut de médiateurs vasodilatateurs au niveau de l'endothélium.

C. Remodelage vasculaire

Les connaissances actuelles des lésions observées dans l'HTAP sont basées principalement sur l'examen histologique d'explants pulmonaires, de prélèvements post-mortem, et plus rarement de biopsies pulmonaires chirurgicales. *(Montani et al., 2005)*

Ces lésions touchent la microcirculation pulmonaire, c'est-à-dire les artérioles musculaires mesurant moins de 500µm de diamètre. Ces lésions associent une hypertrophie concentrique de l'intima dite en « bulbe d'oignon », une fibrose excentrique de l'intima, une hypertrophie de la media, des lésions dites complexes et des microthromboses.

Elles entrainent un épaississement de la paroi vasculaire, conduisant à une oblitération progressive des artérioles à l'origine de l'augmentation des résistances à l'écoulement qui aboutit à long terme à une défaillance cardiaque droite. *(Sanchez, 2010)*

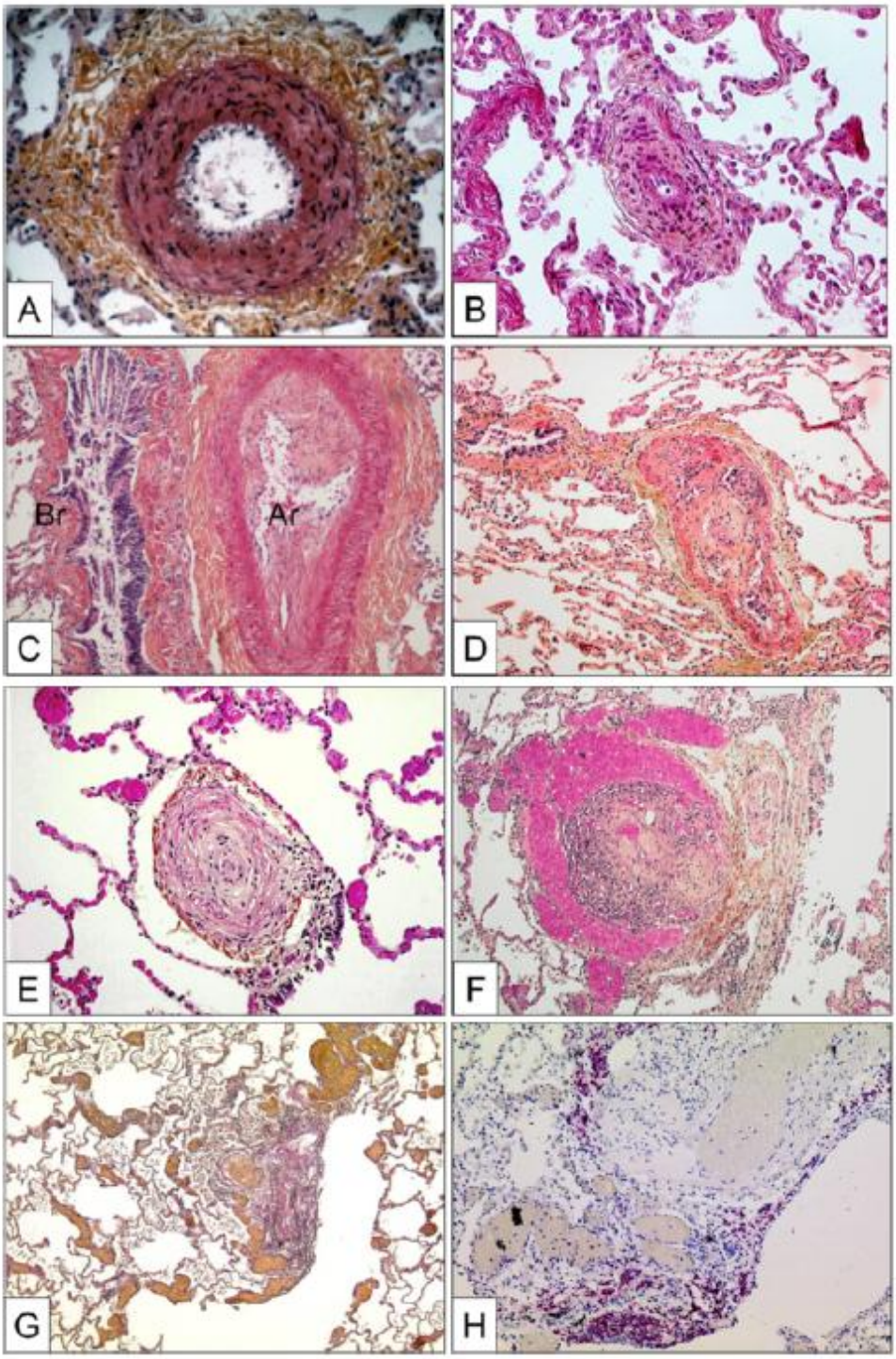


Figure 8 : Coupes histologiques représentant les différents types de lésions intervenant dans le remodelage artériel pulmonaire, (D. Montani, 2013)

A : Hypertrophie de la media avec prolifération de cellules musculaires lisses et une fibrose de l'adventice.

B : Fibrose concentrique de l'intima comprenant des myofibroblastes.

C : Fibrose excentrique de l'intima associée à une thrombose (Br : Bronche, Ar : Artère pulmonaire).

D : Lésion thrombotique ou lésion en passoire.

E : Fibrose concentrique de l'intima ou lésion en bulbe d'oignon.

F : Lésion plexiforme avec prolifération de petits vaisseaux sinusoïdes dans une matrice fibreuse.

G : Lésions de dilatation autour de la lésion plexiforme.

H : La même lésion plexiforme après un marquage immunohistochimique à l'aide d'anticorps anti-CD3 (marqueur des lymphocytes T).

1) **Hypertrophie de la media** (Figure 8A)

Cette lésion peut être observée dans tous les sous-groupes de l'HTP. Elle est liée à la prolifération ou au recrutement de cellules musculaires lisses de la media et peut entrainer des modifications précoces mais potentiellement réversibles de la paroi artérielle pulmonaire. Elle peut également correspondre à une réponse non spécifique à un stimulus non pathologique, comme par exemple l'hypoxie. *(Montani et al., 2013)*

2) **Fibrose intimale**

Les lésions fibrotiques de la couche intimale sont assez fréquentes dans l'HTAP. L'intima est épaissie du fait de la prolifération et du recrutement de fibroblastes, myofibroblastes et autres cellules du tissu conjonctif et également par des dépôts de collagène. Cet épaississement peut être soit uniforme et concentrique soit excentrique. *(Montani et al., 2013)*

Pour la fibrose intimale concentrique, on parle aussi de lésions en « bulbe d'oignon », elles ont une organisation radiaire de fibroblastes, myofibroblastes et myocytes. Cette fibrose touche surtout les artères ayant un diamètre de l'ordre de 100 à 200µm. (Figure 8B et 8E) *(Montani et al., 2013)* La formation d'une couche de myofibroblastes et de matrice extracellulaire entre l'endothélium et la néo-intima est une des caractéristiques de la forme sévère de la maladie. Les mécanismes impliqués dans la prolifération et la migration des fibroblastes dans l'intima sont inconnus mais une surexpression des métalloprotéases de la matrice (MMPs) notamment MMPs 2 et 9 pourrait expliquer une partie de ces phénomènes. *(Montani et al., 2013)*

Contrairement à la lésion précédemment décrite, la lésion fibrotique excentrique n'est pas stratifiée. Elle est constituée principalement de fibroblastes et de matrice collagène. Ces formes excentriques sont souvent attribuées à des évènements thrombotiques régulièrement observés dans l'HTAP et chez des patients ayant des antécédents d'embolie pulmonaire. (Figure 8C) *(Montani et al., 2013 ; Sanchez, 2010)* Cette prolifération intimale de fibroblastes peut également être provoquée par une expression accrue de facteurs de croissance dont l'expression peut être induite par les forces de cisaillement. L'oblitération de la lumière de l'artériole par un thrombus présentant de multiples lumières de recanalisation donne un aspect particulier de lésion en « passoire ». (Figure 8D) *(Sanchez, 2010)*

3) Lésions complexes

On distingue deux types de lésions complexes : *(Pietra et al., 2004)*

- Lésions plexiformes : (Figure 8F et 8G)

Il s'agit du type de lésions le plus représentatif des lésions vasculaires dans l'HTAP. Cette lésion est formée par la prolifération exubérante de cellules endothéliales et de myofibroblastes, formant des canaux microvasculaires endoluminaux dans une matrice oblitérante riche en collagène. La lésion principale est le plus souvent suivie d'une dilatation sinusoïdale surnommée lésion de dilatation. Ces modifications vasculaires pathologiques touchent typiquement les petites artères lobulaires ou encore les bifurcations des artères dites supranuméraires. *(Montani et al., 2013)(Thèse d'O. Sanchez)*

La cellule endothéliale qui constitue une barrière semi-perméable, est située entre la lumière vasculaire et le reste de la paroi vasculaire. Chez un patient atteint d'hypertension pulmonaire, les cellules endothéliales ont un phénotype anormal provoquant une prolifération anormale qui aboutit à la formation de lésions plexiformes. En effet, les cellules endothéliales issues de lésions plexiformes présentent une diminution de l'expression d'une protéine inhibitrice du cycle cellulaire (p27/kip1) et expriment intensément le récepteur KDR (aussi appelé VEGFR-2 ou Flk-1) du VEGF. Ce facteur de croissance ainsi que les sous unités α et β du facteur HIF et des marqueurs de l'angiogenèse sont aussi exprimés par ces cellules endothéliales.
Enfin, les cellules composant ces lésions plexiformes pourraient avoir une origine monoclonale. Des défauts de gènes suppresseurs de croissance comme le gène pro-apoptotique Bax et le gène codant pour le récepteur de type 2 du TGF-β ont été découverts dans les lésions plexiformes. Ces mutations sembleraient être à l'origine de ces lésions dont l'oblitération vasculaire serait la principale conséquence. Cependant, le facteur déclenchant n'est pas encore connu, bien que l'on suppose une implication de l'hypoxie alvéolaire, des forces de cisaillements, de l'inflammation, de la réponse aux drogues ou à des agents pathogènes viraux. *(Montani et al., 2013)*

- Lésions d'artérites :

Elles sont caractérisées par la présence d'une nécrose fibrinoïde de la paroi artérielle. Ces lésions sont généralement peu rencontrées dans l'HTAP. Néanmoins, il n'est pas rare de retrouver des infiltrats inflammatoires périvasculaires constitués de lymphocytes T, lymphocytes B, cellules dendritiques et macrophages. Pour le moment, leur implication dans la physiopathologie de l'HTAP reste mal connue. *(Montani et al., 2013 ; Perros et al., 2007 ; Sanchez, 2010)*

D. Inflammation

L'inflammation est un ensemble de réactions générées par l'organisme en réponse à un traumatisme, une infection, une réaction allergique, immunitaire ou une intoxication, le but étant de neutraliser, de combattre ou d'éliminer l'agent pathogène en cause.

Il est maintenant admis que l'inflammation et l'auto-immunité jouent un rôle dans l'HTP idiopathique et l'HTP associée à des connectivites ou au VIH. En effet, des auto-anticorps circulants tels que les anticorps anti-CE (Cellules endothéliales) et les anticorps antinucléaires ont été mis en évidence chez 30 à 40% des patients atteints d'HTAP. *(Perros et al., 2007 ; Duong-Quyet al., 2012, Montani et al., 2012)* De plus, une infiltration périvasculaire des cellules inflammatoires comme les lymphocytes T, les lymphocytes B, les macrophages et les cellules dendritiques, a été retrouvée dans les lésions plexiformes de patients atteints d'HTAP sévère. *(Perros et al., 2007 ; Duong-Quyet al., 2012, Montani et al., 2012)*

1) Les chimiokines

Les chimiokines sont des protéïnes qui possèdent une activité chimiotactique importante et qui participent à la transmission de signaux inflammatoires. L'implication des chimiokines inflammatoires dans la pathogénèse de l'HTAP a récemment été démontrée. *(Duong-Quy et al., 2012 ; Perros et al., 2006)* En effet, l'augmentation de la concentration plasmatique et l'expression de la fractalkine (CX3CL1) et de son récepteur (CX3CR1) est observée dans les lymphocytes circulants (CD4+ et CD8+) et dans les tissus pulmonaires (cellules musculaires lisses et cellules endothéliales) de patients souffrant d'HTP. *(Perros et al., 2007 ; Duong-Quy et al., 2012, Montani et al., 2012)*

La Fractalkine est une chimiokine dont les effets chimiotactiques sur les leucocytes sont médiés uniquement par le récepteur CX3CR1 présent à la surface des monocytes, des cellules dendritiques, des lymphocytes natural killer et des lymphocytes T activés. Cette protéine possède la particularité d'exister dans l'organisme sous deux formes : sous forme soluble clivée par une protéase et sous forme membranaire ancrée à la surface des cellules endothéliales où elle permet un attachement et une activation des leucocytes exprimant CX3CR1. La fixation de la Fractalkine sur son récepteur induirait la prolifération des cellules musculaires lisses ce qui suggère que cette chimiokine pourrait agir comme un facteur de croissance. *(Perros et al., 2007 ; Sanchez, 2010)*

Le facteur RANTES (Regulated upon Activation Normal T cell Expressed and Secreted encore appelé CCL5) possède une activité chimiotactique puissante, médiée par au moins trois récepteurs (CCR1/ CCR2/ CCR3) pour les monocytes, les lymphocytes T, les éosinophiles, les

basophiles et les cellules natural killer. CCL5 pourrait jouer un rôle dans la physiopathologie de l'HTAP en induisant l'enzyme de conversion de l'endothéline-1 impliquée dans la synthèse de l'endothéline-1. Les poumons de patients transplantés pour une HTAP présentent une augmentation d'expression de l'ARNm de CCL5 que ceux de sujets contrôles sains. Les cellules endothéliales seraient la source principale de CCL5. *(Dorfmüller et al., 2002 ; El Chami et al., 2012 ; Sanchez, 2010)*

Il a également été mis en évidence une augmentation du taux de Chemokine Ligand 2 (CCL2 : Monocyte Chemotactic Protein-1 : MCP-1) dans le plasma et le tissu pulmonaire de patients atteints d'HTAP idiopathique par rapport aux sujets contrôles sains. Ces sont les cellules endothéliales et les cellules musculaires lisses qui produisent CCL-2, ce qui induit la migration des monocytes. *(El Chami et al., 2012)*

2) Les cytokines pro-inflammatoires

Les cytokines semblent également impliquées dans la pathogénèse de l'HTP. (Figure 2, partie II, sous partie A) En effet, le plasma et le tissu pulmonaire de patients atteints d'HTAP idiopathique présentent une augmentation de la concentration et de l'expression de cytokines pro-inflammatoires : IL-1β et IL-6. *(Perros et al., 2007 ; Duong-Quyet al., 2012, El Chami et al., 2012)*

L'IL-6 (Interleukine 6) est une cytokine pléiotropique, impliquée dans la régulation de l'inflammation et joue un rôle de messager entre les cellules impliquées dans ce processus. Elle est principalement exprimée dans les leucocytes, les cellules musculaires lisses, les cellules endothéliales et les lymphocytes T. *(El Chami et al., 2012)*

Le taux d'IL-6 semble être corrélé avec une élévation de la Pression Artérielle Pulmonaire moyenne (PAPm) des patients et serait due à certains polymorphismes génétiques sur les gènes codant pour l'IL-6 que l'on retrouve souvent associés à cette pathologie. *(Chaouat et al., 2009 ; El Chami et al., 2012 ; Selimovic et al., 2009)* Par ailleurs, la surexpression d'IL-6 favoriserait la prolifération des cellules musculaires lisses et serait ainsi liée au développement des lésions caractéristiques du remodelage artériel pulmonaire. *(Steiner et al., 2009)* L'induction de ces lésions par l'IL-6 s'accompagne de l'activation du VEGF, des facteurs de transcription c-MYC (c-Myelocytose) et MAX (Myc-Associated factor X) et des protéines anti-apoptotiques survivin et Bcl-2 (B-cell lymphoma 2) tandis qu'on observe une diminution d'expression des kinases pro-apoptotiques JNK (c-JUN N-terminal Kinase) et p38. *(El Chami et al., 2012 ; Steiner et al., 2009)*

3) Les auto-anticorps

Des auto-anticorps ont été mis en évidence chez les patients atteints d'HTP et pourraient être impliqués dans le phénomène d'inflammation présent dans l'HTP.

Des auto-anticorps anti-EC (Endothelial Cell) peuvent activer ces cellules et conduire à leur apoptose ce qui pourrait contribuer à la pathologie.

D'autres anticorps sont identifiés tels que les anticorps antifibroblastes (dans le sérum de patients atteints d'HTAP idiopathique) démontrant le rôle des fibroblastes dans le remodelage artériel pulmonaire. En effet, ces anticorps peuvent activer les fibroblastes qui vont alors synthétiser du collagène et participer ainsi au remodelage. (*Chizzolini et al., 2002 ; El Chami et al., 2012)*

III. Traitements actuels et recommandations

A l'heure actuelle, il n'existe pas de traitement permettant de guérir de l'HTP.

Les différents types de traitements disponibles visent à améliorer la capacité à l'effort et la qualité de vie des patients, éviter les complications et freiner l'évolution de la maladie.

On peut citer trois types de traitements complémentaires :

- Des mesures générales associées au traitement conventionnel
- Des traitements spécifiques agissant selon quatre grandes voies
- Des interventions chirurgicales

Les objectifs généraux de la prise en charge thérapeutique de l'HTP sont :

- Améliorer la survie
- Améliorer la qualité de vie
- Améliorer l'hémodynamique
- Eduquer le patient
- Dépister et traiter précocement les complications liées à la maladie (ex : poussées d'insuffisance cardiaque droite)
- Assurer la prise en charge psychologique

(HAS, 2007)

A. Traitement conventionnel

Le traitement conventionnel est quasi systématiquement prescrit.

1) Vasodilatateurs – Inhibiteurs calciques

Les médicaments dits vasodilatateurs sont les premiers à avoir été utilisés dans le traitement de l'HTP mais ils ne sont efficaces que chez 20% des patients. Ils ont pour effet de dilater les artères pulmonaires, ce qui va permettre une meilleure circulation du sang et ainsi contribuer à la diminution de la pression sanguine, principalement en entrainant la relaxation des cellules musculaires lisses.

L'HTP est souvent associée à un défaut de production de NO. Le NO est donc proposé comme traitement de l'HTP. Dès son arrivée dans la circulation sanguine, le NO se lie à l'hémoglobine ce qui le rend biologiquement inactif. Ceci permet d'éliminer le risque d'effets indésirables systémiques et restreint les effets du NO aux vaisseaux pulmonaires. Ainsi, chez l'homme, l'inhalation de NO à court terme possède des effets vasodilatateurs sélectifs du poumon.

Les inhibiteurs calciques ne sont indiqués que pour les patients ayant répondu positivement au test de vasodilatation aiguë par inhalation de NO, lors du cathétérisme cardiaque droit. On définit comme répondeur un patient présentant une baisse de la pression artérielle pulmonaire moyenne d'au moins 10 mmHg pour atteindre un niveau inférieur à 40 mmHg avec un débit cardiaque normal ou augmenté au cours de l'inhalation de NO. *(HAS, 2007)* Les inhibiteurs calciques se fixent sur les canaux calciques voltage-dépendants de type L au niveau des cellules musculaires lisses des artères pulmonaires, qu'elles inactivent. Elles freinent l'entrée normale des ions calciques dans les cellules limitant ainsi la contraction musculaire et donc entrainent la diminution des pressions pulmonaires. Malgré les bénéfices de ces inhibiteurs calciques, seuls 6% des patients répondent à ce traitement (ces molécules sont notamment inefficaces en cas d'HTAP). Les molécules les plus couramment utilisées sont la nifédipine, le diltiazem et l'amlodipine à dose élevée.

2) Anticoagulants

Ils permettent de diminuer la mortalité des patients souffrant d'HTAP du fait de la réduction des phénomènes de thrombose *in situ* chez les patients au débit cardiaque diminué et sédentaires. *(Montani et al., 2005)* Ce traitement est proposé systématiquement chez tous les patients ne présentant pas de contre-indications. Il repose sur l'utilisation d'Antivitamines K (AVK) avec un objectif d'INR (International Normalized Ratio) entre 1,5 et 2,5. Les AVK vont empêcher la synthèse des formes actives de plusieurs facteurs de la coagulation. Mais une surveillance régulière au moyen de prises de sang est nécessaire pour l'adaptation posologique de ces médicaments. *(HAS, 2007)*

Les anticoagulants sont contre-indiqués dans le cas d'hypertension pulmonaire associée à une hypertension portale à cause du risque de varices hémorragiques au niveau de l'œsophage. *(Montani et al., 2013)*

3) Traitements diurétiques

Un diurétique est une substance qui inhibe la réabsorption rénale des ions sodium ce qui augmente l'élimination urinaire d'eau. Celui-ci est prescrit en association avec un régime sans sel dans le but de diminuer les signes de surcharge ventriculaire droite et d'améliorer la symptomatologie.

