

50376
1982
263

50376
1982
263

N° d'ordre : 1006

THÈSE

Présentée à

L'UNIVERSITÉ DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE LILLE

POUR OBTENIR LE TITRE DE

DOCTEUR EN PHYSIOLOGIE

NERVEUSE ET MUSCULAIRE

(3ème cycle)

par

Patrick DURIEZ

MODÈLE D'ISCHÉMIE MYOCARDIQUE IN VITRO ÉTUDE DE SUBSTANCES PROPOSÉES COMME «CARDIOPROTECTRICES»



Soutenue le 26 Novembre 1982 devant la Commission d'Examen

Président	M. M. DURCHON	Professeur à l'université de Lille I
Rapporteur	M. B. DUPUIS	Professeur Agrégé à l'Université de Lille II Faculté de Médecine
Examineurs	M. E. CORABOEUF	Professeur à l'Université de Paris XI Centre d'Orsay
	M. J. de LEIRIS	Professeur à l'Université Scientifique et Médicale de Grenoble
	M. P. GUILBAULT	Professeur à l'Université de Lille I

Travail réalisé au Laboratoire de Pharmacologie de la Faculté de Médecine
Université de Lille II

A Monsieur le Professeur M. DURCHON

*Etudiant du D.E.A de biologie et physiologie
expérimentales et appliquées, j'ai bénéficié de
la très haute qualité de votre enseignement.
J'ai ensuite apprécié le privilège qui m'a été
donné d'être stagiaire dans votre laboratoire
et l'accueil particulièrement chaleureux que
vous avez bien voulu m'y réserver.*

A Monsieur le Professeur B. DUPUIS

Je tiens à vous exprimer toute ma reconnaissance et ma profonde gratitude pour la confiance que vous m'accordez depuis que je partage la vie du laboratoire de Pharmacologie de la Faculté de Médecine de Lille.

Votre connaissance en Pharmacologie Clinique et Expérimentale et les entretiens que vous avez bien voulu m'accorder pour l'élaboration de ce travail et pour l'interprétation des résultats m'ont ouvert à ce souci de précision et de rigueur dans la recherche scientifique dont vous me donnez constamment l'exemple.

A Monsieur le Professeur E. CORABOEUF

Votre notoriété et votre audience internationale en matière d'électrophysiologie cellulaire cardiaque ajouteraient au redoutable honneur de vous compter parmi mes juges si nous ne savions que chaque critique et commentaire que vous voudrez bien faire sur ce travail seront pour nous une source d'enrichissement.

Permettez-moi de vous exprimer mes sentiments de vive gratitude pour avoir accepté de juger ce travail, et de respectueuse admiration.

A Monsieur le Professeur J. de LEIRIS

La position éminente que vous occupez dans le domaine de la physio-pathologie cardiaque expérimentale, vos travaux multiples et particulièrement intéressants sur des sujets très proches de celui de cette thèse rendent votre présence impressionnante pour le candidat ; mais nous savons que chaque remarque et chaque critique de votre part nous conduiront à améliorer nos méthodes expérimentales et à comprendre plus précisément le problème de l'ischémie cardiaque.

Je vous suis très reconnaissant de l'honneur que vous me faites en acceptant d'être membre de ce jury.

A Monsieur le Professeur P. GUILBAULT

Je vous dois d'avoir accédé au troisième cycle de la Faculté des Sciences, où l'excellent enseignement que vous dispensez, la très grande compétence et l'enthousiasme que vous manifestez pour l'électrophysiologie cellulaire m'ont permis de m'intéresser et de m'initier à cet aspect de la Physiologie.

D'autre part, votre constante disponibilité, les aides et les conseils multiples que vous nous prodiguez depuis plusieurs années nous ont été d'un secours inappréciable.

Je vous remercie d'avoir accepté de juger ce travail et vous prie de croire à ma sincère reconnaissance.

A Monsieur le Professeur A. ROBELET

Je vous suis très reconnaissant de m'avoir accueilli dans votre laboratoire.

J'ai pu apprécier vos grandes connaissances médicales et scientifiques auxquelles s'ajoutent des qualités humaines indispensables au maintien de la cohésion d'une équipe à laquelle j'espère encore participer de nombreuses années.

Qu'il me soit permis de vous exprimer ma profonde gratitude ainsi que mon respectueux attachement.

A Monsieur le Professeur P. BOULANGER

Sans les conseils que vous nous avez donnés et sans les moyens d'analyse biochimique que vous avez bien voulu mettre à notre disposition, ce travail n'aurait pu être réalisé.

Je vous prie de croire à ma sincère reconnaissance.

Je tiens à remercier les Docteurs,
M. ADAMANTIDIS, J. CARON, C. LIBERSA,
A. VINCENT ; Monsieur R. ROUET, membres du
laboratoire de Pharmacologie de la Faculté de
Médecine de Lille de m'avoir admis dans leur
équipe et de n'avoir jamais épargné ni leur
temps, ni leurs conseils pour me permettre de
travailler le plus efficacement possible ;
qu'ils trouvent ici le témoignage de mon amitié.

Que toute l'équipe du "Holter" et en
particulier le Docteur P. BOUCHENY trouvent
également ici l'expression de mon amitié.