La posologie doit être adaptée à la clinique (poids de base, présence d'œdèmes des membres inférieurs) mais peut aussi être ajustée en fonction des pressions de remplissage droites mesurées lors des bilans hémodynamiques ou estimées sur des paramètres échocardiographies (taille de la veine cave inférieure). Il est important de surveiller l'ionogramme et la fonction rénale (Créatinine). *(Montani et al., 2005)*

4) Digitaliques

Ils peuvent être prescrits en cas de fibrillation auriculaire permanente ou paroxystique, mais leur utilisation doit être prudente en particulier dans les formes sévères d'HTAP avec hypoxémie ou en cas d'altération de la fonction rénale.

B. Traitements médicamenteux spécifiques

1) Traitement initial

En l'absence de données comparant les différents traitements, le choix du traitement initial dépend autant de l'expérience des équipes que de l'état clinique du patient et de ses préférences.

Le médecin va donc prescrire le traitement le mieux adapté au malade en tenant compte de la sévérité de l'HTAP, de la difficulté respiratoire (dyspnée), et des contre-indications éventuelles. Il évalue toujours les bénéfices du traitement par rapport aux risques de sorte à limiter au maximum les effets indésirables. Le médecin peut également s'appuyer sur les recommandations internationales qui se basent sur la classification NYHA.

Cette prise en charge « sur mesure » nécessite un suivi médical très régulier afin de contrôler les évolutions de l'HTAP.

Généralement, la NYHA recommande un traitement par époprosténol en perfusion continue.

De plus, à partir des données actuelles, l'HAS (Haute Autorité de Santé) propose un algorithme résumant la prise en charge.

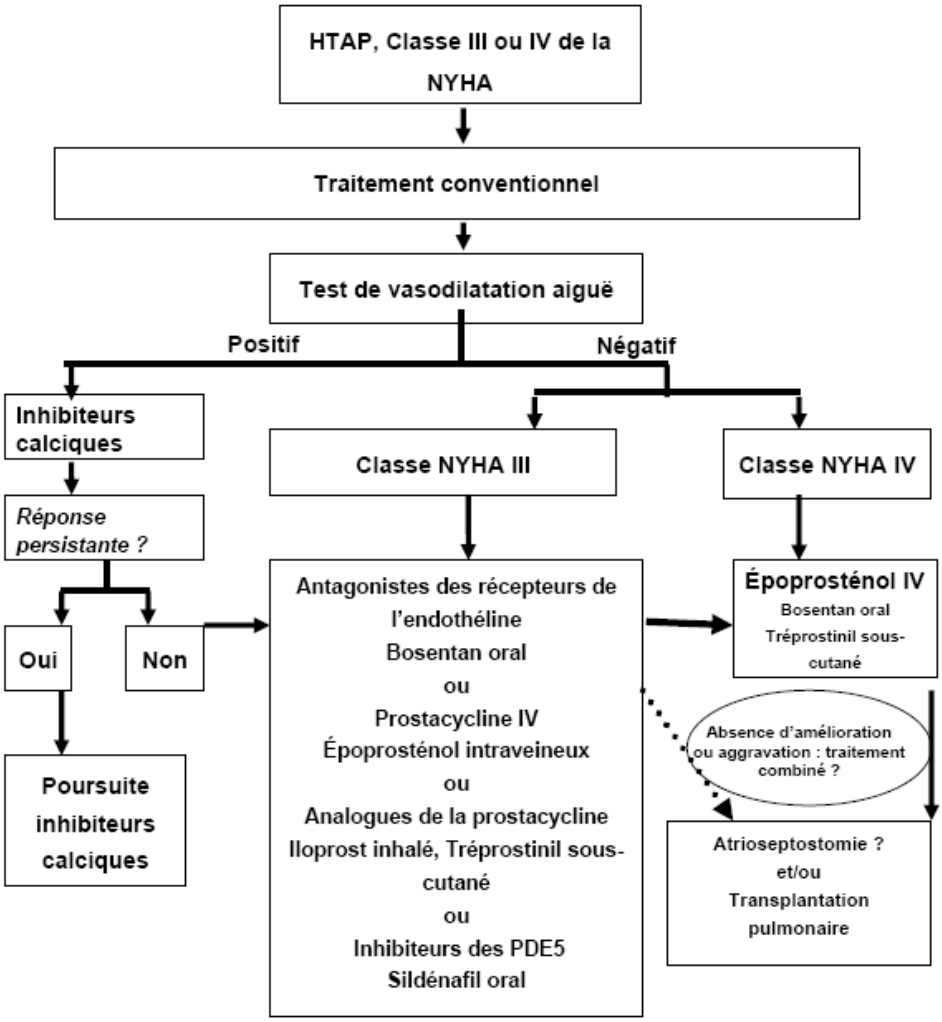


Figure 9 : Algorithme décisionnel dans le traitement de l'HTAP (Galie, et al., 2004.)

2) Traitement combiné

Il n'y pas non plus de consensus pour ce traitement.

Il est habituellement mis en place en deuxième ligne après échec d'un traitement de première ligne ou en première ligne pour les patients les plus sévères.

Il s'agit de l'association d'un traitement oral (Bosentan (Tracleer®) et/ou Sildénafil (Revatio®)) avec un traitement intraveineux par l'Epoprosténol (Flolan®) ou un analogue de la prostacycline (inhalé ou sous cutané).

L'Epoprosténol (Flolan®), le Bosentan (Tracleer®), l'Iloprost (Ventavis®) et le Sildénafil (Revatio®) sont des médicaments désignés comme « orphelins ». Un médicament est dit « orphelin » lorsqu'il est destiné au traitement de maladies rares. Afin que les patients souffrant d'affections rares bénéficient de la même qualité de traitement que les autres, l'Union européenne a introduit une loi visant à inciter l'industrie pharmaceutique et les sociétés de biotechnologie à développer ce type de traitement. Leur prescription initiale ne peut s'exercer que sur l'avis du centre de référence de l'HTAP.

3) Prostacycline et Analogues

La déficience en vasodilatateurs comme la prostacycline a orienté le traitement vers l'administration exogène de prostacycline ou d'analogues, dont les effets sont antiprolifératifs et vasodilatateurs.

EPOPROSTENOL (FLOLAN®)

Photo personnelle

- Indication :

Traitement au long cours en perfusion veineuse continue de l'HTAP idiopathique ou associée à une connectivite de stade III ou IV de la NYHA, quand le traitement conventionnel est inefficace (anticoagulant, diurétique, oxygène, vasodilatateurs oraux, digitaliques) et présentant l'un des critères hémodynamiques suivants :

- Résistances vasculaires pulmonaires (RVP) > 20 UI/m^2
- Index Cardiaque (IC) < 2,5 L/min/m^2
- Pression de l'Oreillette Droit (POD) > 10 mmHg
- Saturation veineuse en oxygène (SVO_2) < 63%

Ce médicament ne doit être prescrit que dans des services spécialisés en pneumologie disposant d'une unité de soins intensifs et d'une unité d'exploration cardiologique invasive afin d'assurer un bilan spécialisé et la surveillance par une équipe formée à la prise en charge des patients atteints d'HTAP et à l'utilisation de Flolan ®.

- Propriétés : prostacycline synthétique

La prostacycline entraine une vasodilatation directe au niveau de la circulation artérielle pulmonaire et systémique, ayant aussi un effet antiagrégant plaquettaire et un effet sur le remodelage, améliorant les patients atteints d'HTAP malgré de nombreux effets indésirables.

- Effets indésirables :
  - Dose-dépendants : traduisant un surdosage : céphalées, hypotension avec tachycardie, nausées, vomissements, diarrhées, flushs.
  - Réflexe vagal : bradycardie, pâleur, nausées, étourdissement.
  - Photosensibilité, douleurs abdominales, douleurs de la mâchoire, arthralgies, anxiété, agitation, syndrome pseudogrippal, œdème, thrombopénie, hyperglycémie, saignements.
  - Liés au cathétérisme central : douleur au site d'injection, infection, septicémie, dysfonctionnement de pompe avec signes de surdosage ou de sous dosage.

- Contre-indications :
  - Hypersensibilité à l'époprosténol ou à l'un des excipients
  - Pression artérielle systolique < 85mmHg
  - Insuffisance cardiaque congestive due à un dysfonctionnement sévère du ventricule gauche
  - Suspicion de maladie veino-occlusive évoquée sur les données de l'anamnèse, de la clinique, de la tomodensitométrie thoracique et du lavage broncho-alvéolaire ou en cas de survenue d'œdème pulmonaire lors de la mise en route de l'époprosténol. *(Dorosz, 2014)*

Une étude prospective randomisée a montré l'efficacité de l'époprosténol chez 81 patients atteints d'HTAP idiopathique en classe fonctionnelle III et IV de la NYHA. Après 12 semaines, une amélioration significative de la distance parcourue lors du test de marche et des paramètres hémodynamiques (diminution de la PAP moyenne de 5 mmHg et augmentation de l'index cardiaque de 0,3 L/min/m^2) étaient observées. De plus, la survie était améliorée après 12 semaines dans le groupe traité (aucun décès contre 8 décès dans le groupe traitement conventionnel). Il n'existe pas d'étude randomisée analysant l'évolution à plus long terme des patients traités par époprosténol. Néanmoins, les analyses rétrospectives retrouvent un bénéfice clinique évident chez les patients en classe fonctionnelle III ou IV de la NYHA. Dans une cohorte de 178 patients souffrant d'HTAP idiopathique, l'époprosténol intraveineux améliorait la tolérance à l'effort, les paramètres hémodynamiques et la survie à long terme, en comparaison à un groupe contrôle « historique » de sujets traités « conventionnellement ». Les taux de survie à 1, 2 et 5ans étaient de 85%, 70% et 55% respectivement, contre 58%, 43%, et 28% dans le groupe contrôle ($p<0,0001$). Après 3 mois de traitement par époprosténol, la dyspnée et la distance parcourue lors du test de marche constituent des indices pronostiques. *(McLaughlin et al., 2002 ; Montani et al., 2013 ; Montani et al., 2005 ; Sitbon et al., 2002)*

Ce traitement permet de retarder le recours à la transplantation en améliorant les paramètres hémodynamiques à l'effort. Néanmoins, la présence de nombreux inconvénients (instable à température ambiante, altérable à pH acide, administration complexe par voie intraveineuse continue via un cathéter posé par voie sous-clavière) et certains effets indésirables (œdèmes pulmonaires) a conduit à la recherche de nouvelles molécules. *(Montani et al., 2014)*

TREPROSTINIL SODIQUE (REMODULIN®)

Photo personnelle

- <u>Indication :</u>

Traitement de l'HTAP idiopathique, dans le but d'améliorer la tolérance à l'effort et les symptômes de la maladie chez les patients en classe fonctionnelle III de la NYHA.

- <u>Propriété</u> : Analogue de synthèse de la prostacycline.

Administrable par voie sous-cutanée continue à l'aide d'un système de mini-pompe semblable à celui utilisé pour la délivrance de l'insuline chez le diabétique, qui exerce un effet vasodilatateur direct au niveau de la circulation artérielle pulmonaire et systémique ainsi qu'un effet inhibiteur de l'agrégation plaquettaire. Son action antiproliférative au niveau des cellules musculaires lisses des artères pulmonaires est plus marquée du fait d'une augmentation plus importante et plus soutenue d'AMPc par rapport aux autres analogues.

- Effets indésirables :
    - Effets locaux liés à l'administration sous-cutanée : réaction locale inflammatoire au point d'injection, douleur au site de perfusion, saignement ou hématome.
    - Effets dose-dépendants : vertiges, flushs, hypotension, érythème, prurit, œdèmes des membres inférieurs, douleurs de la mâchoire, accidents hémorragiques, douleurs osseuses.
    - Surdosage : céphalées, hypotension avec tachycardie, nausées, vomissements, diarrhées, flushs.

- Contre-indications :
    - Hypersensibilité au tréprostinil ou à l'un des excipients
    - HTAP liée à une maladie veino-occlusive
    - Insuffisance cardiaque congestive due à un dysfonctionnement sévère du ventricule gauche
    - Cardiopathie ischémique sévère, angor instable
    - Anomalies valvulaires
    - Insuffisance hépatique sévère
    - Ulcère gastro-intestinal évolutif
    - AVC dans les 3 derniers mois
    - TA systolique < 85mmHg
    - Grossesse, femme sans contraception efficace, allaitement *(Dorosz, 2014)*

Son efficacité à 12 semaines a été évaluée chez des patients atteints d'HTAP idiopathique, liée à une cardiopathie congénitale ou à une connectivite, en classe fonctionnelle II, III ou IV de la NYHA. Après 12 semaines, le tréprostinil améliorait significativement la distance parcourue en 6 minutes (+16m), les scores de dyspnée, les symptômes ainsi que les paramètres hémodynamiques. *(Montani et al., 2005 ; Montani et al., 2013 ; Simonneau et al., 2002)*

ILOPROST (VENTAVIS®)

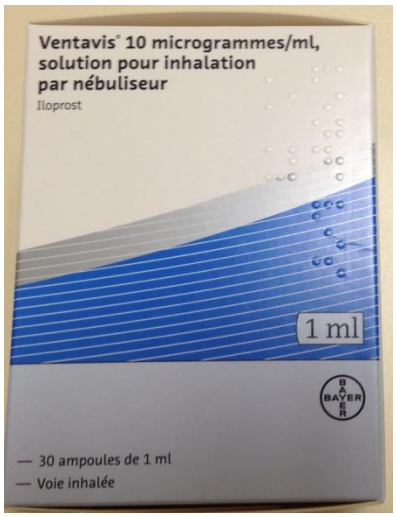


Photo personnelle

- <u>Indication :</u>

Traitement de l'HTAP idiopathique, dans le but d'améliorer la tolérance à l'effort et les symptômes de la maladie chez les patients en classe fonctionnelle III de la NYHA.

- <u>Propriété :</u> Analogue de synthèse de la prostacycline.

Administrable par inhalation (particules de 0,5 à 3µm), entrainant une vasodilatation directe au niveau de la circulation artérielle pulmonaire et systémique ce qui conduit à la diminution de la pression artérielle pulmonaire et des résistances vasculaires pulmonaires, ainsi qu'un effet inhibiteur de l'agrégation plaquettaire.

- <u>Effets indésirables :</u>
    - Très fréquents (>10%) : Majoration de la toux, douleur thoracique, vasodilatation, hypotension systémique.
    - Fréquents (>1% mais <10%) : Céphalées, douleur de la mâchoire, trismus, vertiges, syncopes, œdèmes périphériques, nausées, vomissements, diarrhée.
    - Du fait du mode d'emploi (inhalé), bronchospasmes avec sifflements bronchiques.
    - Risque d'hyperglycémie dans les traitements au long cours.

- Contre-indications :
    - Hypersensibilité à l'iloprost ou à l'un des excipients.
    - Pathologies pouvant être aggravées par l'effet antiagrégant plaquettaire.
    - HTAP liée à une maladie veino-occlusive.
    - Insuffisance cardiaque décompensée.
    - Cardiopathie ischémique sévère, angor instable.
    - Anomalies valvulaires.
    - AVC dans les 3 derniers mois.
    - TA systolique < 85mmHg.
    - Grossesse et allaitement.

(Dorosz, 2014)

La courte durée d'action de l'iloprost constitue le principal désavantage de ce mode d'administration puisqu'il nécessite la réalisation de 6 à 12 inhalations par jour. *(Montani et al., 2014)*

Une étude multicentrique randomisée a analysé le bénéfice de ce traitement après 12 semaines chez des patients atteints d'HTAP idiopathique, liée à une connectivite ou à un cœur pulmonaire chronique post-embolique non opérable en classe fonctionnelle III ou IV de la NYHA. Une amélioration significative de la distance parcourue lors du test de marche (+36m) et de la classe fonctionnelle NYHA était observée chez 17% des sujets traités contre 4% dans le groupe placebo. *(Montani et al., 2005 ; Montani et al., 2013 ; Olshewski et al., 2002)*

BERAPROST SODIQUE (BERADRAK ®)

Le béraprost sodique est le premier analogue de la prostacycline disponible sous forme orale. Une étude randomisée versus placebo a évalué son efficacité chez des patients atteints d'HTAP idiopathique, ou évoluant dans un contexte de cardiopathie congénitale, de connectivite, d'hypertension portale ou d'infection par le VIH en classe fonctionnelle II et III de la NYHA. Après 12 semaines, le béraprost a permis d'améliorer la distance parcourue lors du test de la marche (+25m). L'analyse des sous-groupes retrouvait un bénéfice significatif du traitement dans l'HTAP idiopathique (+45m) mais pas de différence pour les HTAP associées.

Les effets indésirables liés à la vasodilatation périphérique ont été fréquemment observés, principalement à la phase initiale de titration, la tolérance pouvant devenir un facteur limitant à long terme.

Une étude randomisée versus placebo a mis en évidence une diminution du bénéfice du béraprost avec le temps. En effet, le test de marche des patients en classe fonctionnelle II ou III de la NYHA était significativement amélioré à 3 et 6 mois mais la différence n'est plus significative à 9 et 12 mois. Le béraprost n'a pas reçu d'autorisation de mise sur le marché dans le traitement de l'HTAP en France. *(Barst et al., 2003 ; Montani et al., 2005 ; Montani et al., 2013)*

4) Inhibiteurs de la PDE-5

L'utilisation d'inhibiteurs de la phosphodiestérase 5 favorise la relaxation en empêchant la diminution de la concentration intracellulaire de GMPc. Ceux-ci vont pouvoir activer les GMPc-Kinases qui vont phosphoryler les canaux potassiques entrainant un efflux d'ions potassiques et ainsi une hyperpolarisation de la membrane des cellules musculaires lisses artérielles pulmonaires. Cette modification de la polarité de la membrane provoque une diminution de la probabilité d'ouverture des canaux calciques voltage-dépendants donc une diminution de l'entrée de calcium dans la cellule. Cette baisse du taux de calcium intracellulaire est à l'origine de la vasodilatation et de l'effet antiproliférative.

SILDENAFIL (REVATIO®)

Photo personnelle

- Indication :

Traitement de l'HTAP idiopathique chez les patients en classe fonctionnelle II et III selon la classification de l'OMS, afin d'améliorer la capacité d'effort. Efficacité également démontrée dans l'HTAP associée aux connectivites et aux cardiopathies congénitales.

- Propriété :

Inhibiteur puissant et sélectif de la phosphodiestérase de type 5 ou PDE-5 utilisé initialement dans les impuissances, induisant une vasodilatation du lit vasculaire pulmonaire et dans une moindre mesure au niveau de la circulation générale. Il facilite les effets antiproliférative et vasodilatateur du NO.

- Effets indésirables :
    - Constants : diminution discrète de la pression artérielle, mais risque d'hypotension brutale en cas d'association à des dérivés nitrés.
    - Très fréquents (>10%) : Céphalées (46%), rougeur de la face, dyspepsie, diarrhée, douleur des membres, myalgies.
    - Fréquents (>1% mais <10%) : Toux, épistaxis, bronchite, insomnie, anxiété, fièvre syndrome grippal, vision trouble, NOIA (Neuropathie Optique Ischémique Antérieure), hémorragie rétinienne.
    - Surdosage : Risque d'hypotension sévère nécessitant l'arrêt du traitement.

- Contre-indications :
    - Hypersensibilité connue au produit ou à l'un des excipients
    - Nourrisson de moins d'1 an
    - Neuropathie optique ischémique antérieure
    - Antécédent récent d'AVC
    - Hypotension (TA≤ 90/50 mmHg)
    - Insuffisance hépatique sévère
    - Allaitement

(Dorosz, 2014)

Une étude randomisée en double aveugle contre placebo incluant 22 patients atteints d'HTAP idiopathique a montré que le Sildénafil améliorait la tolérance à l'exercice, l'index cardiaque et la qualité de vie des patients traités. *(Montani et al., 2005 ; Sastry et al., 2004)*

Le sildénafil a l'intérêt de son administration par voie orale (3 prises par jour) et de sa bonne tolérance clinique. *(Montani et al., 2005)*

TADALAFIL (ADCIRCA®)

Photo personnelle

- Indication :

Traitement de l'HTAP idiopathique et associée à une connectivite chez les patients en classe fonctionnelle II et III selon la classification de l'OMS, afin d'améliorer la capacité d'effort.

- Propriété :

Inhibiteur puissant et sélectif de la PDE-5, prédominante dans le système vasculaire pulmonaire. L'inhibition de la PDE-5 par le tadalafil augmente les concentrations en guanosine monophosphate cyclique (GMPc).

- Effets indésirables :
  - Très fréquents : Céphalées, bouffées vasomotrices, inflammation du nasopharynx, nausées, dyspepsie, myalgies, douleur dorsale, douleurs des membres.
  - Fréquents : Hypotension, vision trouble, épistaxis, vomissements, métrorragies.
  - De fréquence indéterminée : NOIA, occlusion vasculaire rétinienne, anomalie du champ visuel, IdM, AVC, anémie, angor, tachycardie, rash, urticaire, …

- Contre-indications :
  - Hypersensibilité au produit
  - IdM < 3mois
  - Hypotension < 90/50 mmHg
  - Perte de la vision d'un œil due à une NOIA
  - Allaitement

(Dorosz, 2014)

5) Antagonistes des récepteurs de l'endothéline

BOSENTAN (TRACLEER®)

Photo personnelle

- Indication :

Traitement de l'HTAP dans le but d'améliorer la tolérance à l'effort et les symptômes chez les patients en classe fonctionnelle OMS III :

  - HTAP primitive
  - HTAP associée à une sclérodermie
  - HTAP associée à certaines cardiopathies congénitales

- Propriété : Antagoniste sélectif et compétitif des récepteurs de l'endothéline-1 se liant aux 2 récepteurs ETA et ETB. Il entraine la relaxation des muscles lisses vasculaires pulmonaires, une vasodilatation, diminuant les résistances vasculaires pulmonaires et systémiques et atténuant les effets de l'HTAP sur la restructuration vasculaire, plus facile d'emploi que l'époprosténol en perfusion IV mais hépatotoxique, tératogène et pouvant entrainer une anémie dose-dépendante.

- Effets indésirables :
  - Dose-dépendant : céphalées, bouffées de chaleur, élévation des transaminases, œdèmes des membres inférieurs, anémie, crampes musculaires, syncopes, arthralgies.
  - Rhinopharyngite, pneumonie, hypotension, dyspepsie, prurit, asthénie, bouche sèche, érythème du visage, angioedèmes, nausées, rétention hydrosodée, douleur thoracique.

- Contre-indications :
    - Hypersensibilité au bosentan ou à l'un des excipients
    - Insuffisance hépatique modérée à sévère
    - ASAT et/ou ALAT > 3N avant le début du traitement
    - TA systolique <85 mmHg
    - Grossesse et femme sans contraception efficace, et allaitement

Il est nécessaire de doser les enzymes hépatiques avant le début du traitement et 2 semaines après un changement de doses et tous les mois une fois la dose d'entretien atteinte. En cas d'augmentation des transaminases une interruption temporaire ou définitive du traitement est nécessaire. *(Dorosz, 2014)*

Deux essais randomisés versus placebo ont évalué l'efficacité du bosentan chez des patients présentant une HTAP idiopathique ou liée à la sclérodermie.

Dans la première étude, après 12 semaines, une amélioration de la distance parcourue lors du test de marche (+76m) et des paramètres hémodynamiques (diminution de la PAP moyenne et augmentation du débit cardiaque) était observée chez les patients en classe fonctionnelle III de la NYHA. *(Rubin et al., 2002)*

La seconde étude a permis de confirmer le bénéfice du bosentan chez les sujets en classe fonctionnelle III ou IV de la NYHA et a mis en évidence un allongement de la durée avant dégradation clinique (définie comme la survenue d'un décès, d'une transplantation pulmonaire, d'une hospitalisation, d'une aggravation nécessitant l'arrêt du traitement ou de la nécessité de débuter un traitement par époprosténol). *(Jaïs et al., 2008 ; Montani et al., 2005 ; Montani et al., 2013)*

AMBRISENTAN (VOLIBRIS®)

Photo personnelle

- Indication :

Traitement de l'HTAP idiopathique ou associée à une collagénose systémique chez les patients en classe fonctionnelle II et III selon la classification de l'OMS, afin d'améliorer la capacité d'effort.

- Propriété :

Antagoniste sélectif des récepteurs de type A de l'endothéline (ETA) appartenant à la catégorie des acides propioniques, réduisant les résistances vasculaires pulmonaires et améliorant la capacité à l'exercice des patients. La sélectivité du produit devrait préserver la production par les récepteurs de type B (ETB) de vasodilatateurs comme le monoxyde d'azote (NO) et la prostacycline. (voie orale)

- Effets indésirables :
  - Très fréquents (≥10%) : céphalées, rétention hydrique, œdèmes périphériques.
  - Fréquents (>1% et <10%) : palpitation, congestion nasale, sinusite, douleurs abdominales, constipation, bouffées vasomotrices, anémies.
  - Plus rares (<1%) : Hypersensibilité, angioedème, éruption cutanée, dyspnée, insuffisance cardiaque congestive.
- Contre-indications :
  - Hypersensibilité à la molécule ou aux excipients
  - Fibrose pulmonaire idiopathique
  - Insuffisance hépatique sévère, ASAT et/ou ALAT> 3N
  - Grossesse, allaitement, femme sans contraception efficace *(Dorosz, 2014)*

6) Stimulateur de Guanylyl-cyclase soluble :

La Guanylyl-cyclase soluble, ou GCs, est une enzyme clé dans la voie de signalisation du monoxyde d'azote. En effet, la GCs se lie au NO afin de catalyser la synthèse d'un second messager, le GMPc, à partir du GTP. Le GMPc favorise la vasodilatation et inhibe la prolifération des cellules musculaires lisses vasculaires pulmonaires, le recrutement des leucocytes, l'agrégation plaquettaire et le remodelage vasculaire. *(Montani et al., 2014)* Dans l'hypertension pulmonaire, il a été démontré qu'il existe un dysfonctionnement de la production de NO qui par conséquent ne peut plus activer les GCs ce qui entraine une diminution de production de GMPc.

RIOCIGUAT

- Indication :

Hypertension pulmonaire thromboembolique chronique (HTP-TEC) : le riociguat est indiqué chez les patients adultes en classe fonctionnelle OMS II à III présentant une HTP-TEC inopérable, ou une HTP-TEC persistante ou récurrente après traitement chirurgical, dans le but d'améliorer la capacité à l'effort.

- Propriétés :

Le riociguat est le premier représentant de cette classe pharmacologique. En effet, il augmente la synthèse de GMPc en stimulant la GCs, soit indépendamment du NO soit en synergie avec le NO.

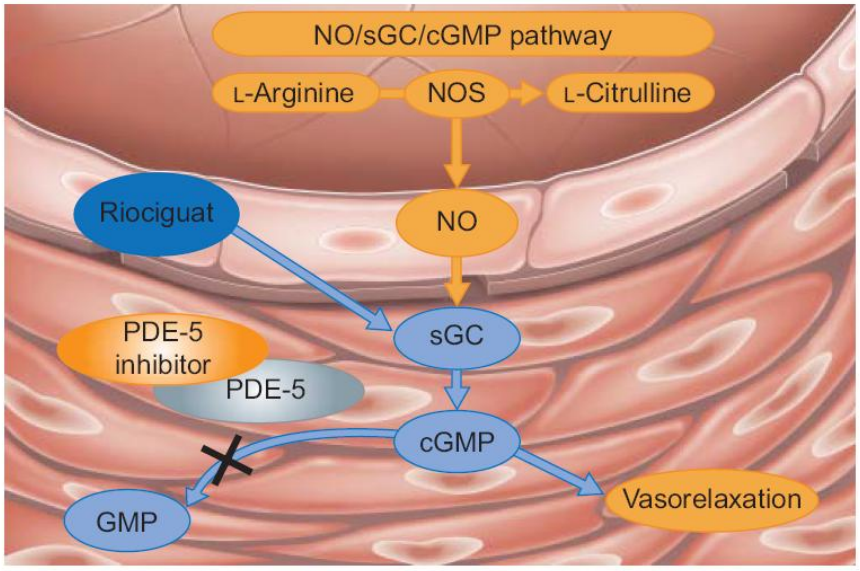


Figure 10 : Action du riociguat ciblant la voie de signalisation du NO dans le traitement de l'HTAP (Kim et al., 2010) Abréviation : NO : monoxyde d'azote ; GCs : guanylate cyclase soluble ; cGMP : guanosine monophosphate cyclique ; GMP : guanosine monophosphate ; PDE-5 : phosphodiestérase 5.

- Effets indésirables :
    - Très fréquents : maux de tête, étourdissements, indigestion, gonflement des membres, diarrhée, nausées ou vomissements.
    - Fréquents : inflammation du système digestif, anémie, douleur dans l'estomac, l'intestin ou l'abdomen, brûlures d'estomac, difficulté à avaler, constipation, ballonnements.

- Contre-indications :
    - Traitement concomitant par les inhibiteurs de la phosphodiesterase-5 (IPDE-5) tels que sildénafil, tadalafil.
    - Insuffisance hépatique sévère.
    - Hypersensibilité au principe actif ou à l'un des excipients.
    - Grossesse.
    - Traitement concomitant par les dérivés nitrés ou les produits dits "donneurs de monoxyde d'azote" (ex: nitrite d'amyle) sous quelque forme que ce soit.
    - Pression artérielle systolique < 95 mmHg à l'initiation du traitement.

(ANSM, 2014)

Les premiers résultats des études randomisées de phase III réalisées en double aveugles chez 445 patients ont montré une augmentation de la distance parcourue pendant le test de marche de 6 minutes de 35,8 m par rapport au placebo (95% CI 20,1-51,5m, p<0,0001). Une amélioration significative des résistances vasculaires pulmonaires, du NT-proBNP, de la classe fonctionnelle, des symptômes cliniques et de la dyspnée est constatée. Il diminue également la pression artérielle pulmonaire moyenne et l'hypertrophie cardiaque droite. Le riociguat est également bien toléré, on note seulement une hypotension asymptomatique chez un patient. *(Kim et al., 2010 ; Montani et al., 2013 ; Montani et al., 2014) (http://www.2minutemedicine.com)*

Depuis Mars 2014, l'ANSM a autorisé la commercialisation du riociguat sous autorisation temporaire d'utilisation (ATU). *(ANSM, 2014)*

C. Traitements non médicamenteux

1) Oxygénothérapie au long cours

Elle est prescrite lorsqu'il existe une hypoxémie importante ($PaCO_2$ < 60mmHg) 15 heures par jour à visée symptomatique principalement. *(Montani et al., 2014)*

2) L'atrioseptostomie

Elle consiste à réaliser une ouverture dans le septum inter-auriculaire par voie endovasculaire de manière à faire diminuer les pressions droites et améliorer ainsi le débit cardiaque en créant un shunt droit-gauche.

Cette procédure nécessite une technique parfaite en raison d'une mortalité élevée au décours immédiat de ce geste. Il ne doit donc être réalisé que dans des centres spécialisés.

Cette technique constitue une alternative intéressante au cours des HTAP sévères, notamment dans le cas de patients sur liste de transplantation pulmonaire et continuant de se dégrader malgré un traitement médical maximal. La mortalité du geste est élevée et son efficacité à long terme reste à évaluer. *(HAS, 2007)*

3) La transplantation pulmonaire ou cardiopulmonaire

Elle constitue l'ultime recours en cas d'HTAP sévère insuffisamment améliorée par un traitement médical maximal. La transplantation bipulmonaire ou cardiopulmonaire représente le seul traitement curatif de l'HTAP.

L'indication d'une transplantation est posée systématiquement par le centre de référence national et/ou son réseau de correspondants, et est réalisée par une équipe spécialisée.

Cette technique est réservée aux sujets jeunes (< 50-55 ans) présentant une HTAP sévère. Les résultats de la transplantation montrent des survies de 75% à 1 an et 50% à 5 ans.

D. Education thérapeutique et adaptation du mode de vie

A l'annonce du diagnostic d'hypertension pulmonaire, il est important d'accompagner le patient dans cette épreuve. En effet, il faut lui expliquer la pathologie et les changements à effectuer sur son mode de vie.

- **Connaissance de la maladie** : Prendre le temps d'expliquer au patient la maladie avec des termes simples pour que ce dernier intègre bien les informations.
- **Aborder les règles d'hygiène et de prévention** dans le but de limiter des infections de cathéter tunnelisé pour les patients traités en perfusion continue d'époprosténol et les infections cutanées pour les patients traités par tréprostonil. Cela comprend des règles d'hygiène corporelle et d'environnement, les protocoles de réfection de pansement, de cathéter tunnelisé et de changement de prolongateur.
- **Education diététique** avec pour objectif la limitation des apports en sel dans l'alimentation.
- **Dans le cadre des traitements médicamenteux,** il faut apprendre au patient comment préparer les médicaments intraveineux, sous-cutané, et inhalé. Il s'agit ici de traitement à vie, le patient doit donc avoir conscience que l'arrêt du traitement n'est en aucun cas envisageable. Il est donc important de surveiller l'observance du patient.
- **Le patient doit également adapter son mode vie** :
  - limiter les efforts, tout en maintenant une activité physique modérée régulière (marche) à adapter selon les symptômes.
  - favoriser l'intégration professionnelle ou scolaire et s'efforcer d'améliorer la qualité de vie.
  - l'intervention d'une assistante sociale et/ou d'un psychologue peut s'avérer utile.
- **Le patient doit éviter le plus possible les situations à risque telles que** :
  - les séjours en altitude (>1000m) susceptibles de majorer l'hypoxie.
  - les anesthésies générales ne doivent être réalisées qu'en cas d'absolue nécessité.
  - la grossesse est fortement contre-indiquée sauf situation exceptionnelle du fait du risque considérable d'aggravation de la maladie pouvant mettre en jeu le pronostic vital de la mère et de l'enfant. Il est par conséquent indispensable d'expliquer l'importance d'une contraception efficace aux patientes en âge de procréer.
- Il faut, par ailleurs, sensibiliser le patient sur l'utilité de **la vaccination antigrippale et antipneumococcique** qui peuvent aider à la prévention.
- On peut aussi informer le patient sur l'existence **d'associations** capables d'aider, d'accompagner, et de soutenir le malade. On peut citer l'association de patients spécifique de l'HTAP *(http://www.htapfrance.com).* Elle fournit également des informations sur la maladie.

IV. Perspectives de traitements

A. Agoniste des récepteurs à la Prostacycline : Selexipag

L'efficacité clinique et la tolérance des analogues de PGI_2 semblent compromises par l'activation concomitante d'autres récepteurs aux prostanoïdes.

Le selexipag est une prodrogue prise par voie orale, qui est métabolisée en un agoniste hautement sélectif des récepteurs IP à la prostacycline. De par sa haute sélectivité pour ces récepteurs, le selexipag se distingue du beraprost et de l'iloprost. En effet, leurs effets s'estompaient avec le temps par la mise en jeu d'un mécanisme impliquant le récepteur 3 à la prostaglandine E qui induit des effets contractants. Le selexipag exerce la même activité vasodilatatrice sur les petites et grosses artères pulmonaires et son effet relaxant reste le même quelles que soient les conditions associées à l'HTP, ce qui n'est pas le cas pour le tréprostinil dont l'efficacité diminue en présence d'endothéline. *(Kuwano et al., 2007)*

Les études précliniques ont montré qu'une administration bi-quotidienne de selexipag atténue l'hypertrophie ventriculaire droite, améliore les paramètres hémodynamiques et augmente la survie dans un modèle d'HTAP chez le rat. *(Kuwano et al., 2008)*

La phase II, incluant 43 patients atteints d'HTAP montre après 17 semaines de traitement avec le selexipag une amélioration des résistances vasculaires pulmonaires par rapport au placebo (- 30,3% versus placebo), et de la distance parcourue pendant le test de marche de 6 minutes (+24,7m versus +0,4m avec le placebo). Le traitement est également bien toléré, on observe toutefois quelques maux de tête, des douleurs des extrémités, des douleurs de la mâchoire, des nausées, et des diarrhées. Ces effets indésirables s'estompent avec le temps. *(Simonneau et al., 2012)*

Actuellement le selexipag est en essai clinique de phase III afin d'évaluer son efficacité sur la morbidité et la mortalité de l'HTAP ainsi que son innocuité. *(Montani et al., 2013 ; Montani et al., 2014)*

B. Antagoniste des récepteurs à l'Endothéline : Macitentan

Le macitentan, aussi appelé ACT-064996, est un antagoniste très puissant des récepteurs à l'endothéline. Une fois dans l'organisme, il est métabolisé pour donner un métabolite actif, ACT-132577. A la différence des autres antagonistes de l'endothéline, le macitentan se lie de façon plus importante au récepteur d'où son activité pharmacologique plus puissante. Dans un modèle d'HTP chez le rat, le macitentan prévient l'augmentation de la pression artérielle pulmonaire moyenne et l'hypertrophie ventriculaire droite. *(Iglarz et al., 2008 ; Sidharta et al., 2011)*

L'étude SERAPHIN (Study with an Endothelin Receptor Antagonist in Pulmonary arterial Hypertension to Improve Clinical outcome) a été réalisée pour évaluer l'efficacité, l'innocuité et les effets sur la morbidité et la mortalité chez 742 patients atteints d'HTAP symptomatique. Ces patients ont reçu le macitentan pendant 3 ans et demi. 250 patients ont reçu le placebo, 250 patients ont reçu le macitentan à la dose de 3 mg par jour et 242 patients ont reçu la macitentan à la dose de 10 mg par jour. Les premiers résultats ont montré une diminution de la morbidité et de la mortalité par rapport au placebo. De plus, il a permis d'améliorer le test de marche de 6 minutes et la classe fonctionnelle NYHA au bout de 6 mois. Le macitentan semble également bien toléré, quelques effets indésirables mineurs sont rapportés tels que des maux de tête, des nausées, des vomissements, des nasopharyngites et des anémies. On note également une augmentation des transaminases supérieure à trois fois la normale chez 4,5% des patients recevant le placebo, chez 3,6% des patients recevant 3 mg de macitentan et chez 3,4% des patients recevant 10 mg de macitentan. Néanmoins, il semblerait que le macitentan présente une moindre toxicité hépatique que les autres antagonistes. *(Montani et al., 2013 ; Montani et al., 2014)*

C. Inhibiteur de la PDE-5 : Vardénafil

Le vardenafil est un inhibiteur de la PDE-5. Une étude randomisée, incluant 66 patients atteints d'HTAP suggère une amélioration du test de marche de 6 minutes et des paramètres hémodynamiques après 3 mois de traitement par du vardenafil par rapport au placebo. *(Jing et al., 2011)*

Pour le moment, les effets indésirables ne sont pas rapportés, et le dosage proposé est de 5 mg deux fois par jour. D'autres études sont encore nécessaires. *(Montani et al., 2013)*

D. Inhibiteurs de tyrosine-kinase

Les inhibiteurs de tyrosine-kinases constituent une nouvelle stratégie thérapeutique antiproliférative basée sur l'inhibition de l'activité tyrosine-kinase de certains récepteurs comme par exemple les récepteurs c-kit et PDGFR, et la protéine kinase soluble BCR-ABL impliqués dans la physiopathologie de l'HTAP.

L'une des cibles thérapeutiques les plus prometteuses dans le traitement de l'HTAP est le PDGF (platelet-derived growth factor). En effet, ce dernier est impliqué dans la dysfonction des cellules endothéliales et dans la prolifération et la migration des cellules musculaires lisses.

L'administration d'imatinib, un inhibiteur non sélectif de l'activité tyrosine kinase des récepteurs du PDGF, dans différents modèles animaux d'HTAP montre une régression du remodelage vasculaire pulmonaire, du fait de l'inhibition de la prolifération et de l'augmentation du taux d'apoptose des cellules musculaires lisses artérielles pulmonaires. L'imatinib est actuellement commercialisé, sous le nom de spécialité Glivec®, pour le traitement de la leucémie myéloïde chronique.

Des essais cliniques randomisés (imatinib versus placebo) de phase II incluant 59 patients atteints d'HTAP de classe II à IV NYHA montrent une amélioration du test de marche de 6 minutes aussi bien avec l'imatinib qu'avec le placebo. Par contre, les paramètres hémodynamiques (résistances vasculaires pulmonaires et CO) s'améliorent significativement avec l'imatinib surtout pour les patients présentant une HTAP sévère. *(Ghofrani et al., 2010)*

Les essais randomisés de phase III, réalisés en double aveugle, pendant 24 semaines sur 202 patients atteints d'une HTAP sévère montre une amélioration du test de marche de 6 minutes (+32m versus placebo), et des paramètres hémodynamiques. Néanmoins, des cas d'hématomes sous-duraux ont été rapportés, et pour lesquels la cause n'est pas encore élucidée. *(Hoeper et al., 2013)*

Une autre étude incluant 143 patients et s'étendant sur une période de 3 ans a montré que 112 patients ont présenté des effets indésirables tels que des nausées (30,8%), des vomissements (18,2%), des œdèmes périphériques (16,8%), des symptômes ORL (15,4%), des œdèmes périorbitaux (15,4%), des maux de tête (14,7%) et des diarrhées (12,6%). *(Montani et al., 2013 ; Montani et al., 2014)*

Le sorafenib est un inhibiteur dit multikinase qui cible les récepteurs c-kit, VEGFR mais aussi d'autres kinases comme par exemple Raf. Il permet aussi d'inverser les effets du remodelage vasculaire pulmonaire, associé à une diminution de la prolifération et une augmentation du taux d'apoptose des cellules composant les lésions pulmonaires liées à l'HTP. Les seuls effets indésirables rapportés sont des réactions cutanées aux mains et aux pieds, une alopécie, et des diarrhées. *(Klein et al., 2008 ; Montani et al., 2013 ; Montani et al., 2014 ; Moreno-Visnasco et al., 2008)*

Le nilotinib inhibe, comme l'imatinib, le PDGFR, c-kit, et c-abl, mais ses effets sur c-abl sont plus marqués qu'avec l'imatinib. Ce médicament est indiqué dans le traitement de la leucémie myéloïde chronique lorsque les patients ont développé une résistance ou une intolérance à l'imatinib. Cette molécule est actuellement en essais clinique de phase II pour son utilisation dans le traitement de l'HTAP.