Je tiens particulièrement à remercier toutes les personnes qui ont participé à la réalisation de ce mémoire :

- Mademoiselle M. GOLON pour la dactylographie. Sans ses remarquables qualités professionnelles, ce travail n'aurait pu être prêt dans les délais impartis.

- Madame D. CAILLIAU pour l'aide efficace qu'elle nous a apportée dans la mise en forme des tableaux et pour la bonne humeur qu'elle sait toujours prodiguer.

- Monsieur J.J. HAUSER pour la mise au point du programme informatique qui a permis de tracer les différentes courbes.

- Les techniciens du laboratoire de Biochimie de l'Hôpital cardiologique de Lille qui m'ont toujours accueilli avec compétence et bonne humeur bien que venant très souvent les perturber au début de leur garde de nuit.

A ma Femme

A mes Parents

A mes Beaux-Parents

A ma Famille

A mes Amis

SOMMAIRE

	page :
I INTRODUCTION	2
II PRESENTATION ET JUSTIFICATION DU CHOIX DU MODELE	5
III LES CONSEQUENCES DE L'ISCHEMIE SUR LA CELLULE CARDIAQUE	16
IV REVUE DES MOYENS UTILISES POUR PREVENIR LA NECROSE ET LUTTER CONTRE SON EXTENSION	32
V MATERIEL ET METHODES	73
VI RESULTATS	86
VII DISCUSSION	124
BIBLIOGRAPHIE	129

I - INTRODUCTION

Depuis quelques années, en plus des thérapeutiques de la crise d'angine de poitrine, sont proposés aux coronariens des traitements de fond : dérivés nitrés à action prolongée, bêta-bloquants, inhibiteurs du canal lent...

Ces médicaments permettent soit de diminuer les besoins, en particulier oxygénés, du myocarde (coronarite obstructive), soit de s'opposer à la diminution des apports (coronarite spastique).

De plus, une notion nouvelle est actuellement mise en avant : la cardioprotection. Il s'agit d'un concept imprécis s'appuyant sur des essais cliniques de prévention secondaire d'infarctus du myocarde. Parmi ces nombreuses études, deux ont abouti à des résultats validés : celles menées avec le maléate de timolol et le propranolol.

Des travaux expérimentaux ont établi la possibilité de diminuer, lors d'ischémies uniques ou itératives soit l'étendue de la nécrose soit une de ses conséquences, troubles de la repolarisation, modifications biochimiques, répercussions mécaniques.

Il nous a semblé important, devant ces notions thérapeutiques en cours de validation, d'évaluer l'action de ces médicaments actuellement proposés aux coronariens, d'un double point de vue électrique et enzymatique. En effet, on connaît le rôle que joue en pratique clinique courante, la surveillance électrique et enzymatique de tels sujets. Les phénomènes électriques vont permettre une appréciation des répercussions "fonctionnelles" de l'ischémie (on sait en effet que des restaurations électriques sont possibles, fréquentes et que c'est cette constatation qui rend crédibles les tentatives de "protection" du myocarde ischémique). La mesure contemporaine de la fuite enzymatique (créatine - phosphokinase : CPK, etc...) peut être considérée comme un marqueur des atteintes structurales membranaires. L'appréciation quantitative et la cinétique de cette fuite enzymatique peuvent renseigner sur le rôle protecteur ou "retardateur" des répercussions cellulaires de l'ischémie, de médicaments largement prescrits comme les inhibiteurs du canal lent et les bêta-bloquants.

La reperfusion des territoires ischémiés est une période critique, bien étudiée expérimentalement et retrouvée sans équivoque lors de la levée d'un spasme coronarien chez des sujets atteints d'angor spastique dont la variété la plus connue est l'angine de poitrine de PRINZMETAL ; nous étudierons également cette situation.

Ce travail a pour objectif de tester la réactivité d'un modèle "d'ischémie" myocardique in-vitro vis-à-vis de deux classes pharmacologiques, les bêta-bloquants et les inhibiteurs du canal lent dont on sait qu'elles sont capables in-vitro et in-vivo de limiter lors d'ischémies la quantité de tissu nécrosé.

L'autre objectif de ce travail est de mettre en évidence une éventuelle cardioprotection dans des conditions où les contraintes et les contrôles physiologiques sont absents (système nerveux végétatif, inotropisme, pré et post charge, fréquence cardiaque...) c'est-à-dire de rechercher un effet directement "cytoprotecteur". De ce fait, il nous a semblé intéressant d'étudier une substance, le piridoxilate, considérée comme dépourvue d'effets sur les grandes fonctions neurovégétatives et cardiovasculaires et dont la seule action serait d'intervenir dans le métabolisme cellulaire ; elle est habituellement rangée dans la classe thérapeutique dite "économiseurs d'oxygène".

II - PRESENTATION ET JUSTIFICATION DU CHOIX DU MODELE

page :

A - Présentation du modèle,	7
B - Rappel clinique : le dosage des enzymes cardiaques dans l'infarctus du myocarde,	9
C - Difficulté de l'emploi en clinique du dosage des enzymes cardiaques pour mesurer l'extension des nécroses et évaluer une cardioprotection.	11
D - Signification de l'élévation du taux plasmatique des CPK,	12
E - Application du dosage des enzymes cardiaques à la recherche d'une "cardioprotection" in vitro.	14
F - Conclusion.	14

A - PRESENTATION DU MODELE

Le laboratoire dispose d'un modèle "d'ischémie" myocardique in vitro.