Bien que ces inhibiteurs de tyrosine kinases représentent une innovation dans le traitement de l'HTP, ils possèdent un inconvénient majeur : ils peuvent être cardiotoxiques. De plus, la présence d'une pathologie cardiaque représente un important facteur de risque de développer une cardiotoxicité. Il est donc raisonnable de penser que la prévalence de la cardiotoxicité de ces molécules va augmenter si elles sont utilisées dans le cadre de la prise en charge des patients présentant une HTP. L'HTP étant associée à long terme à une insuffisance cardiaque droite, l'utilisation de tels inhibiteurs pourraient s'avérer néfaste, la balance bénéfices/risques reste donc à évaluer. *(Montani et al., 2013 ; Montani et al., 2014 ; Kerkela et al., 2006)*

E. VIP : Aviptadil

Le Vasoactive Intestinal Peptide ou VIP induit la relaxation des cellules musculaires lisses des artères pulmonaires. Il neutralise certains facteurs responsables de vasoconstriction pulmonaire comme l'endothéline et l'hypoxie, il inhibe la prolifération des cellules musculaires lisses, il possède une forte activité anti-inflammatoire. Le VIP agit de par sa liaison à deux récepteurs associés le VPAC-1 et le VPAC-2 ce qui provoque l'activation de seconds messagers, l'AMPc et le GMPc, ce qui conduit à une modulation du tonus vasculaire. Le VIP est ainsi actuellement considéré comme une nouvelle cible thérapeutique dans le traitement de l'HTAP. Des études expérimentales ont montré un taux sérique et pulmonaire en VIP très diminué chez les patients atteints d'HTAP par rapport aux sujets sains, ainsi qu'une augmentation de l'expression des récepteurs au VIP.

Les études cliniques ont montré que l'aviptadil donne des résultats contradictoires. L'aviptadil améliore les capacités physiques, la dyspnée, et les paramètres hémodynamiques, selon une étude réalisée sur 8 patients malades et étant naïfs de tout traitement. Alors qu'une autre étude de phase II, effectuée en double aveugle, et incluant 56 patients avec une HTAP déjà traitée avec des antagonistes des récepteurs à l'endothéline, des inhibiteurs de PDE-5 ou les deux, semble ne pas avoir montré ces effets. *(Hamidi et al., 2011)* Une autre étude, incluant 20 patients atteints d'une HTP d'étiologie variée, a montré que l'inhalation de 100µg d'aviptadil est associée à une vasodilatation pulmonaire transitoire et une augmentation du nombre d'AVC. *(Leuchte et al., 2008 ; Montani et al., 2014)*

F. Statines

Les Statines sont des inhibiteurs de l'HMG-CoA réductase (3-hydroxy-3-méthylglutaryl-coenzymeA réductase) qui inhibe la production intracellulaire de précurseurs du cholestérol. De plus, elles possèdent des propriétés anti-inflammatoires sur les cellules endothéliales et les cellules musculaires lisses vasculaires où elles ont également un effet antiprolifératif. En effet, les métabolites hydrophobes du cholestérol, les isoprénoïdes, permettent l'ancrage membranaire de certaines petites protéines G, une étape post-traductionnelle impliquée dans la régulation de la signalisation par ces protéines comme par exemple, la voie des Rho-kinases. Nous avons vu précédemment qu'une inhibition de cette voie entraine une vasodilatation conduisant à l'amélioration des symptômes caractéristiques de l'HTP. *(Hennette, 2005)* De plus, les statines élèvent la production endothéliale de NO et la vasodilatation qui en résulte, par stabilisation de l'ARNm de la NO synthase endothéliale. *(Hennette, 2005)*

Certaines statines ont été capables d'améliorer les paramètres hémodynamiques, le remodelage vasculaire pulmonaire et l'hypertrophie ventriculaire droite dans des modèles animaux d'HTP, en association avec du tadalafil. Pour le moment, il y a eu très peu d'études sur les statines. Mais une étude sur la pravastatine montre une amélioration au niveau des biomarqueurs et de la physiologie pulmonaire chez l'homme. *(Lee et al., 2009)*

Par contre, une étude sur la simvastatine associée à des inhibiteurs de la PDE-5 et à des antagonistes des récepteurs à l'endothéline montre une amélioration transitoire du taux de NT-proBNP et de l'hypertrophie ventriculaire droite à 6 mois mais jamais plus d'un an. *(Wilkins et al., 2010)* De même, la rosuvastatine montre des bénéfices sur les biomarqueurs mais pas sur la fonction pulmonaire à 6 mois. *(Barreto et al., 2008)* Récemment, un essai clinique randomisé, en double aveugle, sur l'association entre l'Aspirine et la simvastatine (vs placebo) chez des patients atteints d'HTAP n'a montré aucune efficacité. *(Kawut et al., 2011 ; Montani et al., 2014)*

G. Inhibiteurs de Rho-Kinases

Les inhibiteurs de Rho-kinases sont une nouvelle classe d'agents pouvant être bénéfiques dans le traitement de l'HTAP. Deux approches différentes existent pour inhiber l'axe RhoA-ROCK dans l'HTAP : soit une inhibition directe des ROCKs avec le fasudil et les dérivés de l'aminofurazan, soit une inhibition indirecte des ROCKs avec les statines.

Le fasudil, ou HA-1077, est l'inhibiteur de Rho-kinases le plus sélectif. Dans les artères de petit calibre, exposées à l'hypoxie, le fasudil inhibe la phosphorylation des MLCP des cellules musculaires lisses, générée par l'activation des Rho-kinases, ce qui conduit à la relaxation des cellules musculaires lisses des artères pulmonaires. Le fasudil serait également capable d'inhiber *in vitro* la production de PDGF par les cellules musculaires lisses des artères pulmonaires. *(Mouchaers et al., 2010)*

Dans des modèles animaux d'HTP, le fasudil diminue la pression artérielle pulmonaire moyenne, les résistances vasculaires pulmonaires, le remodelage vasculaire pulmonaire, et l'hypertrophie ventriculaire droite. Dans des modèles de rats atteints d'HTP, le fasudil améliore de façon plus importante l'HTP que le bosentan et le sildenafil. Aucun effet synergique n'a été observé lorsque le fasudil est associé avec le bosentan et le sildenafil. Par contre, l'association du fasudil avec la prostacycline montre de meilleurs résultats qu'avec le fasudil seul. *(Mouchaers et al., 2010)*

Une étude sur l'utilisation du fasudil en inhalation montre une diminution de la pression artérielle pulmonaires moyenne et des résistances vasculaires pulmonaires mais aussi une diminution de la pression artérielle systolique et des résistances vasculaires systémiques. Un essai clinique sur l'utilisation du fasudil en intraveineux montre de meilleurs résultats sur la vasodilatation pulmonaire que l'inhalation chez des patients atteints d'HTAP sévère. Les résistances vasculaires pulmonaires sont diminuées de 17%, la pression artérielle pulmonaire moyenne est également diminuée. Néanmoins le fasudil induit également la diminution des résistances vasculaires systémiques et de la pression artérielle systolique.

Un autre inhibiteur de Rho-kinases, l'azaindole-1, est plus sélectif que le fasudil. Néanmoins, malgré des effets bénéfiques sur la pression artérielle pulmonaire dans des modèles animaux d'HTP, l'azaindole-1 induit également une forte diminution des pressions artérielles systémique.

Un autre inhibiteur, le composé SB-772077, est un puissant dérivé de l'aminofurazan capable d'inhiber les Rho-kinases. Les résultats d'une étude sur des modèles de rats atteints d'HTP montrent une diminution de la pression artérielle pulmonaire mais aussi des pressions artérielles systémiques. *(Dhaliwal et al., 2009)*

H. Progéniteurs des cellules endothéliales

Les progéniteurs des cellules endothéliales ont la propriété de proliférer et de migrer en réponse à un facteur de croissance angiogénique et de se différencier par la suite en cellules matures pour former des vaisseaux sanguins. Dans l'HTAP, on pense que le déficit en progéniteurs des cellules endothéliales conduit à la dysfonction endothéliale et à la progression de la maladie.

L'administration de progéniteurs des cellules endothéliales en intraveineux à des patients atteints d'une HTAP pourrait en théorie réparer et régénérer les vaisseaux pulmonaires améliorant ainsi la fonction endothéliale et les dommages microvasculaires pulmonaires. L'administration de progéniteurs des cellules endothéliales dans un modèle d'HTAP chez le rat permet de prévenir l'HTP en diminuant les résistances vasculaires pulmonaires et en restaurant la structure des microvaisseaux. *(Zhao et al., 2005 ; Diller et al., 2008)*

L'essai clinique PHACeT (PH and Cell Therapy) a montré l'innocuité de ce traitement mais également que celui-ci permet une amélioration des capacités physiques et des paramètres hémodynamiques pulmonaires. *(PHACeT; Clinicaltrials.gov NCT00469027)*

V. Le facteur de croissance des nerfs (NGF) et son rôle potentiel dans l'HTP

A. Généralités

Dans les années 1950, Rita Levi-Montalcini et ses collaborateurs ont isolé le facteur de croissance des nerfs, couramment appelé NGF (Nerve Growth Factor) à partir de sarcomes ou de glandes salivaires de souris et de venin de serpents.

Le complexe 7S-NGF est constitué de 3 sous-unités appelées α, β et γ dont la stœchiométrie est généralement $\alpha_2\beta_2\gamma_2$. C'est la sous-unité β, présente sous la forme d'un dimère à pH physiologique, qui porte l'activité biologique. Les sous-unités α et γ appartiennent à la famille des kallicréines glandulaires, une sous-unité de sérines-protéinases de type chymotrypsine exprimées uniquement dans les glandes salivaires. Les fonctions exactes de la sous unité α dans le complexe 7S-NGF restent encore mal connues. La sous-unité γ participe quant à elle à la maturation de NGF grâce à une activité estérase.

Le NGF est identifié comme une substance diffusible capable de stimuler la différenciation et la survie neuronale.

Outre sa présence dans le système nerveux, le NGF est aussi présent dans les tissus hématopoïétiques et lymphoïdes. Il induit la différenciation des progéniteurs hématopoïétiques, la prolifération et la différenciation des précurseurs granuleux, ainsi que la prolifération des lymphocytes T et B.

De plus, des études ont montré que le NGF était produit par les cellules inflammatoires infiltrées dans les voies aériennes, principalement les lymphocytes et les mastocytes, où il aurait un rôle de médiateur de l'inflammation. Le NGF est principalement synthétisé par les fibroblastes, les cellules épithéliales et les cellules musculaires lisses bronchiques. La présence du NGF au niveau pulmonaire et son rôle dans l'inflammation pourraient faire de ce facteur un acteur potentiel dans diverses pathologies inflammatoires pulmonaires comme l'asthme ou l'HTP. *(Freund-Michel, 2006 ; Freund-Michel et al., 2008)*

B. Récepteurs et voies de signalisation du NGF

Le NGF appartient à la famille des neurotrophines qui comprend également chez l'homme le facteur de croissance dérivé du cerveau (BDNF) et les neurotrophines 3 et 4/5 (NT-3 et NT-4/5). Les neurotrophines forment des homodimères capables d'activer deux types de récepteurs : les récepteurs de la famille Trk (Tropomyosin-related kinase) comportant une activité tyrosine kinase intrinsèque et le récepteur $p75^{NTR}$ ou récepteur p75 des neurotrophines. Le récepteur $p75^{NTR}$ lie avec la même affinité toutes les neurotrophines alors que chaque type de récepteurs Trk possède une affinité particulière avec un ligand précis. En effet, le NGF se lie préférentiellement au récepteur TrkA, le BDNF et la NT-4/5 au récepteur TrkB et enfin la NT-3 au récepteur TrkC. *(Freund-Michel, 2006 ; Freund-Michel et al., 2008)*

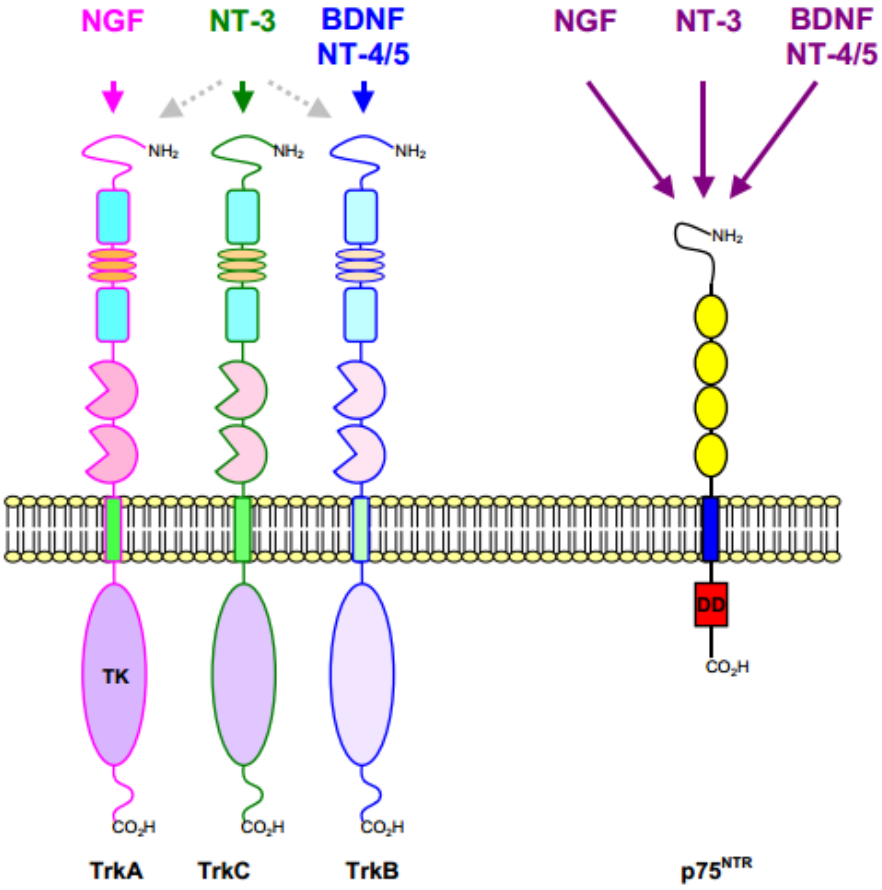


Figure 11 : Les récepteurs des neurotrophines (Thèse V. Freund-Michel, 2006) Il existe 2 types de récepteurs pour les neurotrophines : 1) les récepteurs de la famille Trk ayant une activité tyrosine kinase. Le récepteur TrkA lie le NGF, le TrkB le BDNF et la NT-4/5 (Neurotrophine 4/5) et le TrkC lie la NT-3 (neurotrophine 3). La NT-3 est également capable de lier le récepteur TrkA et TrkB mais avec une plus faible affinité. 2) Le récepteur $p75^{NTR}$ (récepteur p75 des neurotrophines) qui lie toutes les neurotrophines avec la même affinité. Il appartient à la famille des récepteurs de mort (death receptor).

1) Le récepteur TrkA

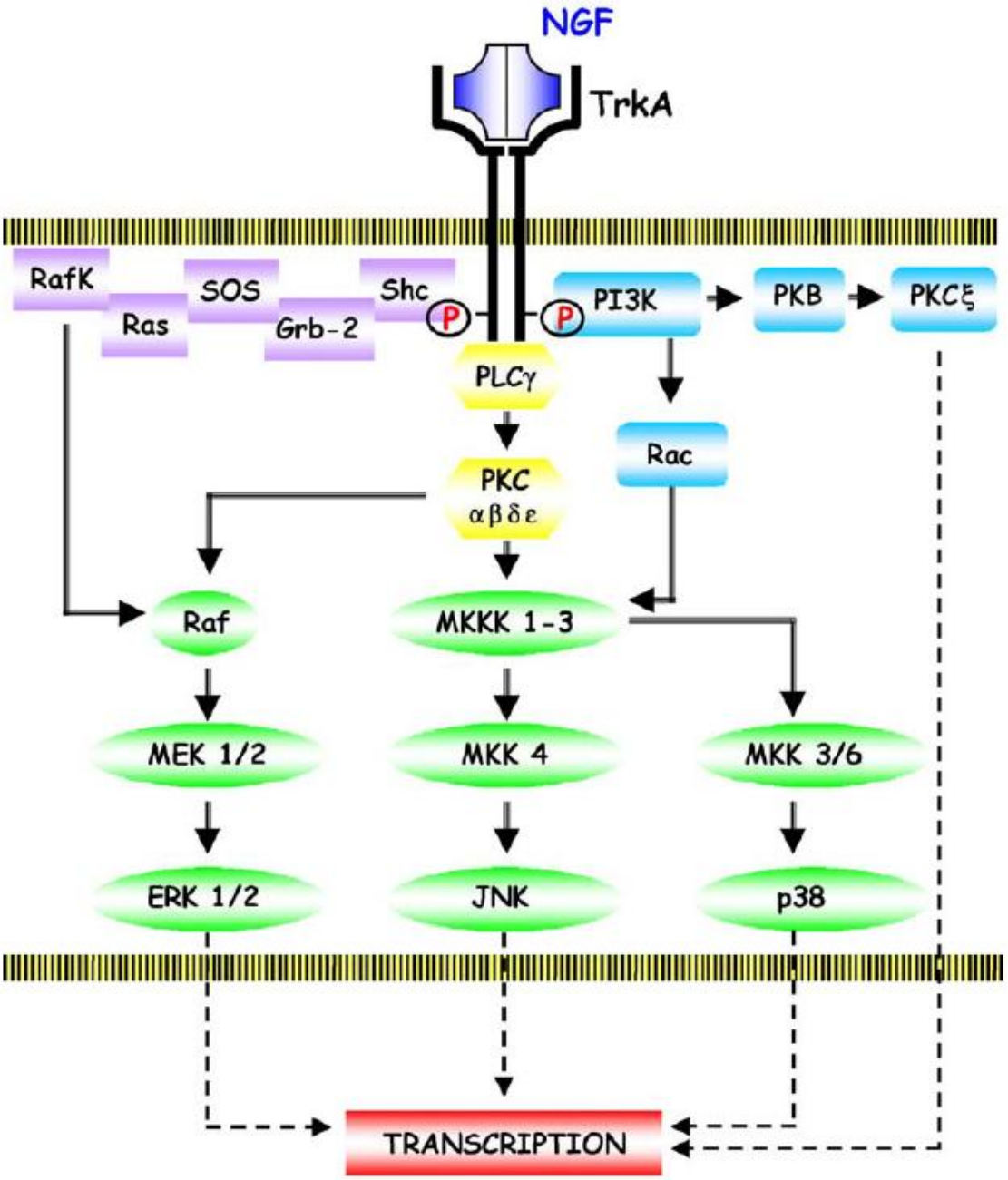
Chez l'homme, le récepteur TrkA est exprimé au niveau de la membrane des neurones du système nerveux central et périphérique mais également sur des cellules non neuronales comme les cellules du système immunitaire ou les cellules structurales.

Dans le poumon, l'expression du récepteur TrkA a été mise en évidence à la surface des cellules inflammatoires telles que les mastocytes purifiés issus du poumon humain. Le récepteur TrkA a également été mis en évidence sur les cellules structurales des voies aériennes, comme sur les fibroblastes pulmonaires et les cellules musculaires lisses bronchiques.

La stimulation du récepteur TrkA par le NGF entraine la survie cellulaire, une stimulation de la prolifération, la différenciation cellulaire, une inhibition de l'apoptose et une augmentation de la libération de médiateurs à partir des différentes cellules portant à leur surface ce récepteur.

La liaison du NGF au récepteur TrkA induit une dimérisation des récepteurs, initiant l'activation de la kinase et la transphosphorylation de tyrosines au niveau du domaine intracellulaire du récepteur. Chaque domaine kinase d'un monomère induit la phosphorylation de l'autre monomère. Les phosphorylations ont lieu sur 6 résidus tyrosine : les résidus Tyr670, Tyr674, et Tyr675 situés à l'intérieur même du domaine kinase, sont phosphorylés en premier et augmentent l'activité catalytique de la tyrosine kinase qui phosphoryle ensuite les résidus Tyr490, Tyr751, et Tyr785 situés à l'extérieur du domaine kinase.

La reconnaissance de ces tyrosines phosphorylées par des molécules effectrices possédant un domaine SH2 va permettre la propagation du signal dans la cellule selon trois voies de signalisation : la voie Ras/Raf, la voie PLC-PKC, et la voie PI3K. *(Freund-Michel, 2006 ; Freund-Michel et al., 2008 ; Freund-Michel et al., 2011)*



<u>Figure 12 :</u> Voies de signalisation du récepteur TrkA (Thèse V. Freund-Michel, 2006) En liant le NGF, le récepteur TrkA va se dimériser, permettant ainsi son autophosphorylation et une activation de différentes voies de signalisation. L'activation de la phospholipase Cγ (PLCγ), des différentes protéines kinases C (PKC α, β, δ, ε), ainsi que de la petite protéine G Ras entraine l'activation des différentes MAP-kinases ERK (extracellular-regulated kinase), p38 et JNK (JUN-N-terminal kinase). Une autre voie met en jeu la PI3-kinase (PI3K) entrainant l'activation de la protéine kinase B (PKB), conduisant d'une part à l'activation d'une voie MAP-kinase indépendante avec l'activation de la protéine kinase Cξ (PKCξ) et d'autre part à l'activation de la voie des MAP-kinases par l'intermédiaire de la petite protéine G Rac. Shc : Src homology-2 containing protein ; Grb-2 : growth factor receptor-bound protein ; SOS : son of sevenless ; RafK : Raf kinase ; MKKK : MAP-kinase kinase kinase : MEK : MAP ERK kinase.

a. La voie Ras/Raf

La liaison de la protéine adaptatrice Shc au résidu Tyr 490 phosphorylé du récepteur TrkA conduit à sa phosphorylation lui permettant de s'associer à une autre protéine adaptatrice, la protéine Grb2 (Growth factor receptor bound protein-2) possédant des domaines SH2 et SH3. Les deux domaines SH3 présents sur Grb2 permettent son interaction avec le facteur Sos (Son of sevenless), un facteur d'échange de GTP pour la petite protéine G Ras. La protéine Sos active donc Ras, en induisant un échange entre le GDP et le GTP, qui va à son tour activer la Raf-kinase (RafK). Cette enzyme va phosphoryler Raf qui va phosphoryler la cascade des MAP kinases (Mitogen-activated protein kinase). Ceci conduit à l'activation et la translocation dans le noyau de facteurs de transcription comme Elk-1 (ETS domain-containing protein), mais également à l'activation de la kinase RSK (p90 ribosomal S6 kinase) qui phosphoryle CREB (cAMP response element binding protein) et l'active. Cette voie de signalisation est impliquée dans la survie cellulaire et notamment via l'activation de la transcription de protéines anti-apoptotiques comme Bcl-2 (B-cell lymphoma 2). *(Freund-Michel, 2006 ; Freund-Michel et al., 2008 ; Freund-Michel et al., 2011)*

b. La voie PLC/PKC (Phospholipase C-Protéine kinase C)

La phosphorylation de la PLCβ par la kinase du récepteur TrkA entraine son activation. Elle va alors cliver le phosphatidyl inositol 4,5-bisphosphate pour former deux seconds messagers le diacylglycérol (DAG) et l'inositol triphosphate (IP_3). L'IP_3 se lie à son récepteur exprimé sur le réticulum endoplasmique et induit la libération de calcium dans le cytoplasme de la cellule. Le DAG active les PKC en synergie avec le calcium libéré dans le cytoplasme. Ces voies conduisent à l'activation des MAPK p38 et JNK (c-jun N-terminal kinase) par l'intermédiaire des MAPK kinases kinases MKKK-1 et MKKK-3 et de la MAPK ERK1/2 (extracellular-regulated kinase) par l'intermédiaire de la phosphorylation de Raf. Ces voies sont impliquées dans le phénomène de transcription des gènes. *(Freund-Michel, 2006 ; Freund-Michel et al., 2008 ; Freund-Michel et al., 2011)*

c. La voie PI3K (Phosphatidyl inositol-3 kinase)

La PI3K est un hétérodimère composé d'une sous-unité catalytique et d'une sous-unité régulatrice comportant un site SH2. La phosphorylation de PI3K par le récepteur TrkA entraine son activation. La PI3K induit la formation de phosphatidyl inositol 3,4-biphosphate qui permet le recrutement à la membrane de la kinase PDK1 (3-phosphoinositide-dependent kinase1) et l'activation de son substrat, la protéine Akt, encore appelée protéine kinase B (PKB). La PKB conduit à

l'activation de la transcription de gènes de manière MAPK-indépendante, via la PKCξ atypique et de manière MAPK-dépendante par l'intermédiaire de la petite protéine G Rac. Cette voie est impliquée dans la survie cellulaire des neurones induite par le NGF. En effet, la PI3K peut inhiber l'activité pro-apoptotique de facteurs comme la protéine Bad ou le facteur de transcription forkhead.
La PKB peut également cibler des protéines appartenant à la famille des inhibiteurs d'apoptose IAP (Inhibitor of Apoptosis) tels que XIAP (X-linked inhibitor of apoptosis), NAIP (Neuronal Apoptosis Inhibitory Protein) et HIAP (Human Inhibitor of T-cell apoptosis). Ces protéines sont activées par le NGF via la PKB dans les neurones sensitifs et sympathiques et participent à leur survie cellulaire. *(Freund-Michel, 2006 ; Freund-Michel et al., 2008 ; Freund-Michel et al., 2011)*

2) Le récepteur $p75^{NTR}$

Le récepteur p75 des neurotrophines ou $p75^{NTR}$ appartient à la superfamille des récepteurs de mort caractérisée par la présence d'un domaine de mort DD (Death Domain) qui induit les voies de l'apoptose ou mort cellulaire programmée.

L'activation du récepteur $p75^{NTR}$ conduit à la stimulation de l'apoptose dans les cellules neuronales mais également dans les cellules structurales sur lesquelles ce récepteur est exprimé. Mais toutes les cellules exprimant le récepteur $p75^{NTR}$ ne déclenchent pas forcément d'apoptose en réponse aux neurotrophines. En fait, le récepteur $p75^{NTR}$ peut induire des voies de signalisation conduisant soit à l'apoptose via la voie de la MAPK JNK, soit au contraire à la survie cellulaire par l'intermédiaire de l'activation du facteur de transcription NFκB. De plus, il participe également à la myélinisation et à la croissance des neurites. Le choix de ces voies dépend de la nature du ligand, des co-récepteurs impliqués et des protéines adaptatrices recrutées dans le cytoplasme des cellules.

Le récepteur $p75^{NTR}$ n'a pas d'activité intracellulaire propre, et la signalisation se fait grâce à l'association à des protéines adaptatrices cytoplasmiques. Cette interaction se fait grâce à deux domaines : le domaine juxtamembranaire (JM) ou *Chopper domain* et le domaine de mort DD ou *Death Domain*.

Le domaine de mort permet l'interaction avec des protéines adaptatrices entrainant l'activation de la voie des caspases et l'induction de l'apoptose. Le domaine juxtamembranaire JM situé à proximité de la membrane, permet le recrutement de protéines adaptatrices conduisant à l'activation de voies de signalisation impliquées dans l'apoptose mais aussi dans la survie cellulaire. *(Freund-Michel, 2006 ; Freund-Michel et al., 2008)*

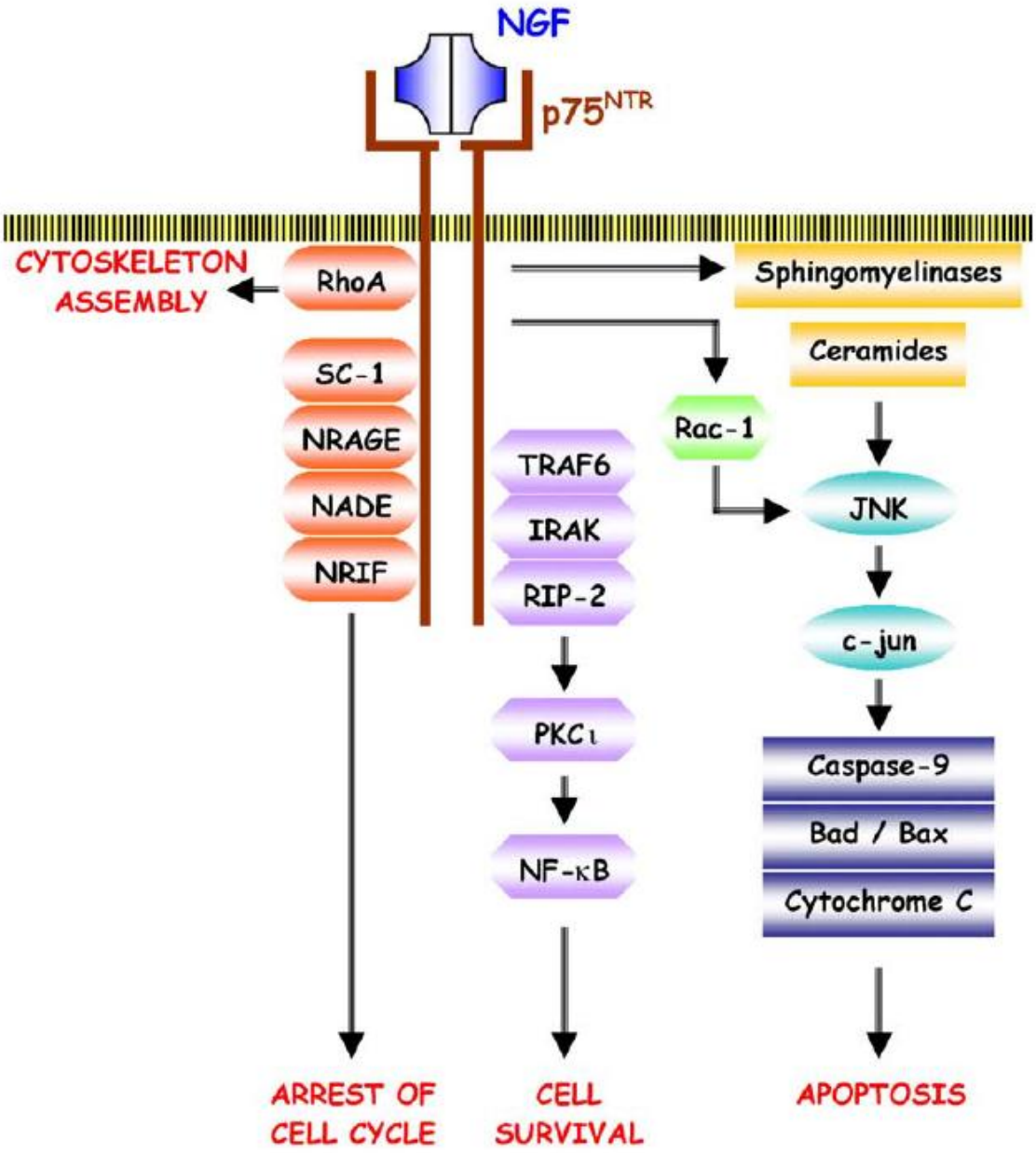


Figure 13 : *Voies de signalisation du récepteur p75^{NTR}. (Freund-Michel, 2006) Le NGF induit l'activation du récepteur p75^{NTR} en induisant son homodimérisation et l'activation du facteur de transcription NF-κB grâce au recrutement de protéines adaptatrices comme par exemple TRAF-6, IRAK et RIP2, l'activation d'IRAK (IL-1 receptor-associated kinase) et de la PKC iota atypique (PKCι). Le NGF induit aussi l'activation de la voie de signalisation de JNK de par l'activation de la petite protéine G Rac, mais également par l'activation des sphingomyélinases et la synthèse de céramides. JNK activée conduit à l'activation par phosphorylation des facteurs pro-apoptotiques Bad, Bax et p53, qui stimulent la libération de cytochrome C à partir des mitochondries. La voie des caspases est activée, en particulier les caspases 9, induisant l'apoptose. Le NGF peut aussi activer la protéine RhoA, responsable de modifications du cytosquelette, et d'autres protéines adaptatrices telles que NRIF, NADE, NRAGE et SC-1, qui peuvent jouer un rôle dans l'arrêt du cycle cellulaire. TRAF: TNF receptor-associated factor, NF-κB: nuclear factor-κB, NRIF: neurotrophin-receptor interacting factor, NADE: neurotrophin-associated cell death executor, NRAGE: neurotrophin-receptor-interacting MAGE homologue, SC-1: Schwann cell-1, RIP2: receptor-interacting protein-2.*

a. Voies de signalisation conduisant à l'apoptose

Les voies de signalisation activées par le récepteur $p75^{NTR}$ et conduisant à l'apoptose mettent quasiment toutes en jeu l'activation de la MAPK JNK qui conduit à l'activation de la voie des caspases.

L'activation de la MAPK JNK peut être induite par trois voies distinctes : le recrutement de protéines adaptatrices spécifiques, la synthèse de céramides ou l'activation de la petite protéines G Rac-1.

- **Recrutement de protéines adaptatrices :**

Contrairement au récepteur TrkA, le récepteur $p75^{NTR}$ ne possède pas d'activité enzymatique intrinsèque et son activation conduit souvent dans un premier temps au recrutement de protéines adaptatrices qui induisent ensuite la transmission du signal intracellulaire.

Parmi ces protéines adaptatrices, on peut citer la protéine NRIF essentielle pour activer la MAPK JNK et ainsi induire l'apoptose. Elle interagit avec une autre protéine TRAF6 (TNF receptor associated factor 6) provoquant la polyubiquitinylation de NRIF. Ceci entraine la translocation de NRIF dans le noyau où elle joue le rôle de répresseur de la transcription et conduit à l'arrêt du cycle cellulaire.

NRAGE (Neurotrophine receptor-interacting MAGE) interagit avec le récepteur $p75^{NTR}$ grâce à son domaine MAGE (Melanoma-associated antigens) et participe à l'apoptose car elle active la MAPK JNK. De plus, elle induit une augmentation de l'expression et l'activation de la protéine p53 conduisant à l'arrêt du cycle cellulaire par l'intermédiaire de l'activation de la protéine inhibitrice du cycle cellulaire, $p21^{CIP1/WAF}$.

NADE ($p75^{NTR}$-associated cell death executor) interagit avec le domaine DD du récepteur $p75^{NTR}$ et induit une apoptose en activant la voie des caspases. Pour le moment, la voie de signalisation n'est pas clairement définie.

SC-1 (Schwann factor-1) est une protéine adaptatrice qui agirait comme un répresseur de transcription. Elle se lie au récepteur $p75^{NTR}$ par le domaine JM. SC-1 migre ensuite dans le noyau et induit ainsi un arrêt du cycle cellulaire mais les mécanismes impliqués dans cet effet ne sont pas connus pour l'instant.

- **Synthèse de céramides :**

La liaison du NGF au récepteur $p75^{NTR}$ induit l'activation des sphingomyélinases. Ces dernières clivent la sphingomyéline en céramides et phosphatidylcholine. Les mécanismes intracellulaires activés par les céramides conduisant à l'apoptose ne sont pas encore clairement identifiés à l'heure actuelle. Il semblerait que les céramides induisent la phosphorylation de la MAPK JNK, mais inhiberaient également les protéines impliquées dans l'induction de la survie cellulaire telles que la PKC atypique zeta (PKCζ), ce qui conduit à l'apoptose.

- **Activation de la protéine Rac-1 :**

La protéine Rac-1 est une protéine à activité GTPase appartenant à la famille des petites protéines G de type Rho. L'activation du récepteur $p75^{NTR}$ conduit à l'activation de la petite protéine G Rac-1 qui se lie alors sur le motif CRIB (cdc-42/Rac-1 interactive binding motif) présent sur les MAPK kinases kinases (MAPKKK) conduisant à leur activation. Ceci entraine la phosphorylation des MAPK kinases MKK4 et MKK7 qui phosphorylent spécifiquement la MAPK JNK, ce qui induit l'apoptose. *(Freund-Michel, 2006 ; Freund-Michel et al., 2008)*

b. Voies de signalisation conduisant à la survie cellulaire

La survie cellulaire induite par l'activation du récepteur $p75^{NTR}$ par les neurotrophines et le NGF met en jeu l'activation du facteur de transcription NFκB, acteur central dans la survie cellulaire.

Il peut être activé selon trois voies différentes : le recrutement de protéines adaptatrices de la famille TRAF (TNF receptor-associated factor), le recrutement d'une autre protéine adaptatrice RIP-2 (Receptor interacting-protein 2) et l'activation de la PI3K.

Les protéines TRAF, et plus particulièrement l'isoforme TRAF6, va interagir avec le récepteur $p75^{NTR}$ induisant son activation et conduisant au recrutement de la kinase IRAK (IL-1 Receptor associated kinase). Cette dernière va recruter et activer la PKC iota (PKCι) qui va permettre la phosphorylation de l'inhibiteur IkB (Inhibitory κB) libérant ainsi le facteur de transcription NFκB.

La protéine RIP-2 se lie au récepteur $p75^{NTR}$ ce qui induit son activation. Elle va alors activer le facteur de transcription NFκB ce qui conduit à la survie cellulaire.

L'activation du récepteur $p75^{NTR}$ par le NGF peut conduire à l'activation de la voie PI3K. En effet, le récepteur $p75^{NTR}$ activé conduit à la phosphorylation de la kinase PKB par PI3K elle-même phosphorylée. Ceci entraine l'activation du facteur de transcription NFκB via la phosphorylation d'IκB (Inhibitory κB) par la kinase IKK. IκB va alors se détacher de NFκB qui va alors pouvoir atteindre le noyau et induire la survie cellulaire. *(Freund-Michel, 2006 ; Freund-Michel et al., 2008)*

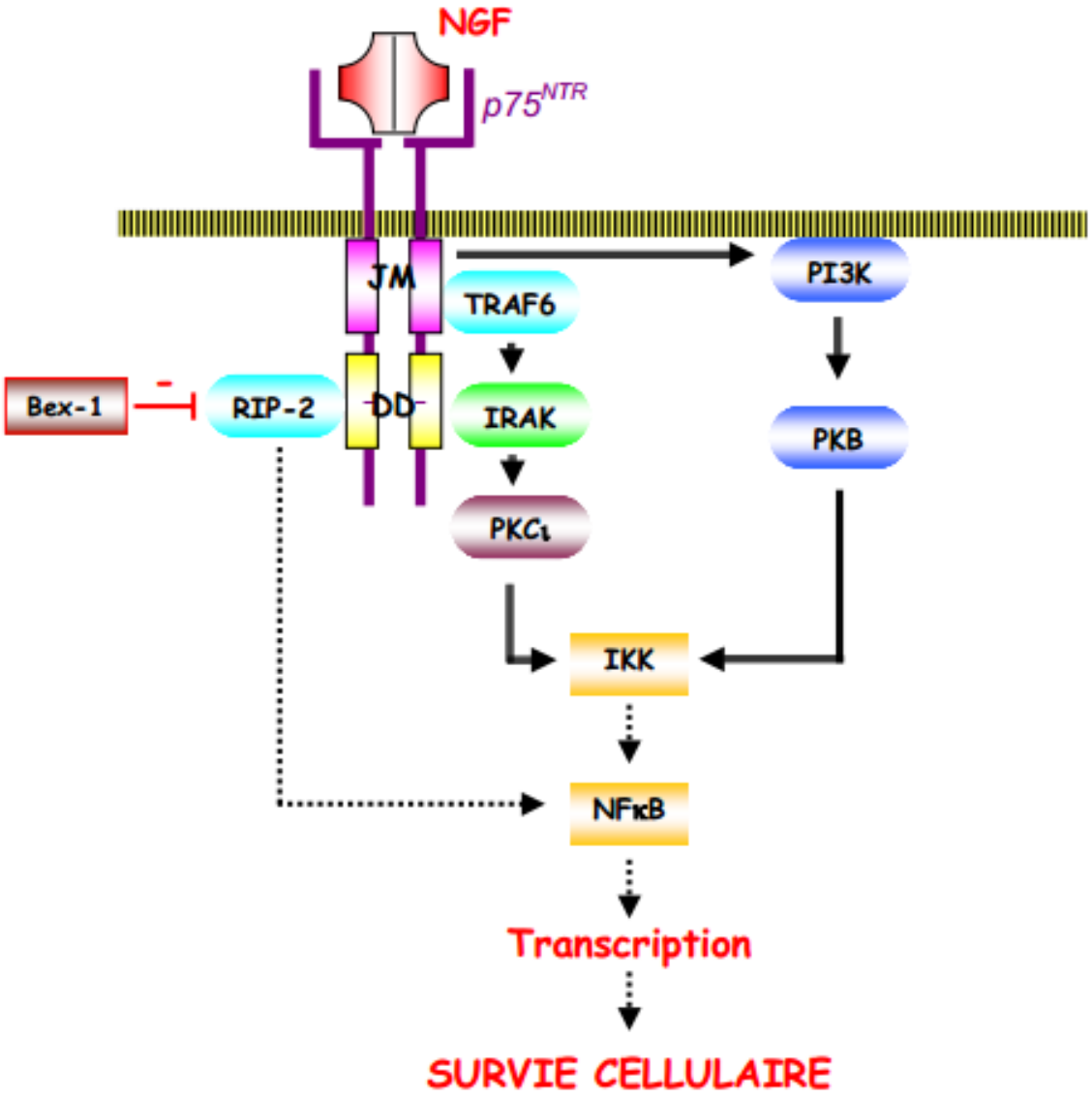


Figure 14 : *Voies de signalisation du récepteur $p75^{NTR}$ induisant la survie cellulaire (Freund-Michel, 2006) Le facteur de transcription NFκB joue un rôle central dans les voies de signalisation induites par le récepteur $p75^{NTR}$ impliqués dans la survie cellulaire : il est activé par 1) la protéine adaptatrice TRAF6, recrutée au niveau du domaine JM du récepteur $p75^{NTR}$, qui recrute à son tour la kinase IRAK et conduit à l'activation de la PKC atypique PKCι, elle-même induisant la phosphorylation de la kinase IKK ; 2) la protéine adaptatrice RIP-2 recrutée au niveau du domaine DD du récepteur p75NTR ou 3) l'activation de la PI3K et de la kinase PKB, conduisant également à la phosphorylation de la kinase IKK. Le facteur NFκB activé migre dans le noyau des cellules et induit la transcription de gènes impliqués dans la survie cellulaire. La protéine Bex-1 entre en compétition avec la protéine RIP-2 et bloque la survie cellulaire RIP-2 dépendante. TRAF6 : TNF receptor-associated factor 6 ; IKK : Kinase de IκB ; NF-κB : nuclear factor-κB ; IRAK : Interleukin-1 receptor associated kinase ; PKCι : protéine kinase C atypique ι ; RIP2 : receptor-interacting protein-2 ; PI3K : phosphatidyl-inositol 3 kinase ; PKB : protéine kinase B.*

C. NGF et Asthme

Des taux sériques plus élevés de NGF ont été observés dans le cas de maladies allergiques ou inflammatoires. De plus, ce taux semble corrélé avec la sévérité de la pathologie asthmatique. Cette augmentation a également été mise en évidence dans le liquide de lavage bronchoalvéolaire suggérant une régulation locale de la sécrétion de NGF dans l'asthme.