En tenant compte des travaux de la littérature et en s'appuyant en particulier sur ceux de MORENA H. et coll. (1980), ROUET R. (1981) a déterminé les modifications minimales à apporter au milieu de survie pour reproduire sur des fragments de ventricule de cobaye les modifications électriques (dépolarisation membranaire, diminution de l'amplitude, de la vitesse maximale de dépolarisation et des durées des potentiels d'action, augmentation du seuil d'excitation diastolique) décrites lors "d'ischémie" in vivo. La pression partielle en oxygène doit être diminuée et passer de 370 à 80 mmHg, le potassium doit être augmenté à 12 mM, le glucose supprimé et le pH diminué de 7,35 à 7,00. Dans ces conditions, l'activité électrique présente une cinétique d'évolution comparable à celle des tissus ischémiés. Ce modèle s'est révélé être très sensible aux antiarythmiques de classe I (quinidine, lidocaïne...) (DURIEZ P., 1981) et corrobore les résultats obtenus in vivo (EL SHERIF N. et coll., 1977-1978).

Ces médicaments et le recours de plus en plus rare à la défibrillation par choc électrique externe permettent, lorsque le sujet a atteint une unité de soins cardiaques intensifs (condition qui n'est remplie que par moins de 20 % des sujets), d'abaisser d'une façon très significative les décès par arythmie et de sauver ce qu'il est convenu de nommer "les coeurs trop bons pour mourir". La défaillance circulatoire aiguë représente l'autre cause de décès durant cette phase précoce de l'infarctus du myocarde. Elle est liée à la diminution de la quantité de myocarde hémodynamiquement efficace. Si l'association de substances inotropes et/ou abaissant la post-charge à une assistance mécanique peut faire "passer le cap" lorsque la nécrose est modérément étendue et lorsqu'une composante fonctionnelle joue un rôle prépondérant, il n'en est pas de même lors de nécrose étendue qui conserve un pronostic effroyable.

De nombreuses recherches s'appliquent actuellement à évaluer les possibilités de sauvegarder les tissus hypoperfusés mais non irrémédiablement perdus et

donc de limiter l'extension de la nécrose myocardique. Le temps séparant l'installation du déséquilibre apports/besoins nutritifs myocardique et la mise en oeuvre des moyens thérapeutiques joue et continuera à jouer un rôle tout à fait déterminant.

Depuis ces dernières années il se développe sur ce thème une pharmacologie qualifiée de "cardioprotectrice" (notamment inhibiteurs des récepteurs bêta-adrénergiques et inhibiteurs du canal lent...) : il nous a donc semblé intéressant d'étudier le comportement de notre modèle vis-à-vis de ces médicaments, modèle qui permet d'apprécier les effets directs de ces interventions thérapeutiques. En effet, le fragment isolé de myocarde que nous étudions n'est plus soumis aux variations du tonus sympathique ni aux modifications hémodynamiques qu'entraînent à la fois la présence d'un infarctus et l'utilisation de médicaments comme les bêta-bloquants ou les inhibiteurs du canal lent.

Nous étions donc conscients qu'en recherchant une "cardioprotection" sur ce modèle nous nous privions de nombreux facteurs (tonus sympathique, travail cardiaque...) sur lesquels les deux classes majeures étudiées interviennent sans discussion, et que l'aspect directement "cytoprotecteur" serait privilégié dans cette étude. Il ne faut toutefois pas oublier que ce modèle n'exclut pas des modifications de l'inotropisme.

Nous avons étudié deux paramètres pour la mise en évidence des effets de "l'ischémie" et indirectement de ceux de la "cardioprotection".

- 1 - Etude de l'évolution de l'activité électrique cellulaire pendant la période "d'ischémie" (2 heures) et de la qualité de la récupération de cette activité pendant la perfusion (30 minutes)

En clinique l'activité électrique cardiaque est étudiée à l'aide de l'électrocardiogramme (ECG) dont les modifications sont caractéristiques de l'ischémie cardiaque et permettent un diagnostic précoce de l'infarctus du myocarde. Le comportement électrique de la préparation est représentatif du fonctionnement cellulaire et notamment membranaire.

2 - La mesure de l'activité des CPK (créatinephosphokinases) dans l'effluent de la préparation.

Son évolution va refléter l'intégrité des membranes cardiaques. On sait en effet que les molécules volumineuses ne pourront quitter l'espace intracellulaire qu'à l'occasion d'une perméabilité membranaire anormale. L'anoxie et l'ischémie prolongée conduisent à une destructuration cellulaire. La présence de ces enzymes dans le liquide extra-cellulaire est considérée comme le signe de la nécrose.

La mesure des CPK sériques est un examen de routine en biochimie clinique présentant un double intérêt : confirmer un infarctus du myocarde et tenter d'en évaluer l'étendue.

B - RAPPEL CLINIQUE : LE DOSAGE DES ENZYMES CARDIAQUES DANS L'INFARCTUS DU MYOCARDE

Toutes les cellules animales contiennent des enzymes. Une enzyme donnée ne peut catalyser qu'une réaction chimique déterminée : chaque étape d'une réaction métabolique va donc nécessiter une enzyme particulière. Certaines enzymes sont quelquefois synthétisées spécifiquement par tel ou tel tissu et le dosage des enzymes sériques est alors un excellent moyen d'étudier ce tissu (par exemple : augmentation des phosphatases acides sériques dans le cancer de la prostate).