1) NGF et hyperréactivité bronchique

Plusieurs études suggèrent une implication du NGF dans l'hyperréactivité bronchique. En effet, l'administration d'anticorps bloquants du NGF abolit l'hyperréactivité bronchique observée après sensibilisation et provocation allergique chez la souris. Le NGF provoquerait une bronchoconstriction. Cette hyperréactivité bronchique induite par le NGF a été mise en évidence *in vitro* sur des anneaux de bronches humaines.

L'utilisation d'anticorps bloquants anti-$p75^{NTR}$ supprime l'hyperréactivité bronchique après sensibilisation et provocation allergique. Ceci suggère que cette hyperréactivité bronchique est médiée par le récepteur $p75^{NTR}$ du NGF.

Le récepteur TrkA intervient également mais plutôt sur le plan de l'hypersensibilité des nerfs sensitifs des voies aériennes conduisant à l'hyperréactivité. Ceci pourrait suggérer que le NGF, via l'activation de son récepteur TrkA, induit des modifications anatomiques et fonctionnelles du système nerveux sensitif pouvant contribuer au développement de l'hyperréactivité bronchique. *(Freund-Michel, 2006 ; Freund-Michel et al., 2008)*

2) NGF et inflammation

Des études sur des anticorps bloquants du NGF, réalisées *in vivo* dans différents modèles animaux, ont montré l'implication de celui-ci dans le phénomène d'inflammation.

Dans un modèle murin d'asthme, des anticorps bloquants du NGF réduisent les taux de cytokines de type Th2 IL-4 et IL-5 dans le liquide de lavage bronchoalvéolaire. Le prétraitement d'une souris sensibilisée par des anticorps bloquants du NGF inhibe totalement l'inflammation des voies aériennes après provocation allergique.

De plus, le rôle du récepteur $p75^{NTR}$ dans l'inflammation a pu être mis en évidence grâce à l'utilisation d'anticorps bloquant anti-$p75^{NTR}$ chez la souris ainsi qu'une étude chez des souris dont le gène codant pour le récepteur $p75^{NTR}$ est invalidé.

Tout ceci suggère donc que le NGF pourrait jouer le rôle de médiateur dans l'inflammation bronchique. *(Freund-Michel, 2006 ; Freund-Michel et al., 2008)*

3) NGF et remodelage bronchique

Les cellules structurales des voies aériennes, ainsi que les cellules inflammatoires infiltrées dans la muqueuse bronchique libèrent des chimiokines et des facteurs de croissance responsables du remodelage bronchique des voies aériennes chez les patients asthmatiques.

Plusieurs études suggèrent le rôle du NGF dans le remodelage bronchique existant dans les voies aériennes du patient asthmatique. En effet, le NGF est capable de stimuler la contraction et la migration des fibroblastes pulmonaires ainsi que leur différenciation en myofibroblastes. De plus, le NGF induit la libération de cytokines impliquées dans les mécanismes de remodelage bronchique.

Le NGF joue également un rôle dans l'augmentation de synthèse de la matrice extracellulaire en stimulant la production de collagène de type I par les fibroblastes et l'expression du PAI-I (Plasminogen Activator Inhibitor-I), un inhibiteur de l'activité protéolytique de la MMP-9.

Le NGF induit également la migration et la prolifération des cellules endothéliales et des cellules musculaires lisses. Il participe aussi à la libération de facteurs pro-angiogéniques comme par exemple le VEGF d'où une vascularisation accrue dans les voies aériennes des patients asthmatiques. *(Freund-Michel, 2006 ; Freund-Michel et al., 2008)*

Nous pouvons facilement faire un rapprochement entre l'asthme et l'HTP du fait de caractéristiques physiopathologiques très proches. En effet, ces deux pathologies présentent un phénomène d'inflammation, une hyperréactivité vasculaire pulmonaire pour l'HTP et bronchique pour l'asthme ainsi que du remodelage artériel pulmonaire pour l'HTP et bronchique dans l'asthme.

L'hypothèse d'un rôle du NGF dans ces différents aspects physiopathologiques dans l'HTP a alors été envisagée.

D. Stage d'initiation à la recherche

1) Contexte

Il y a deux ans, j'ai effectué un stage d'initiation à la recherche au sein du Centre de Recherche Cardio-Thoracique de Bordeaux (INSERM U1045) Université Bordeaux II. Au cours de ce stage j'ai participé aux recherches sur le NGF et son rôle potentiel dans l'HTP. Les premières études menées au laboratoire ont montré une augmentation d'expression du NGF et de ses récepteurs dans l'HTP chez l'homme. Des expériences ont également été mises en œuvre afin d'identifier un rôle potentiel du NGF dans la physiopathologie de l'HTP. Ainsi, ces expériences ont montré que le NGF induit *ex vivo* une hyperréactivité des artères pulmonaires humaines contrôles à des agents contractants. De plus, le NGF induit *ex vivo* l'augmentation de sécrétion par les artères pulmonaires humaines contrôles des cytokines pro-inflammatoires IL-1β et TNF-α. Enfin, *in vitro*, le NGF stimule la prolifération et la migration des cellules endothéliales et musculaires lisses vasculaires pulmonaires humaines en culture primaire. L'ensemble de ces résultats suggère ainsi que, chez l'homme, le NGF pourrait participer à la fois à l'hyperréactivité, à l'inflammation et au remodelage vasculaire pulmonaire, trois aspects physiopathologiques majeurs dans l'HTP.

2) Objectifs

Le stage que j'ai réalisé comportait deux objectifs majeurs. Tout d'abord d'un point de vue *in vivo*, j'ai participé à l'étude d'un protocole préventif avec administration d'anticorps bloquants du NGF dans un modèle d'HTP sévère chez le rat. Le but était d'évaluer l'efficacité du ciblage du NGF dans le cas d'une HTP plus sévère mais normalement plus proche de l'HTP rencontrée chez l'homme. En effet, ce nouveau modèle d'HTP combine l'injection de monocrotaline au placement des animaux en hypoxie chronique. Ce modèle est intéressant car il présente, en comparaison aux modèles classiques, des caractéristiques physiopathologiques identiques mais plus sévères. On note, de plus, l'apparition dans ce modèle combiné de lésions thrombotiques et plexiformes, d'aspect très proche de celles retrouvées dans l'HTP humaine d'origine idiopathique. Ce nouveau modèle combiné permet donc d'évaluer l'efficacité du ciblage du NGF sur de nouveaux paramètres physiopathologiques.

En parallèle de ce travail *in vivo*, j'ai également participé à des expériences visant à approfondir les mécanismes mis en jeu par le NGF dans la physiopathologie de l'HTP. Dans ce but, je me suis intéressée plus particulièrement à l'étude de l'effet du NGF sur l'expression et/ou l'activité d'une métalloprotéinase de matrice, la MMP-2. En effet, la MMP-2 est à l'étude car son expression et son

activité sont augmentées dans l'HTP. La MMP-2 participe au remodelage vasculaire pulmonaire en dégradant la matrice extracellulaire dans les artères pulmonaires. Il a été montré récemment au laboratoire que le NGF augmente l'expression et/ou l'activité de la MMP-2 dans les artères pulmonaires humaines *ex vivo*. L'objectif a donc été de déterminer dans quel(s) tissu(s) artériel(s) pulmonaire(s) a lieu cette modulation par le NGF. L'effet du NGF sur l'expression/activité de la MMP-2 a ainsi été étudié par zymographie sur des surnageants de cultures primaires de cellules endothéliales d'artère pulmonaire humaine.

3) Résultats obtenus au cours du stage

a. Protocole

Des rats adultes mâles (200-300g) de souche Wistar ont été répartis en trois groupes (n=8-12 rats) :

– Un groupe contrôle où les rats ont été maintenus dans des conditions atmosphériques normales (pression barométrique de 760 mmHg et pression partielle en oxygène de 160 mmHg) et n'ont subi aucune injection.

– Un groupe malade (MCT+HYPOX) où les rats ont chacun reçu une injection intrapéritonéale de monocrotaline (MCT, 60 mg/Kg IP) (Jour 1 (J1) du protocole). La MCT est un alcaloïde pyrrolizidinique qui après métabolisation dans le foie donne des métabolites actifs induisant la dégradation spécifique (par un mécanisme non élucidé) de l'endothélium des vaisseaux pulmonaires et donc une HTP. Ces rats ont ensuite été placés à J3 dans un caisson hypobare à une pression de 380 mmHg et une pression partielle en oxygène de 80 mmHg.

– Un groupe malade traité (MCT+HYPOX+Ac NGF) où les rats ont subi le même traitement que le groupe malade avec en plus un traitement par un anticorps bloquant anti-NGF (10µg/kg ip). Ici un protocole préventif a été mis en place c'est-à-dire que les rats ont été traités dès le début du protocole en parallèle au développement de la pathologie (traitements à J0, J2, J9, J16 et J23).

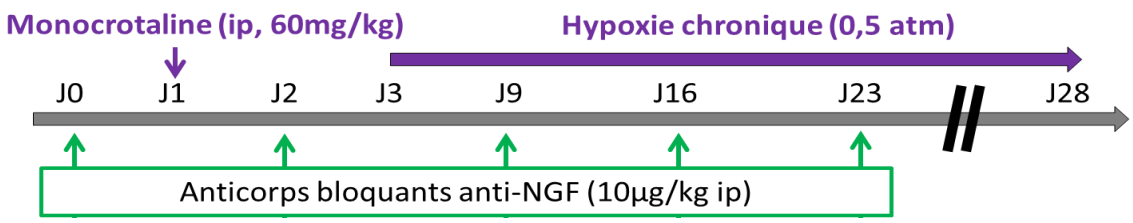


Figure 15 : Protocole mis en place lors du traitement préventif des rats par des anticorps bloquants anti-NGF

b. Mesure de la pression artérielle pulmonaire *in vivo* chez le rat anesthésié

- Matériel et méthodes :

Au bout de 4 semaines (J28), les rats ont été anesthésiés grâce à une injection de pentobarbital (0,11ml/100g), puis la pression artérielle pulmonaire a été mesurée grâce à un cathéter relié à un capteur de pression externe. Tout d'abord, ce cathéter a été inséré dans la veine jugulaire, puis remonté à travers l'oreillette droite et le ventricule droit jusque dans l'artère pulmonaire où la mesure de pression a été réalisée. Le cathéter a été retiré et réinséré une deuxième fois dans l'artère pulmonaire afin d'obtenir des mesures sur deux plages d'au minimum une minute. La pression artérielle a ensuite été moyennée sur ces deux plages de mesures.

- Résultats :

Les résultats de la Figure 16 montrent que les rats contrôles présentent une pression artérielle pulmonaire moyenne de 11,0 ± 0,6 mmHg. Les rats malades (MCT+HYPOX) ont quant à eux une pression artérielle pulmonaire de 17,3 ± 1,7 mmHg, soit une augmentation statistiquement significative de 54% ($p<0,05$). Les rats traités (MCT+HYPOX+AC) ont une pression artérielle pulmonaire de 14,1 ± 1,0 mmHg qui n'est plus statistiquement différente de celle des animaux contrôles.

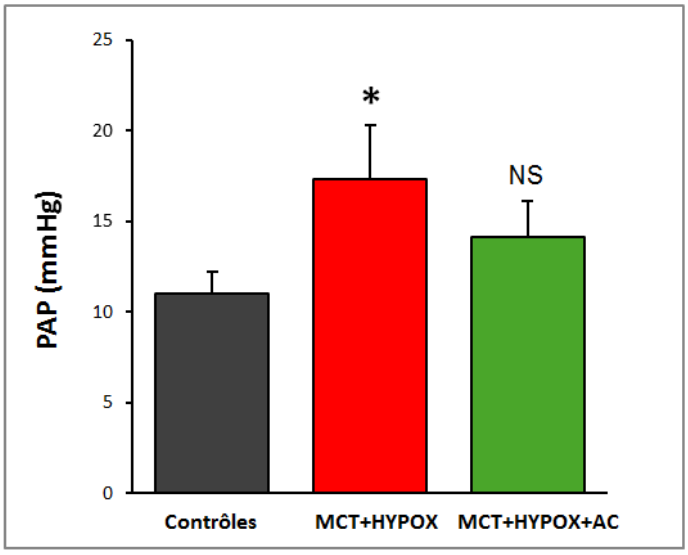


Figure 16 : Pressions artérielles pulmonaires (PAP) mesurées chez les rats contrôles, les rats malades (MCT+HYPOX) et les rats malades traités préventivement à l'aide de l'anticorps bloquant anti-NGF (MCT + HYPOX + AC) selon le protocole décrit dans le paragraphe Matériel et méthodes. Les valeurs sont exprimées en mmHg et correspondent aux moyennes ± SEM de n=5 rats par groupe. NS : non significatif et * : $p<0,05$ en comparaison aux animaux contrôles.

c) Mesure de l'hypertrophie ventriculaire droite :

- Matériel et méthodes :

Une fois que la mesure de la pression artérielle pulmonaire a été effectuée, les rats ont été sacrifiés par pneumothorax et exsanguination, et le bloc cœur-poumons a été prélevé et placé dans une solution physiologique de KREBS (118,4mM NaCl, 4,7mM KCl, 1,2mM $MgSO_2$, 4mM $NaHCO_3$, 1,3mM PO_4, 6mM Glucose, 2mM $CaCl_2$, pH 7,4). Le cœur a été isolé, les oreillettes ont été retirées du reste du cœur qui a été disséqué afin d'isoler la paroi du ventricule droit. L'hypertrophie ventriculaire droite a été évaluée par la mesure de l'indice de Fulton (IF) qui correspond au rapport poids du ventricule droit sur poids du ventricule gauche plus septum : IF = VD/ (VG+S).

- Résultats :

La Figure 17 montre que les rats contrôles ont un indice de Fulton moyen de 0,24 ± 0,02. Les rats malades ont quant à eux un indice de Fulton moyen de 0,6 ± 0,05 (soit une augmentation de 200%, $p<0,01$). Les rats traités avec l'anticorps bloquant anti-NGF ont un indice de Fulton moyen de 0,56 ± 0,06. L'hypertrophie ventriculaire droite chez les animaux traités est donc non significativement différente de celle observée chez les animaux malades, et reste toujours statistiquement significative par rapport aux animaux contrôles ($p<0,01$).

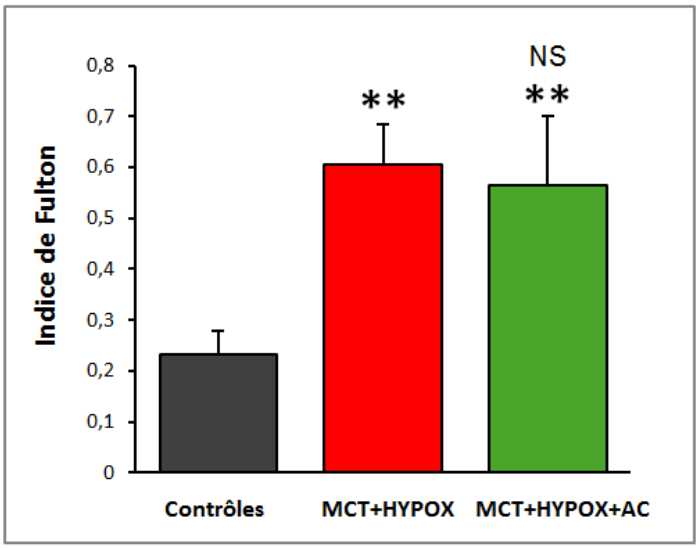


Figure 17 : Indices de Fulton [VD/ (VG+S)] mesurés chez les animaux contrôles, les rats malades (MCT+HYPOX) et les rats malades traités préventivement à l'aide de l'anticorps bloquant anti-NGF (MCT + HYPOX + AC). Les valeurs correspondent aux moyennes ± SEM de n=3-5 rats par groupe. ** : $p<0,01$ en comparaison aux animaux contrôles. NS : non significatif par rapport au groupe MCT+HYPOX.

d) Zymographie :

- Matériel et méthodes :

La zymographie consiste à réaliser une électrophorèse sur gel de polyacrylamide (10%) contenant du dodécylsulfate de sodium (SDS 0,1%) et de la gélatine (1mg/mL) afin d'identifier l'activité gélatinase d'enzymes, et ici en particulier de la MMP-2. Une fois la migration des échantillons terminée (échantillon provenant de surnageants de cultures primaires de cellules endothéliales d'artères pulmonaire humaine), le gel a subi deux lavages, sous agitation lente, dans une solution de triton X-100 (2,5%, 10min). Ceci permet de renaturer les protéines en éliminant le SDS. Après deux rinçages à l'eau distillée, le gel a été incubé pendant la nuit dans un tampon de réaction (Tris 50mM, CaCl2 5mM, ZnCl2 2µL, pH8) permettant l'activation des MMPs dans le gel. Le lendemain, le gel a été coloré au bleu de Coomassie (0,1%) puis décoloré progressivement (3x15min) dans une solution acide acétique 10% / Ethanol 25% / Eau. Un dernier lavage à l'eau pendant 24h a permis d'améliorer le contraste. Enfin une analyse densitométrique a permis de déterminer de façon quantitative l'activité enzymatique à l'aide du logiciel ImageJ.

- Résultats :

Les résultats de la Figure 18 montre que les cellules endothéliales d'artère pulmonaire humaine en culture primaire expriment de manière basale la MMP-2, qui est ensuite sécrétée dans le surnageant de culture. Après traitement pendant 24h par le NGF à 100ng/ml, on note une légère tendance à l'augmentation de l'expression et/ou de l'activité de la MMP-2 (19% d'augmentation). Les résultats présentés sont issus de n=2 contrôles et n=3 traités et nécessitent d'être complétés afin de conclure sur l'augmentation d'activité de la MMP-2 par le NGF dans ces conditions.