Le plus souvent, les mêmes enzymes se retrouvent dans de nombreux tissus ; cependant, l'activité enzymatique est différente d'un organe à l'autre.

Grâce à cette répartition différente, on arrive à établir un "profil enzymatique" pour chaque organe. Il est maintenant plus facile d'identifier l'origine de certaines enzymes notamment de la créatine phosphokinase (CPK) et de la lactico-déshydrogénase (LDH), car des isoenzymes spécifiques de chaque organe ont été isolées.

L'ischémie cardiaque entraîne une souffrance cellulaire qui augmente la perméabilité membranaire vis à vis des enzymes cytoplasmiques et la nécrose cellulaire libère instantanément ces enzymes dans l'espace extracellulaire, elles diffusent alors dans le plasma. Lorsque l'on suspecte cliniquement (douleur thoracique, troubles hémodynamiques...) un infarctus du myocarde, les enzymes cardiaques suivantes peuvent être dosées dans le plasma pour confirmer le diagnostic.

- CK = CPK : créatine kinase = créatine phosphokinase

CPK-MB : correspond à l'isoenzyme cardiaque de la CPK

- GOT : Glutamate Oxaloacétate Transaminase

- LDH : Lactate déshydrogénase

HBDH : correspond surtout à l'isoenzyme I de la LDH, présente en grande quantité dans le myocarde.

Evolution typique sérique des enzymes cardiaques en cas d'infarctus du myocarde d'après SCHMIDT E. et SCHMIDT F.W. (1973)

	DEBUT DE L'ELEVATION DE L'ACTIVITE MESURABLE	MODIFICATION MAXIMUM DE L'ACTIVITE	AUGMENTATION MAXIMUM MOYENNE EN MULTIPLE DE LA VALEUR NORMALE	RETOUR A LA NORMALE
CPK	4 - 8 heures	16 - 36 heures	7 (2 - 25)	3e - 6e jour
GOT	4 - 8 heures	16 - 48 heures	7 (2 - 25)	3e - 6e jour
LDH	6 - 12 heures	24 - 60 heures	3,3 (2 - 8)	7e - 15e jour
HBDH	6 - 12 heures	30 - 72 heures	3,5 (2 - 8)	10e - 20e jour

Evolution typique dans l'infarctus du myocarde

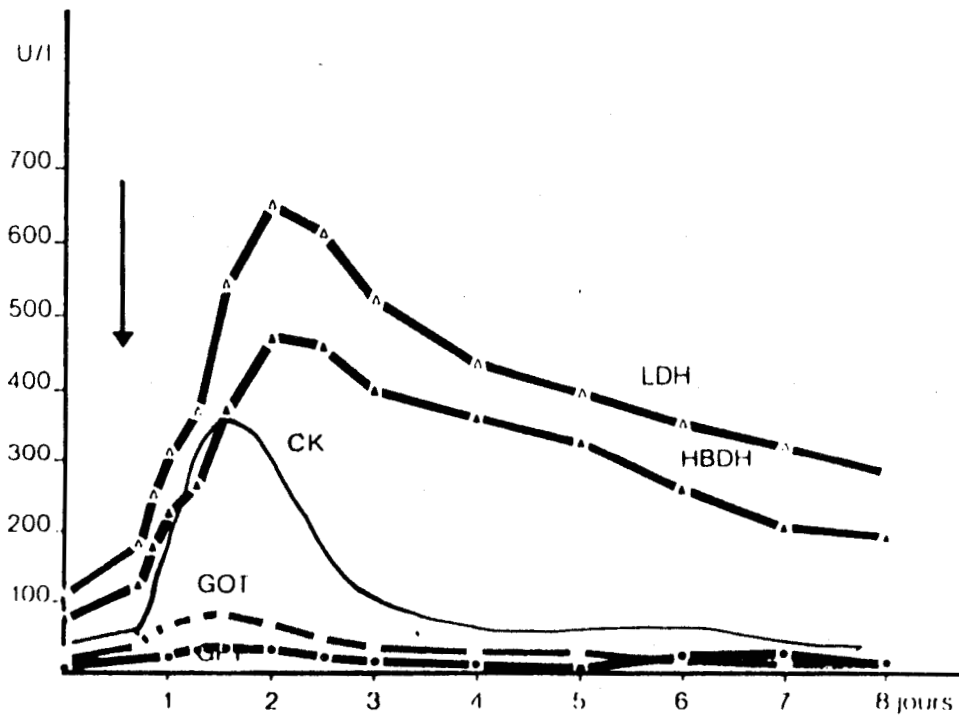


TABLEAU 1



C - DIFFICULTE DE L'EMPLOI EN CLINIQUE DU DOSAGE DES ENZYMES
CARDIAQUES POUR MESURER L'EXTENSION DES NECROSES ET EVALUER
UNE CARDIOPROTECTION

Sur les modèles expérimentaux (coeurs isolés), les auteurs utilisent le dosage des enzymes récupérées dans le liquide effluent comme indice de l'intensité des souffrances cellulaires. La standardisation des conditions expérimentales et le recueil direct et total de l'effluent autorisent cette interprétation. Malheureusement il n'en est pas de même en clinique pour le dosage des enzymes sériques. On a essayé d'établir une corrélation entre la quantité d'enzyme libérée et la dimension de l'infarctus du myocarde. Comme cette dimension est le facteur pronostic majeur de mortalité, on a cherché à établir un modèle mathématique entre le degré de dommage du tissu et la libération d'enzyme.