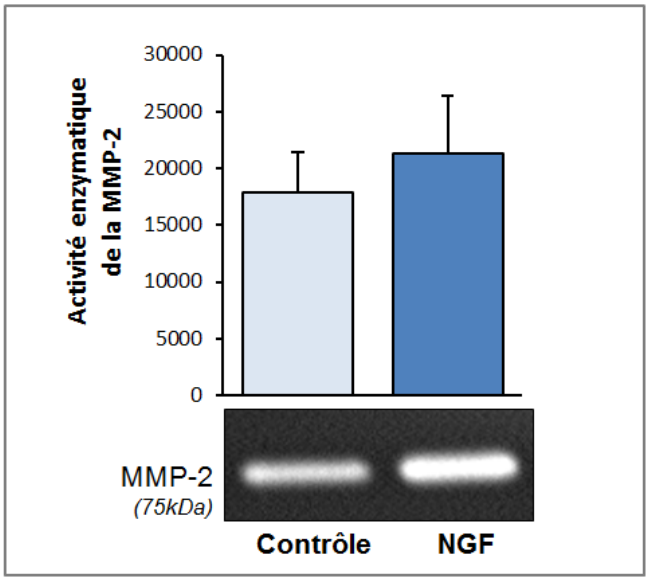


Figure 18 : Activité enzymatique de la métalloprotéinase de matrice (MMP-2) dans les surnageants de cultures de cellules endothéliales d'artère pulmonaire humaine en absence (contrôle) ou en présence de NGF (100ng/mL, 24h). Les résultats sont exprimés en intensité de gris des bandes observées sur le gel de zymographie rapportée à la concentration en protéines totales contenues dans les cellules ayant produit le surnageant étudié. Ces résultats sont présentés comme les moyennes ± écart-type de n=2 contrôles et n= 3 traités.

4) Discussion

Les résultats obtenus au cours de mon stage montrent que les anticorps bloquants anti-NGF préviennent de manière significative l'élévation de la pression artérielle pulmonaire dans ce modèle d'HTP grave chez le rat. Des études précédentes menées au laboratoire ont déjà mis en évidence un effet préventif de ces anticorps dans d'autres modèles d'HTP moins sévère chez le rat (modèle monocrotaline seule ou hypoxie chronique seule). De plus, des expériences complémentaires menées depuis au laboratoire ont montré une corrélation entre la sécrétion de NGF par les artères pulmonaires et la sévérité de l'HTP. On note cependant que les anticorps bloquants anti-NGF ne modifient pas de manière significative l'indice de Fulton dans ce modèle, contrairement à ce qui avait pu être mis précédemment en évidence au laboratoire dans les modèles plus classiques d'HTP chez le rat. Ceci suggère que la variation de cet indice de Fulton n'est pas forcément corrélée à la variation de pression artérielle pulmonaire dans ce modèle sévère chez le rat. L'ensemble de ces résultats nous confirme ainsi le rôle physiopathologique du NGF dans le développement de l'HTP, même dans un modèle d'HTP plus sévère, et ceci confirme ainsi l'intérêt de cibler le NGF dans l'HTP, quel que soit le degré de sévérité de la maladie.

Dans la deuxième partie du stage, j'ai participé à l'étude de certains mécanismes cellulaires activés par le NGF qui pourraient contribuer in vivo au développement et à la persistance de l'HTP. Plus précisément, il avait été montré précédemment au laboratoire grâce à la zymographie qu'un traitement d'artères pulmonaires humaines contrôles par le NGF (100 ng/ml pendant 24h) induisait une augmentation de l'expression et/ou de l'activité de la MMP-2. Or, l'expression et l'activité de cette enzyme sont justement augmentées dans les artères pulmonaires de patients souffrant d'HTP, et la MMP-2 participe au remodelage artériel pulmonaire dans cette maladie. L'idée était donc de travailler *in vitro* sur cellules en culture afin de déterminer dans quel(s) tissu(s) cette modulation d'expression et/ou d'activité par le NGF avait lieu. Nos résultats obtenus au cours de ce stage sont préliminaires, mais suggèrent qu'une telle modulation pourrait avoir lieu dans les cellules endothéliales d'artère pulmonaire. Les résultats sont à compléter afin de voir si la variation observée est statistiquement significative. Les mêmes expériences vont également être menées dans des cellules musculaires lisses d'artère pulmonaire humaine.

Conclusion générale

L'HTP est une maladie rare et grave se manifestant principalement par une dyspnée. Elle est caractérisée par trois mécanismes physiopathologiques que sont : l'hyperréactivité, le remodelage et l'inflammation des artères pulmonaires.

De nombreuses recherches ont pu mettre en lumière de nombreux dysfonctionnements comme par exemple une diminution de production de médiateurs vasodilatateurs (monoxyde d'azote et prostacycline) et une augmentation production de médiateurs vasoconstricteurs (endothéline et sérotonine) par les cellules endothéliales. Au niveau des cellules musculaires lisses, une altération de l'expression et de l'activité des canaux potassiques, une activation de la voie RhoA-ROCK ainsi l'excès de médiateurs vasoconstricteurs et le défaut de médiateurs vasodilatateurs sont à l'origine d'une contraction excessive.

Il existe des traitements dits conventionnels, comme par exemple des inhibiteurs calciques, des diurétiques, ou des anticoagulants, mais ceux-ci montrent peu d'efficacité et peu de patients y sont répondeurs. Puis des traitements spécifiques ont pu être développés, on peut citer la prostacycline et ses analogues, les inhibiteurs de la phosphodiestérase-5, les antagonistes de l'endothéline, et le riociguat, dernier médicament commercialisé sous autorisation temporaire d'utilisation. Bien que ces traitements améliorent considérablement le confort des patients par rapport aux traitements conventionnels, ceux-ci restent symptomatiques. L'HTP est pour le moment toujours au rang des maladies incurables.

Néanmoins, la recherche continue pour essayer de trouver des médicaments toujours plus efficaces et le moins contraignants possibles. On peut citer des agonistes des récepteurs de la prostacycline, des antagonistes des récepteurs de l'endothéline, des inhibiteurs de PDE-5, des inhibiteurs de tyrosine-kinases, des inhibiteurs de Rho-kinases, et des progéniteurs de cellules endothéliales.

De plus, de nombreuses autres cibles thérapeutiques potentielles sont en cours d'étude. Lors d'un stage d'initiation à la recherche sein du Centre de Recherche Cardio-Thoracique de Bordeaux (INSERM U1045) Université Bordeaux II, j'ai pu participer aux recherches effectuées sur l'une d'elles, le facteur de croissance des nerfs (NGF). Les résultats obtenus sur ces différentes cibles semblent prometteurs et pourraient permettre à terme d'ouvrir de nouvelles perspectives thérapeutiques dans le traitement de l'hypertension pulmonaire.

Bibliographie

- **Articles scientifiques**

Adnot S., B. Raffestin et A.T. Dinh-Xuan, NO et hypertension artérielle pulmonaire, *Médecine/Sciences*, 1997, 13 : 820-9.

ANSM (Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé), Autorisation temporaire d'utilisation dite de cohorte protocole d'utilisation thérapeutique et de recueil d'informations Riociguat 0,5 mg, 1 mg, 1,5 mg, 2 mg, 2,5 mg comprimés pelliculés, 2014.

Barreto A.C., N.Y. Maeda, R.P.S. Soares, C. Cícero et A.A. Lopes, Rosuvastatin and vascular dysfunction markers in pulmonary arterial hypertension: a placebo-controlled study, *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 2008, 41: 657-663.

Barst Robyn J., Michael McGoon, Vallerie McLaughlin, Victor Tapson, Ronald Oudiz, Shelley Shapiro, Ivan M. Robbins, Richard Channick, David Badesch, Barry K. Rayburn, Robin Flinchbaugh, Jeff Sigman, Carl Arneson, et Roger Jeffs, Beraprost Therapy for Pulmonary Arterial Hypertension, *Journal of the American College of Cardiology*, 2003, 41: 2119–25.

Barst Robyn J., Michael McGoon, Adam Torbicki, Olivier Sitbon, Michael J. Krowka, Horst Olschewski, et Sean Gaine, Diagnosis and Differential Assessment of Pulmonary Arterial Hypertension, *Journal of the American College of Cardiology*, 2004, 43: 40–47.

Blaysat Gérard, Hypertension artérielle pulmonaire de l'enfant, *Cardiovascular Diseases Supplements*, 2010, 2: 126-131.

Byers Heather M., John M. Dagle, Jonathan M. Klein, Kelli K. Ryckman, Erin L. McDonald, Jeffrey C. Murray and Kristi S. Borowski, Variations in CRHR1 are associated with persistent pulmonary hypertension of the newborn, *Pediatric Research*, 2012, 71: 162-167.

Chaouat A, F Coulet, C Favre, G Simonneau, E Weitzenblum, F Soubrier, et M Humbert, Endoglin germline mutation in a patient with hereditary haemorrhagic telangiectasia and dexfenfluramine associated pulmonary arterial hypertension, *Thorax* 2004, 59: 446–448.

Chaouat Ari, Laurent Savale, Christos Chouaid, Ly Tu, Benjamin, Sztrymf, Matthieu Canuet, Bernard Maitre, Bruno Housset, Christian Brandt, Philippe Le Corvoisier, Emmanuel Weitzenblum, Saadia Eddahibi et Serge Adnot, Role for Interleukin-6 in COPD-Related Pulmonary Hypertension, *Chest*, 2009,136: 678-687.

Chizzolini Carlo, Elena Raschi, Roger Rezzonico, Cinzia Testoni, Roberto Mallone, Armando Gabrielli, Andrea Facchini, Nicoletta Del Papa, Maria Orietta Borghi, Jean Michel Dayer, and Pier Luigi Meroni, Autoantibodies to Fibroblasts Induce a Proadhesive and Proinflammatory Fibroblast Phenotype in Patients With Systemic Sclerosis, *Arthritis & rheumatism*, 2002, 46: 1602–1613.

Christman BW, McPherson CD, Newman JH, King GA, Bernard GR, Groves BM et Loyd JE, An imbalance between the excretion of thromboxane and prostacyclin metabolites in pulmonary hypertension. *N Engl J Med* 1992, 327:70-5.

CEP (Collège des Enseignants de Pneumologie), Hypertension artérielle pulmonaire de l'enfant et de l'adulte, 2013

Dao P., D. Montani, S. Duong-Quy, et A.T. Dinh-Xuan, Signalisation cellulaire et physiopathologie de l'hypertension artérielle pulmonaire, *Revue des Maladies Respiratoires*, 2006, 23: 3S75-3S83.

Davie Neil, Stephen J. Haleen, Paul D. Upton, Julia M. Polak, Magdi H. Yacoub, Nicholas W. Morrell, et John Wharton, ETA and ETB Receptors Modulate the Proliferation of Human Pulmonary Artery Smooth Muscle Cells, *Am J Respir Crit Care Med*, 2002, 165: 398–405.

Degano B., l'hypertension artérielle pulmonaire des connectivite, Rev Mal Respir, 2006; 23:746-8.

Dhaliwal Jasdeep S., Adeleke M. Badejo Jr., David B. Casey, Subramanyam N. Murthy, et Philip J. Kadowitz, Analysis of pulmonary vasodilator responses to SB-772077-B [4-(7-((3-amino-1-pyrrolidinyl)carbonyl)-1-ethyl-1H-imidazo(4,5-c)pyridin-2-yl)-1,2,5-oxadiazol-3-amine], a novel aminofurazan-based Rho kinase inhibitor. *J Pharmacol Exp Ther*,2009, 330: 334–341.

Diller Gerhard-Paul, Sven van Eijl, Darlington O. Okonko, Luke S. Howard, Omar Ali, Thomas Thum, Stephen J. Wort, Elisabeth Bédard, J. Simon R. Gibbs, Johann Bauersachs, Adrian J. Hobbs, Martin R. Wilkins, Michael A. Gatzoulis et John Wharton, Circulating Endothelial Progenitor Cells in Patients With Eisenmenger Syndrome and Idiopathic Pulmonary Arterial Hypertension, *Circulation*, 2008, 117: 3020-3030.

Dinh-Xuan A-T., Endothéline-1 et physiopathologie de l'hypertension artérielle pulmonaire, *Revue des Maladies Respiratoires*, 2003, 20: 6S121-6S123.

Dorfmüller Peter, Véronique Zarka, Ingrid Durand-gasselin, Gianpaola Monti, Karl Balabanian, Gilles Garcia, Frédérique Capron, Aurore Coulomb-lherminé, Anne Marfaing-koka, Gérald Simonneau, Dominique Emilie, and Marc Humbert, Chemokine RANTES in Severe Pulmonary Arterial Hypertension, *Am J Respir Crit Care Med*, 2002, 165: 534–539.

Duong-Quy S., Hypertension artérielle pulmonaire, *Revue des Maladies Respiratoires*, 2010, 2: 27-37.

Duong-Quy S., S. Rivière, Y. Bei, C. Duong-Ngo, N.N. Le-Dong, T. Hua-Huy, et A.T. Dinh-Xuan, Hypertension pulmonaire : de la physiopathologie moléculaire aux anomalies hémodynamiques, Revue des Maladies Respiratoires, 2012, 29: 956-970.

Eddahibi S., M.P. D'Ortho, S. Adnot, Physiopathologie du remaniement vasculaire pulmonaire au cours de l'hypertension artérielle pulmonaire, *Réanimation*, 2003: 12, 91-101.

Eddahibi S., S. Adnot, Sérotonine et Hypertension artérielle pulmonaire, *Revue des Maladies Respiratoires*, 2006, 23: 4S45-4S51.

El Chami H., et P.M. Hassoun, Immune and Inflammatory Mechanisms in Pulmonary Arterial Hypertension, *Prog Cardiovasc Dis*., 2012, 55: 218-228.

Freund-Michel V., B. Muller, et N. Frossard, Expression and role of the TrkA receptor in pulmonary inflammatory diseases, Inflammatory Diseases. Diseases- A Modern Perspective 2011; Dr. Amit Nagal (Ed), ISBN: 978-953-307-444-3, InTech.

Freund-Michel V., N. Frossard, The nerve growth factor and its receptors in airway inflammatory diseases, *Pharmacology & Therapeutics*, 2008, 117: 52-76.

Freud-Michel V., Le facteur de croissance des nerfs NGF dans l'inflammation et le remodelage bronchique dans l'asthme, thèse pour obtenir le grade de docteur en Sciences Pharmaceutiques, spécialité Pharmacologie cellulaire et moléculaire, Université Louis Pasteur, Strasbourg, 2006, 190.

Galie N., Torbicki A., Barst R., Dartevelle P., Haworth S., Higenbottom T., Olschewski H., Peacock A., Pietra G., Rubin L.J., et Simonneau G., Guidelines on diagnosis and treatment of pulmonary arterial hypertension. The Task Force on Diagnosis and Treatment of Pulmonary Arterial Hypertension of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J*, 2004, 25: 2243-78.

Ghofrani Hossein A., Nicholas W. Morrell, Marius M. Hoeper, Horst Olschewski, Andrew J. Peacock, Robyn J. Barst, Shelley Shapiro, Heiko Golpon, Mark Toshner, Friedrich Grimminger, et Steve Pascoe, Imatinib in Pulmonary Arterial Hypertension Patients with Inadequate Response to Established Therapy, *American journal of respiratory and critical care medicine*, 2010, 182: 1171-7

Giaid A, Saleh D., Reduced expression of endothelial nitric oxide synthase in the lungs of patients with pulmonary hypertension. *N Engl J Med*, 1995, 333: 214–21.

Girerd Barbara, David Montani, Florence Coulet, Benjamin Sztrymf, Azzeddine Yaici, Xavier Jaïs, David Tregouet, Abilio Reis, Valérie Drouin-Garraud, Alain Fraisse, Olivier Sitbon, Dermot S. O'Callaghan, Gérald Simonneau, Florent Soubrier, and Marc Humbert, Clinical Outcomes of Pulmonary Arterial Hypertension in Patients Carrying an ACVRL1 (ALK1) Mutation, *American journal of respiratory and critical care medicine*, 2010, 181: 851-61.

Haberl Ines, Klemens Frei, Reinhard Ramsebner, Daniel Doberer, Ventzislav Petkov, Sulaima Albinni, Irene Lang, Trevor Lucas and Wilhelm Mosgoeller, Vasoactive intestinal peptide gene alterations in patients with idiopathic pulmonary arterial hypertension, *European Journal of Human Genetics*, 2007, 15: 18–22.

Hamidi, S. A., Lin, R. Z., Szema, A.M., Lyubsky, S., Jiang, Y. P., & Said, S. I., VIP and endothelin receptor antagonist: an effective combination against experimental pulmonary arterial hypertension, *Respir Res*, 2011, 12:141.

Harrison R E, J A Flanagan, M Sankelo, S A Abdalla, J Rowell, R D Machado, C G Elliott, I M Robbins, H Olschewski, V McLaughlin, E Gruenig, F Kermeen, T Laitinen, N W Morrell, R C Trembath, Molecular and functional analysis identifies ALK-1 as the predominant cause of pulmonary hypertension related to hereditary haemorrhagic telangiectasia, *J Med Genet*, 2003, 40: 865–871.

HAS (Haute Autorité de Santé), Hypertension artérielle pulmonaire Protocole nationale de diagnostic et de soins pour une maladie rare, 2007.

Hennette A., Présentation et nouvelles approches thérapeutiques de l'Hypertension Artérielle Pulmonaire, Thèse pour obtenir le grade de docteur en Pharmacie, Faculté de Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille, 2005, 138.

Hoeper Marius M, Michael J Krowka, Christian P Strassburg, Portopulmonary hypertension and hepatopulmonary syndrome, *THE LANCET*, 2004, 20: 8072-81.

Hoeper Marius M., Robyn J. Barst, Robert C. Bourge, Jeremy Feldman, Adaani E. Frost, Nazzareno Galié, Miguel Angel Gómez-Sánchez, Friedrich Grimminger, Ekkehard Grünig, Paul M. Hassoun, Nicholas W. Morrell, Andrew J. Peacock, Toru Satoh, Gérald Simonneau, Victor F. Tapson, Fernando Torres, David Lawrence, Deborah A. Quinn et Hossein-Ardeschir Ghofrani, Imatinib Mesylate as Add-on Therapy for Pulmonary Arterial Hypertension: Results of the Randomized IMPRES Study, *Circulation*, 2013, 127: 1128-1138.

Humbert Marc, Olivier Sitbon, Ari Chaouat, Michèle Bertocchi, Gilbert Habib, Virginie Gressin, Azzedine Yaici, Emmanuel Weitzenblum, Jean-François Cordier, François Chabot, Claire Dromer, Christophe Pison, Martine Reynaud-Gaubert, Alain Haloun, Marcel Laurent, Eric Hachulla, et Gérald Simonneau, Pulmonary Arterial Hypertension in France Results from a National Registry, *American journal of respiratory and critical care medicine*, 2006, 173: 1023-1030.

Iglarz Marc, Christoph Binkert, Keith Morrison, Walter Fischli, John Gatfield, Alexander Treiber, Thomas Weller, Martin H. Bolli, Christoph Boss, Stephan Buchmann, Bruno Capeleto, Patrick Hess, Changbin Qiu, et Martine Clozel, Pharmacology of Macitentan, an Orally Active Tissue-Targeting Dual Endothelin Receptor Antagonist, *The journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 2008, 327:736–745.

Jais Xavier, David Launay, Azzedine Yaici, Jérôme Le Pavec, Colas Tchérakian, Olivier Sitbon, Gérald Simonneau, et Marc Humbert, Immunosuppressive Therapy in Lupus- and Mixed Connective Tissue Disease–Associated Pulmonary Arterial Hypertension A Retrospective Analysis of Twenty-Three Cases, *Arthritis & rheumatism*, 2008, 58: 521–531.

Jaïs Xavier, Andrea M. D'Armini, Pavel Jansa, Adam Torbicki, Marion Delcroix, Hossein A. Ghofrani, Marius M. Hoeper, Irene M. Lang, Eckhard Mayer, Joanna Pepke-Zaba, Loïc Perchenet, Adele Morganti, Gérald Simonneau, et Lewis J. Rubin, for the BENEFiT Study Groupe, Bosentan for Treatment of Inoperable Chronic Thromboembolic Pulmonary Hypertension BENEFiT (Bosentan Effects in iNopErable Forms of chronIc Thromboembolic pulmonary hypertension), a Randomized, Placebo-Controlled Trial, *Journal of the American College of Cardiology*, 2008, 52: 2127–34.

Jing Zhi-Cheng, Zai-Xin Yu, Jie-Yan Shen, Bing-Xiang Wu, Kai-Feng Xu, Xian-Yang Zhu, Lei Pan, Zhuo-Li Zhan, Xue-Qin Liu, Yu-Shun Zhang, Xin Jiang, et Nazzareno Galiè, Vardenafil in Pulmonary Arterial Hypertension A Randomized, Double-blind, Placebo-controlled Study, *American journal of respiratory and critical care medicine*, 2011, 183: 1723-9.