Ce modèle admet deux hypothèses (SHELL W.É. et coll., 1971 ; SOBEL B.E. et coll., 1976) :

- d'une part, la libération d'enzyme est fonction du temps,
- et d'autre part, la clearance de l'enzyme obéit à une réaction cinétique du premier ordre (modèle à 2 compartiments).

Une équation a été dérivée pour le calcul de la dimension de l'infarctus dans laquelle figurent :

- la vitesse de dégradation,
- le poids corporel,
- le volume de distribution,
- la quantité d'enzyme ayant quitté chaque gramme de myocarde.

Ce modèle a été abondamment critiqué, en particulier sur l'hypothèse que la quantité d'enzyme apparaissant dans le sang est une fraction constante de celle qui est perdue par le coeur.

D'autre part, ce modèle ou des modèles voisins ne sont pas applicables chez l'homme pour juger de l'efficacité d'une thérapeutique, car celle-ci doit être mise en oeuvre le plus tôt possible et ces modèles nécessitent une observation d'au moins 7 heures (dosages plasmatiques sériés des CPK) pour devenir prédictifs (SHELL W.E. et SOBEL B.E., 1976).

Intérêt du dosage des CPK - MB par rapport au CPK totaux

L'élévation du taux de CPK MB est parallèle à celle de la CPK totale (quand seul le myocarde est intéressé par le processus morbide) et sert à déterminer l'origine cardiaque de l'enzyme. Cette discrimination est bien entendu nécessaire dans certaines situations cliniques (douleurs atypiques pouvant être d'origine cardiaque mais aussi pancréatique). Elle ne s'impose pas, à l'évidence, lors d'expériences portant sur un tissu cardiaque isolé.

D - SIGNIFICATION DE L'ELEVATION DU TAUX PLASMATIQUE DES CPK

La diminution de l'activité créatine phosphokinase myocardique est en rapport avec la taille de l'infarctus (KJEKSHUS J.K. et SOBEL B.E., 1970 ; SHELL W.E. et coll., 1971-1972). L'intensité de la déplétion est de même en relation avec l'étendue de l'atteinte histologique (MAROKO P.R. et coll., 1971 ; GINKS W.R. et coll., 1972) et avec l'élévation du segment ST épicaire de l'ECG.

Pour HEARSE D.J. et HUMPHREY S.M. (1975) le début de la perte de CPK coïncide avec l'instant où les dommages cellulaires deviennent irréversibles et SHELL W.E. et SOBEL B.E. (1976) considèrent la fuite de CPK hors des cellules comme un indice de mort cellulaire plutôt que de simple lésion membranaire. Par contre WALDENSTROM A.P. et coll. (1977) admettent que des cellules réversiblement lésées peuvent déjà laisser échapper des enzymes.

WILKINSON J.H. et ROBINSON J.M. (1974) ont montré que l'apport d'ATP exogène limite la fuite de LDH de lymphocytes de rat mis en contact avec des phospholipases A et C. Ces phospholipases dégradent les phospholipides membranaires et augmentent la perméabilité membranaire. L'ATP peut agir directement au niveau membranaire comme source d'énergie nécessaire à la synthèse des acides phosphatidiques qui sont des précurseurs des phospholipides. Ces auteurs suggèrent donc que la baisse du taux d'ATP intracellulaire en hypoxie serait un élément essentiel du relargage enzymatique.

DE LEIRIS J. et coll. (1975) ont montré que l'addition d'acides gras libres (palmitate) à la perfusion de coeurs isolés et ischémiés de rat augmente la fuite de LDH, CPK et GOT et que l'addition de glucose - insuline au milieu contenant le palmitate diminue la fuite enzymatique ; les acides gras diminuent le taux d'ATP cytoplasmique utilisable par la cellule en empêchant le transfert de l'ATP de la mitochondrie vers le cytoplasme par l'intermédiaire de métabolites comme l'acyl-coA alors que le glucose favorise certainement la production anaérobie d'ATP. Récemment BRICKNELL O.L. et OPIE L.H. (1978) ont démontré que l'intégrité membranaire est liée à la production d'ATP d'origine glycolytique et conditionne la fuite de LDH.

En résumé, il n'est pas encore parfaitement établi que la fuite enzymatique corresponde à une lésion cellulaire irréversible. Il est bien établi qu'une déficience énergétique marquée comme celle qui est observée dans les modèles d'ischémie habituellement utilisés interdit le maintien de la structure membranaire. Le rôle destructurant des acides gras cis-insaturés sous forme de monomères et sans doute à plus fort degré lorsqu'ils s'organisent en micelles est actuellement proposé (KATZ A.M. et MESSINEO F.C., 1981).

E - APPLICATION DU DOSAGE DES ENZYMES CARDIAQUES A LA RECHERCHE D'UNE "CARDIOPROTECTION" IN VITRO

Ces dosages sont employés par de nombreux auteurs pour mesurer in vitro les effets cardioprotecteurs de différentes drogues.

De nombreuses substances peuvent diminuer la fuite des enzymes hors de la cellule par des mécanismes divers :

- corticoïdes (dont on connaît l'action de maintien de la structure membranaire),
- anesthésiques locaux dont les antiarythmiques des classes I_A et I_B (dits aussi "stabilisants de membrane"),
- inhibiteurs du canal lent,
- inhibiteurs des récepteurs bêta-adrénergiques,
- etc...

F - CONCLUSION

L'étude de ces diverses données nous a conduit à suivre l'évolution de la concentration en CPK durant notre ischémie expérimentale.

Nous pouvons doser toutes les enzymes habituellement étudiées en clinique (CPK, CPK-MB, LDH, HBDH, GOT) mais le coût d'un tel bilan est élevé et incompatible avec les moyens dont nous disposions. Il nous a donc fallu choisir :

Les CPK et les GOT sont les premières enzymes à apparaître dans le plasma (4 à 8 heures) : comme nos expériences sont limitées dans le temps, il nous a semblé judicieux d'utiliser une de ces deux enzymes. Au moment

du pic, ces deux enzymes présentent une augmentation identique du taux de base (x 7), mais l'activité des CPK y est de 350 mu/ml et celle des GOT de 100 mu/ml. Nous avons donc pensé que le dosage des CPK serait plus sensible que celui des GOT car il nous permettait de travailler sur un plus large spectre de valeurs et de plus faibles échantillons.

En clinique, le pic de LDH est plus tardif mais plus élevé que celui des CPK, mais ces deux enzymes ont la même concentration (350 mu/l) au moment du pic de CPK.

Il n'était donc pas impossible que les concentrations des CPK et des LDH soient identiques dans notre modèle.

Nous avons donc réalisé un essai d'ischémie en dosant les CPK et les LDH. Le taux des CPK est 3 fois plus élevé que celui des LDH à tous les moments de l'expérience (tableau 2). D'autre part, la corrélation est parfaite ($p < 1\%$) entre les taux de LDH et de CPK, ce qui ne rend pas impératif le dosage simultané des 2 enzymes pour quantifier les effets de l'ischémie. Nous avons donc choisi le dosage des CPK.

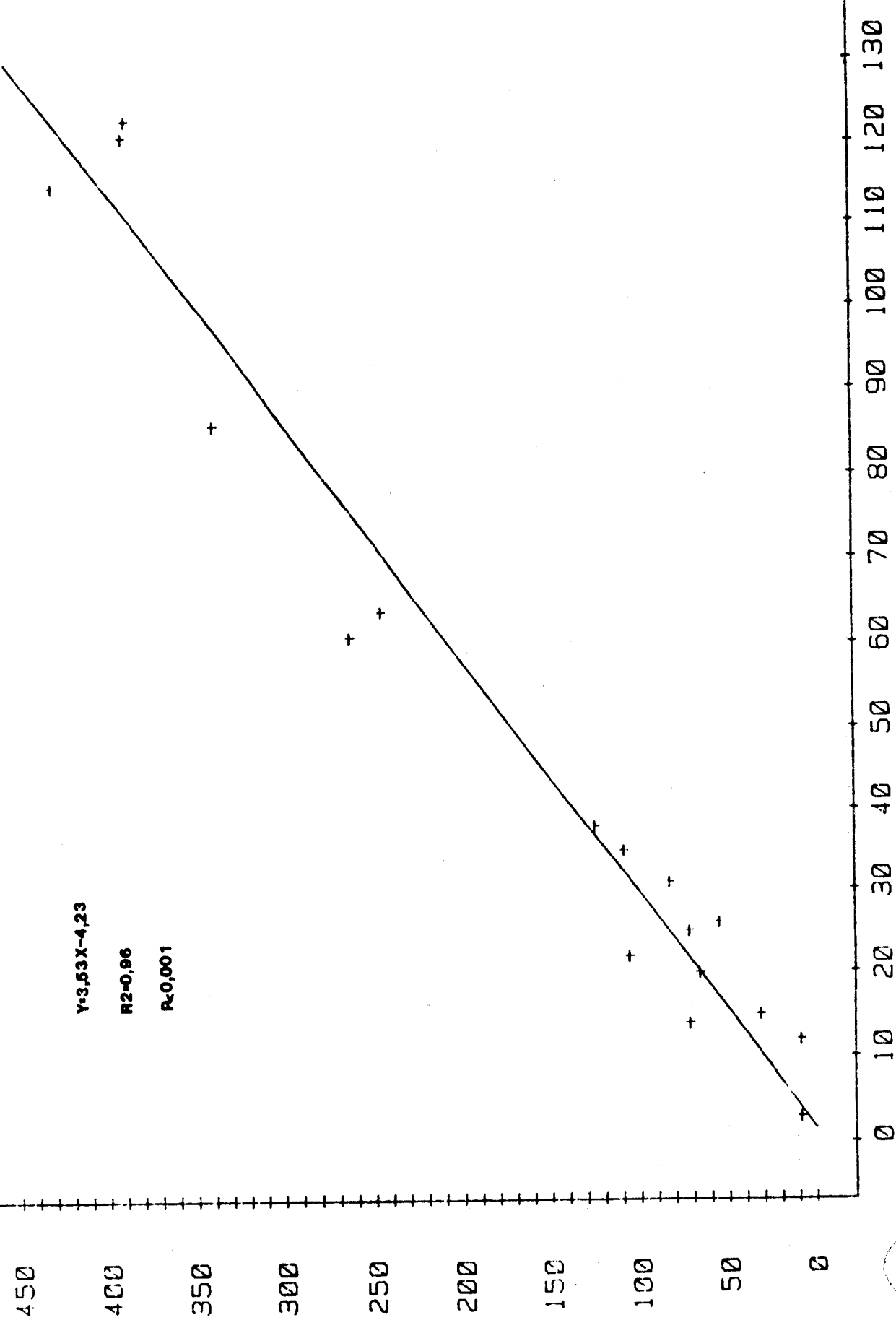
Le dosage de la fraction MB des CPK ne présente pas d'intérêt dans notre modèle car nous travaillons sur un fragment de coeur isolé et les CPK ne peuvent donc avoir un autre organe pour origine. D'autre part, le dosage des CPK - MB exige des méthodes chromatographiques ou immunologiques incompatibles avec les larges séries que nous avons à traiter.