Kawut Steven M., Emilia Bagiella, David J. Lederer, Daichi Shimbo, Evelyn M. Horn, Kari E. Roberts, Nicholas S. Hill, R. Graham Barr, Erika B. Rosenzweig, Wendy Post, Russell P. Tracy, Harold I. Palevsky, Paul M. Hassoun, Reda E. Girgis, A Randomized Clinical Trial of Aspirin and Simvastatin for Pulmonary Arterial Hypertension: ASA-STAT, *Circulation*, 2011, 123: 2985–2993.

Kerkela Risto, Luanda Grazette, Rinat Yacobi, Cezar Iliescu, Richard Patten, Cara Beahm, Brian Walters, Sergei Shevtsov, Stéphanie Pesant, Fred J Clubb, Anthony Rosenzweig, Robert N Salomon, Richard A Van Etten, Joseph Alroy, Jean-Bernard Durand et Thomas Force, Cardiotoxicity of the cancer therapeutic agent imatinib mesylate, *Nature medicine*, 2006, 12: 908-16.

Kim N.H., Riociguat: an upcoming therapy in chronic thromboembolic pulmonary hypertension?, *Eur Respir Rev* 2010, 19: 68–71.

Klein Martina, Ralph T. Schermuly, Peter Ellinghaus, Hendrik Milting, Bernd Riedl, Sevdalina Nikolova, Soni S. Pullamsetti, Norbert Weissmann, Eva Dony, Rajkumar Savai, Hossein A. Ghofrani, Friedrich Grimminger, Andreas E. Busch et Stefan Schäfer, Combined Tyrosine and Serine/Threonine Kinase Inhibition by Sorafenib Prevents Progression of Experimental Pulmonary Hypertension and Myocardial Remodeling, *Circulation*, 2008, 118: 2081-2090.

Kuwana Masataka, Hirochi Watanabe, Nobushige Matsuoka, Naonobu Sugiyama, Pulmonary arterial hypertension associated with connective tissue disease : meta-analysis of clinical trials, *BMJ Open*, 2013; 3: e003113.

Kuwano Keiichi, Asami Hashino, Tetsuo Asaki, Taisuke Hamamoto, Tetsuhiro Yamada, Kaori Okubo, et Kenji Kuwabara, 2-{4-[(5,6-Diphenylpyrazin-2-yl)(isopropyl)amino]butoxy}-N-(methylsulfonyl)acetamide (NS-304), an Orally Available and Long-Acting Prostacyclin Receptor Agonist Prodrug, *The journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 2007, 322: 1181–1188.

Kuwano Keiichi, Asami Hashino, Kumiko Noda, Keiji Kosugi, et Kenji Kuwabara, A Long-Acting and Highly Selective Prostacyclin Receptor Agonist Prodrug, 2-{4-[(5,6-Diphenylpyrazin-2-yl)(isopropyl)amino]butoxy}-N-(methylsulfonyl)acetamide (NS-304), Ameliorates Rat Pulmonary Hypertension with Unique Relaxant Responses of Its Active Form, {4-[(5,6-Diphenylpyrazin-2-yl)(isopropyl)amino]butoxy}acetic Acid (MRE-269), on Rat Pulmonary Artery, *The journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 2008, 326: 691–699.

Lapa Monica, Bruno Dias, Carlos Jardim, Caio J.C. Fernandes, Paulo M.M. Dourado, Magda Figueiredo, Alberto Farias, Jeane Tsutsui, Mario Terra-Filho, Marc Humbert et Rogerio Souza, Cardiopulmonary Manifestations of Hepatosplenic Schistosomiasis, *Circulation*. 2009, 119: 1518-1523.

Lee Tsung-Ming, Chien-Chang Chen, Hsiu-Nien Shen et Nen-Chung Chang, Effects of pravastatin on functional capacity in patients with chronic obstructive pulmonary disease and pulmonary hypertension, *Clinical Science*, 2009, 116: 497–505.

Leuchte H. H., Baezner, C., Baumgartner, R. A., Bevec, D., Bacher, G., Neurohr, C., . Inhalation of vasoactive intestinal peptide in pulmonary hypertension. *Eur Respir J*, 2008, 32: 1289–1294.

Lüscher Thomas F. et Matthias Barton, Endothelins and Endothelin Receptor Antagonists: Therapeutic Considerations for a Novel Class of Cardiovascular Drugs, *Circulation*. 2000, 102: 2434-2440.

Machado Rajiv D., Oliver Eickelberg, C. Gregory Elliott, Mark W. Geraci, Masayuki Hanaoka, James E. Loyd, John H. Newman, John A. Phillips III, Florent Soubrier, Richard C. Trembath, Wendy K. Chung, Genetics and Genomics of Pulmonary Arterial Hypertension, *Journal of the American College of Cardiology*, 2009, 62: S32-42.

McLaughlin Vallerie V., Alicia Shillington et Stuart Rich, Survival in Primary Pulmonary Hypertension: The Impact of Epoprostenol Therapy, *Circulation*. 2002, 106: 1477-1482.

Mehta NJ, Khan IA, Mehta RN, Sepkowitz DA. HIV-related pulmonary hypertension: analytic review of 131 cases. *Chest* 2000, 118: 1133– 41.

Merklinger Sandra L., Peter L. Jones, Eliana C. Martinez et Marlene Rabinovitch, Epidermal Growth Factor Receptor Blockade Mediates Smooth Muscle Cell Apoptosis and Improves Survival in Rats With Pulmonary Hypertension, *Circulation*. 2005, 112: 423-431.

Miyamoto Shoichi, Noritoshi Nagaya, Toru Satoh, Shingo Kyotani, Fumio Sakamaki, Masatoshi Fujita, Norifumi Nakanishi, et Kunio Miyatake, Clinical Correlates and Prognostic Significance of Six-minute Walk Test in Patients with Primary Pulmonary Hypertension Comparison with Cardiopulmonary Exercise Testing, *American journal of respiratory and critical care medicine*, 2000, 161: 487-92.

Montani D., X. Jaïs, O. Sitbon, F. Capron, G. Simonneau et M. Humbert, Hypertension artérielle pulmonaire, *Revue des Maladies Respiratoires*, 2005, 22: 651-66.

Montani D., L.C. Price, P. Dorfmuller, L. Achouh, X. Jaïs, A. Yaïci, O. Sitbon, D. Musset, G. Simonneau et M. Humbert, Pulmonary veno-occlusive disease, *Eur Respir J*, 2009, 33: 189-200.

Montani D., C. Guignabert, F. Perros et M. Humbert, Physiopathologie de l'hypertension artérielle pulmonaire : des progrès et des attentes, *Revue des Maladies Respiratoires*, 2012, 29: 950-952.

Montani David, Sven Günther, Peter Dorfmüller, Frédéric Perros, Barbara Girerd, Gilles Garcia, Xavier Jaïs, Laurent Savale, Elise Artaud-Macari, Laura C Price, Marc Humbert, Gérald Simonneau et Olivier Sitbon, Pulmonary artérial hypertension, *Orphanet journal of rare diseases*, 2013, 8 :97.

Montani David, Marie-Camille Chaumais, Christophe Guignabert, Sven Günther, Barbara Girerd, Xavier Jaïs, Vincent Algalarrondo, Laura C. Price, Laurent Savale, Olivier Sitbon, Gérald Simonneau, Marc Humbert, Targeted therapies in pulmonary arterial hypertension, *Pharmacology & Therapeutics*, 2014, 141: 172-191.

Moreno-Vinasco Liliana, Mardi Gomberg-Maitland, Michael L. Maitland, Ankit A. Desai, Patrick A. Singleton, Saad Sammani, Lee Sam, Yang Liu, Aliya N. Husain, Roberto M. Lang, Mark J. Ratain, Yves A. Lussier, et Joe G. N. Garcia, Genomic assessment of a multikinase inhibitor, sorafenib, in a rodent model of pulmonary hypertension, *the American Physiological Society*, 2008, 33: 278-91.

Mouchaers K.T.B., I. Schalij, M.A. de Boer, P.E. Postmus, V.W.M. van Hinsbergh, G.P. van Nieuw Amerongen, A. Vonk Noordegraaf et W.J. van der Laarse, Fasudil reduces monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension: comparison with bosentan and sildenafil, *Eur Respir J*, 2010, 36: 800–807.

Mukerjee D, D St George, B Coleiro, C Knight, C P Denton, J Davar, C M Black, J G Coghlan, Prevalence and outcome in systemic sclerosis associated pulmonary arterial hypertension: application of a registry approach, *Ann Rheum Dis*, 2003, 62: 1088-1093.

Nagaoka Tetsutaro, Karen A. Fagan, Sarah A. Gebb, Kenneth G. Morris, Tsutomu Suzuki, Hiroaki Shimokawa, Ivan F. McMurtry, et Masahiko Oka, Inhaled Rho Kinase Inhibitors Are Potent and SelectiveVasodilators in Rat Pulmonary Hypertension, *Am J Respir Crit Care Med*, 2005, 171: 494–499.

Olschewski Horst, Gerald Simonneau, Nazzareno Galiè, Timothy Higenbottam, Robert Naeije, Lewis J. Rubin, Sylvia Nikkho, Rudolf Speich, Marius M. Hoeper, Jürgen Behr, Jörg Winkler, Olivier Sitbon, Wladimir Popov, H. Ardeschir Ghofrani, Alessandra Manes, David G. Kiely, Ralph Ewert, Andreas Meyer, Paul A. Corris, Marion Delcroix, Miguel Gomez-Sanchez, Harald Siedentop, et Werner Seeger, Inhaled Iloprost for severe pulmonary hypertension, *N Engl J Med*, 2002, 347: 322-329.

Paciocco G., F.J. Martinez, E. Bossone, E. Pielsticker, B. Gillespie, M. Rubenfire, Oxygen desaturation on the six-minute walk test and mortality in untreated primary pulmonary hypertension, *Eur Respir J*, 2001, 17: 647-652.

Perros F., M. Humbert, Bases cellulaires et moléculaires de l'hypertension artérielle pulmonaire, *Annales de Cardiologie et d'Angéiologie*, 2007, 56: S93-S105.

Perros F., P. Dorfmüller, R. Souza, I. Durand-Gasselin, S. Mussot, M. Mazmanian, P. Hervé, D. Emilie, G. Simonneau et M. Humbert, Dendritic cell recruitment in lesions of human and experimental pulmonary hypertension, *Eur Respir J* 2007, 29: 462–468.

Perros F., P. Dorfmüller, R. Souza, I. Durand-Gasselin, V. Godot, F. Capel, S. Adnot, S. Eddahibi, M. Mazmanian, E. Fadel, P. Hervé, G. Simonneau, D. Emilie et M. Humbert, Fractalkine-induced smooth muscle cell proliferation in pulmonary hypertension, *Eur Respir J* 2007, 29: 937–943.

Petkov Ventzislav, Wilhelm Mosgoeller, Rolf Ziesche, Markus Raderer, Leopold Stiebellehner, Karin Vonbank, Georg-Christian Funk, Gerhard Hamilton, Clemens Novotny, Bernhard Burian, et Lutz-Henning Block, Vasoactive intestinal peptide as a new drug for treatment of primary pulmonary hypertension, *J. Clin. Invest.*, 2003, 111: 1339–1346.

Pietra Giuseppe G., Frederique Capron, Susan Stewart, Ornella Leone, Marc Humbert, Ivan M. Robbins, Lynne M. Reid, R. M. Tuder, Pathologic Assessment of Vasculopathies in Pulmonary Hypertension, *Journal of the American College of Cardiology*, 2004, 43: 25S–32S.

Pozeg Zlatko I. , Evangelos D. Michelakis,M. Sean McMurtry, Bernard Thébaud, Xi-Chen Wu, Jason R.B. Dyck, Kyoko Hashimoto, Shaohua Wang, Rohit Moudgil, Gwyneth Harry, Richard Sultanian, Arvind Koshal, Stephen L. Archer, In vivo gene transfer of the O2-sensitive potassium channel Kv1.5 reduces pulmonary hypertension and restores hypoxic pulmonary vasoconstriction in chronically hypoxic rats. *Circulation*, 2003, 107: 2037-44.

Rosenzweig Erika B., Jane H. Morse, James A. Knowles, Kiran K. Chada, Amar M. Khan, Kari E. Roberts, Jude J. McElroy, Nicole K. Juskiw, Nicole C. Mallory,Stuart Rich, Beverly Diamond, et Robyn J. Barst, Clinical Implications of Determining BMPR2 Mutation Status in a Large Cohort of Children and Adults With Pulmonary Arterial Hypertension, *The Journal of Heart and Lung Transplantation*, 2008, 27: 668-74.

Rubens Christoph, Ralf Ewert, Michael Halank, Roland Wensel, Hans-Dieter Orzechowski, Heinz-Peter Schultheiss, et Gert Hoeffken, Big Endothelin-1 and Endothelin-1 Plasma Levels Are Correlated With the Severity of Primary Pulmonary Hypertension, *CHEST* 2001, 120:1562-1569.

Rubin Lewis J., David B. Badesch, Robyn J. Barst, Nazzareno Galiè, Carol M. Black, Anne Keogh, Tomas Pulido, Adaani Frost, Sébastien Roux, Isabelle Leconte, Michael Landzberg, et Gérald Simonneau, Bosentan therapy for pulmonary arterial hypertension, *N Engl J Med*, 2002, 346: 896-903.

Said Sami I., Sayyed A. Hamidi, Kathleen G. Dickman, Anthony M. Szema, Sergey Lyubsky, Richard Z. Lin, Ya-Ping Jiang, John J. Chen, James A. Waschek et Smadar Kort, Moderate Pulmonary Arterial Hypertension in Male Mice Lacking the Vasoactive Intestinal Peptide Gene, *Circulation*. 2007, 115: 1260-1268.

Sanchez O., Physiopathologie de l'hypertension artérielle pulmonaire : rôle des facteurs vaso-actifs et de l'inflammation, thèse pour obtenir le grade de Docteur en Sciences de la Vie et de la Santé, Université de Paris Est, 2010, 134.

Sastry B. K. S., DM, C. Narasimhan, DM, N. Krishna Reddy, DM, B. Soma Raju, Clinical Efficacy of Sildenafil in Primary Pulmonary Hypertension A Randomized, Placebo-Controlled, Double-Blind, Crossover Study, *Journal of the American College of Cardiology*, 2004, 43: 1149–53.

Selimovic N., C-H. Bergh, B. Andersson, E. Sakiniene, H. Carlsten et B. Rundqvist, Growth factors and interleukin-6 across the lung circulation in pulmonary hypertension, *Eur Respir J* 2009, 34: 662–668.

Semenza GL., Involvement of hypoxia-inducible factor 1 in pulmonary pathophysiology. *Chest* 2005, 128: 592S–594S.

Seo B., B.S. Oemar, R. Siebenmann, L. von Segesser et T.F. Lüscher, Both ETA and ETB receptors mediate contraction to endothelin-1 in human blood vessels, Circulation, 1994, 89: 1203-1208.

Sidharta Patricia N. & Paul L. M. van Giersbergen & Atef Halabi & Jasper Dingemanse, Macitentan: entry-into-humans study with a new endothelin receptor antagonist, *Eur J Clin Pharmacol*, 2011, 67: 977–984.

Simonneau Gerald, Robyn J. Barst, Nazzareno Galie, Robert Naeije, Stuart Rich, Robert C. Bourge, Anne Keogh, Ronald Oudiz, Adaani Frost, Shelmer D. Blackburn, James W. Crow, et Lewis J. Rubin, Continuous Subcutaneous Infusion of Treprostinil, a Prostacyclin Analogue, in Patients with Pulmonary Arterial Hypertension A Double-blind, Randomized, Placebo-controlled Trial, *American journal of respiratory and critical care medicine*, 2002, 165: 800-804.

Simonneau Gerald, Nazzareno Galiè, Lewis J. Rubin, David Langleben, Werner Seeger, Guido Domenighetti, Simon Gibbs, Didier Lebrec, Rudolf Speich, Maurice Beghetti, Stuart Rich, Alfred Fishman, Clinical Classification of Pulmonary Hypertension, *Journal of the American College of Cardiology*, 2004, 43: 5S–12S.

Simonneau Gérald, Ivan M. Robbins, Maurice Beghetti, Richard N. Channick, Marion Delcroix, Christopher P. Denton, MD, C. Gregory Elliott, Sean P. Gaine, Mark T. Gladwin, Zhi-Cheng Jing, Michael J. Krowka, David Langleben, Norifumi Nakanishi, Rogério Souza, Updated Clinical Classification of Pulmonary Hypertension, *Journal of the American College of Cardiology*, 2009, 54: S43-54.

Simonneau Gérald, Adam Torbicki, Marius M. Hoeper, Marion Delcroix, Kristof Karlocai, Nazzareno Galiè, Bruno Degano, Diana Bonderman, Marcin Kurzyna, Michela Efficace, Ruben Giorgino et Irene M. Lang, Selexipag: an oral, selective prostacyclin receptor agonist for the treatment of pulmonary arterial hypertension, *Eur Respir J*, 2012; 40: 874–880.

Simonneau Gerald, Michael A. Gatzoulis, Ian Adatia, David Celermajer, Chris Denton, Ardeschir Ghofrani, Miguel Angel Gomez Sanchez, R. Krishna Kumar, Michael Landzberg, Roberto F. Machado, Horst Olschewski, Ivan M. Robbins, Rogiero Souza, Updated Clinical Classification of Pulmonary Hypertension, *Journal of the American College of Cardiology*, 2013, 62: D34-41.

Sitbon Olivier, Marc Humbert, Hilario Nunes, Florence Parent, Gilles Garcia, Philippe Hervé, Maurizio Rainisio, Gérald Simonneau, Long-Term Intravenous Epoprostenol Infusion in Primary Pulmonary Hypertension, Prognostic Factors and Survival, *Journal of the American College of Cardiology*, 2002, 40: 780–8.

Steiner M. Kathryn, Olga L. Syrkina, Narasaish Kolliputi, Eugene J. Mark, Charles A. Hales and Aaron B. Waxman, Interleukin-6 overexpression induces pulmonary hypertension *Circ Res.* 2009, 104: 236-244.

Vital Durand D., C. Le Jeunne, Dorosz, *Guide pratique des médicaments 33ème édition*, 2014

Vogel M., F. Berger, A. Kramer, V. Alexi-Meshkishvili, P.E. Lange, Incidence of secondary pulmonary hypertension in adults with atrial septal or sinus venosus defects, *Heart*, 1999, 82: 30-33.

Wilkins Martin R., Omar Ali, William Bradlow, John Wharton, Anne Taegtmeyer, Christopher J. Rhodes, Hossein A. Ghofrani, Luke Howard, Petros Nihoyannopoulos, Raad H. Mohiaddin, and J. Simon R. Gibbs; for the Simvastatin Pulmonary Hypertension Trial (SiPHT) Study Group, Simvastatin as a Treatment for Pulmonary Hypertension Trial, *American journal of respiratory and critical care medicine*, 2010, 181: 1106-1113.

Yuan Jason Xiao-Jian , Ann M. Aldinger, Magdalena Juhaszova, Jian Wang, John V. Conte Jr, Sean P. Gaine, Jonathan B. Orens, Lewis J. Rubin, Dysfunctional voltage-gated K+ channels in pulmonary artery smooth muscle cells of patients with primary pulmonary hypertension. *Circulation* 1998, 98: 1400-6.

Zhao Yidan D., David W. Courtman, Yupu Deng, Lakshmi Kugathasan, Qiuwang Zhang et Duncan J. Stewart, Rescue of Monocrotaline-Induced Pulmonary Arterial Hypertension Using Bone Marrow- Derived Endothelial-Like Progenitor Cells: Efficacy of Combined Cell and eNOS Gene Therapy in Established Disease, *Circ Res.* 2005, 96: 442-450.

- **Autres sources**

Dr **Dubois,** Cours Pharmacologie, 3ème année de pharmacie, « Transmissions adrénergiques ».

http://www.htapfrance.com/je-m-informe/default.asp (consulté le 20/10/2014)

http://www.medecine.ups-tlse.fr/DCEM2/module8/item112/indexI1.htm (consulté le 26/10/2014)

http://www.2minutemedicine.com/the-chest-1-patent-1-riociguat-significantly-improves-exercise-capacity-in-pulmonary-hypertension-patients/ (consulté le 26/10/2014)

http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Education_AboutRareDiseases.php?lng=FR (consulté le 20/10/2014)

SERMENT DE GALIEN

E*n présence des Maîtres de la Faculté, des Conseillers de l'Ordre des Pharmaciens et de mes Condisciples, je jure:*

D*'honorer ceux qui m'ont instruite dans les préceptes de mon art et leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;*

D*'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;*

D*e ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.*

E*n aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.*

Q*ue les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.*

Q*ue je sois couverte d'opprobre et méprisée de mes confrères si j'y manque.*