C. P. K. (MU/ML)

$Y=3.53X-4.23$

$R^2=0.96$

$R=0.001$



L. D. H. (MU/ML)

COMPARAISON : LIBERATION DE L.D.H. ET DE C.P.K. LORS D'UNE ISCHEMIE TEMOIN

tableau 2



III - LES CONSEQUENCES DE L'ISCHEMIE SUR LA CELLULE CARDIAQUE

page :

- ISCHEMIE MYOCARDIQUE, REPERCUSSIONS :

A - <u>Métaboliques</u>	18
1. Modifications du métabolisme des lipides	
2. Modifications du métabolisme des glucides	
B - <u>Répercussions de l'ischémie sur l'inotropisme</u>	21
C - <u>Répercussions électrophysiologiques et ioniques de l'ischémie</u>	23
1. Electrophysiologie sur animal entier	
2. Répercussions sur la répartition des ions et sur l'électrophysiologie cellulaire	
2.1. Les modifications de la répartition des ions	
2.2. Les modifications de l'électrophysiologie cellulaire	
2.2.1. Dépolarisation cellulaire	
2.2.2. Diminution de la vitesse maximale de dépolarisation et de l'amplitude du potentiel d'action	
2.2.3. Raccourcissement de la durée des potentiels d'action	
D - <u>Modifications histologiques</u>	28
E - <u>La zone bordante ("Border-zone")</u>	29
F - <u>La reperfusion des territoires ischémiés</u>	30

- ISCHEMIE MYOCARDIQUE, REPERCUSSIONS :

A - métaboliques

1. Modifications du métabolisme des lipides

En aérobose, le coeur utilise les acides gras libres (AGL) (OPIE L.H., 1968 - 1969 (1) - 1969 (2)) ; cet emploi préférentiel des AGL est lié à l'activité de différents systèmes enzymatiques. Les AGL qui entrent dans la cellule sont incorporés aux triglycérides (TG) ou transformés en Acyl-coA ; ces Acyl-coA sont transférés du cytoplasme aux mitochondries par le système transporteur Acyl-coA carnitine transférase où ils sont incorporés au cycle de Krebs. L'oxydation des AGL inhibe la glycolyse par inhibition de plusieurs enzymes dont la pyruvate déshydrogénase (CRASS M.F. et coll., 1970) ; l'accumulation en glucose -6- phosphate qui en résulte inhibe l'hexokinase et diminue ainsi la phosphorylation du glucose (NEELY J.R. et coll., 1969). Ces régulations métaboliques privilégient l'utilisation des AGL aux dépens des substrats hydrocarbonés.

L'ischémie myocardique modifie le métabolisme des lipides :

- La bêta-oxydation des AGL est inhibée par :

- le manque d'oxygène
- l'augmentation du rapport NADH/NAD
- la diminution de concentration des flavoprotéines.

- Le système acyl-carnitine - transférase est inhibé.

- Les triglycérides s'accumulent dans les cellules, car les molécules d'Acyl-coA non oxydées se combinent à celles de glycérol dont la production est augmentée à la suite de l'accroissement du métabolisme glycolytique.

- L'accumulation d'Acyl-coA inhibe le métabolisme des AGL qui entrent dans la cellule et favorise la fuite des AGL dans le compartiment extracellulaire.

- Les Acyl-coA inhibent également l'activité de l'adénine nucléotide translocase, enzyme membranaire mitochondriale, qui est requise pour le transport de l'ATP de la mitochondrie vers le cytoplasme (SHUG A.L. et coll., 1975 ; SHRAGO E. et coll., 1976).
- Il a d'autre part été démontré que l'accumulation de phospholipides (lysophosphatidylcholine) (SOBEL B.E. et coll., 1978 ; SNYDER D.W. et coll., 1979) dans la cellule et/ou d'AGL dans le liquide extracellulaire (KARGUEUZIAN H.S. et coll., 1982) favorise la survenue d'arythmies aussi bien en clinique que dans des conditions expérimentales (GUPTA D.A. et coll., 1969 ; KURIEN V.A. et coll., 1969 ; COWAN J.C. et VAUGHAN WILLIAMS E.M., 1977).

2. Modifications du métabolisme des glucides

Nous avons vu qu'en aérobose le coeur oxyde préférentiellement les acides gras libres, mais d'autres substrats tels que les glucides et les acides aminés peuvent être également métabolisés selon ce processus oxydatif (OPIE L.H., 1968 - 1969 (1) - 1969 (2)). En anoxie et partiellement en ischémie, le glucose ne subit plus un métabolisme oxydatif mais anaérobie (SCHEUER J., 1977) ; les mécanismes suivants régulent cette déviation métabolique :

- La quantité d'ATP synthétisée diminue en anoxie ainsi que les dérivés phosphatés intermédiaires (NEELY J.R. et coll., 1970) tels que le glucose -6- phosphate, ce qui lève l'inhibition de l'hexokinase et favorise "l'uptake" du glucose par la cellule.
- Les produits de dégradation de l'ATP (ADP, AMP...) activent la phosphofructokinase qui est de plus désinhibée par la chute de concentration d'ATP.
- La glycogénolyse est augmentée par transformation de la phosphorylase b, inactive, en phosphorylase a, active.

Le rendement énergétique de la voie anaérobie est faible car 2 molécules d'ATP sont synthétisées quand une molécule de glucose est métabolisée alors que la voie oxydative produit 36 molécules d'ATP par molécule de glucose.

Le métabolisme des carbohydrates n'est pas le même en anoxie qu'en ischémie.

En anoxie : l'apport d'oxygène est réduit mais le drainage cellulaire élimine les catabolites acides de la glycolyse.

En ischémie : l'apport d'oxygène est réduit mais de plus les catabolites stagnent. L'acide lactique s'accumule et le pH diminue (COBBE S.M. et POOLE-WILSON P.A., 1979-1980), ce qui inhibe la voie anaérobie au niveau de plusieurs enzymes (phosphofructokinase, glycéraldéhyde -3- phosphate deshydrogénase, hexokinase). L'inhibition de la phosphorylase kinase diminue la glycogénolyse en empêchant la transformation de phosphorylase b en a.

Le rendement glycolytique est environ 4 fois plus faible en ischémie qu'en anoxie ; la perfusion de glucose et d'insuline ne stimule pas autant la glycolyse en ischémie qu'en anoxie. La résistance à l'anoxie ou à l'ischémie peut-être accrue en favorisant la voie glycolytique en augmentant l'apport de glucose (WEISSLER A.M. et coll., 1968) ou en augmentant les réserves de glycogène avant l'induction de l'anoxie (SCHEUER J. et STERZASKI S.W., 1970). Il a été démontré qu'un apport massif de glucose restaure partiellement les potentiels d'action déprimés par l'hypoxie (Mc DONALD T.F. et Mc LEOD D.P., 1973, MORENA H. et coll., 1980), améliore la vitesse de conduction et diminue le nombre d'arythmies de coeurs hypoxiques (SENGES J. et coll., 1980). Le glucose diminue les lésions des membranes lysosomiales, mitochondriales et sarcolémiques (BRICKNELL O.L. et OPIE L.H., 1978, BURTON K.P. et coll., 1980 ; LOCHNER A. et coll., 1976) de coeurs hypoxiques, il favorise aussi le retour à une activité mécanique normale pendant la réoxygénation (LOCHNER A. et coll., 1976 ; WILLEBRAND A.F. et coll., 1976).

En situation expérimentale, la perfusion de glucose est bénéfique aux coeurs hypoxiques, mais l'augmentation artificielle de la glycémie d'un sujet en phase aiguë d'infarctus myocardique présente un intérêt clinique qui est toujours discuté et controversé. Ce manque d'efficacité en ischémie dépend certainement du manque de rendement énergétique de la voie anaérobie et aussi de son activation incomplète dans ces conditions. Certains auteurs pensent que la perfusion de glucose serait bénéfique pour le

coeur ischémié en permettant le fonctionnement et la survie sur un mode oxydatif de territoires cardiaques voisins de la zone ischémiée (LIEDTKE A.J. et coll., 1982).

Pendant l'ischémie, l'activité du cycle de Krebs diminue proportionnellement au flux sanguin et suit l'affaiblissement de l'apport en oxygène, en acide gras et en glucose (OPIE L.H. et coll., 1973). Dans la zone centrale d'un infarctus (où le débit sanguin est extrêmement compromis) le métabolisme oxydatif résiduel fournit 90 % de l'ATP synthétisé ; la quantité totale d'ATP synthétisée ne représente alors que 20 % de celle produite en zone saine (OPIE L.H., 1976 ; SHOUICHI IMAI et coll., 1979). Dans l'heure qui suit un infarctus aigu du myocarde les dommages histologiques dus à la nécrose cellulaire dépendent du taux de déplétion en glycogène (OPIE L.H. et coll., 1976).

Le peu d'oxygène disponible est plus utilisé pour l'oxydation du glucose que pour celle des acides gras libres ; ce fonctionnement est l'inverse de celui observé dans des conditions physiologiques. La différence artérioveineuse en glucose est néanmoins plus faible dans les tissus ischémiés que dans les tissus sains ; l'ischémie myocardique n'entraîne qu'une faible augmentation du métabolisme anaérobie du glucose (NEELY J.R. et coll., 1973 ; ROVETTO M.J. et coll., 1973).

B - Répercussion de l'ischémie sur l'inotropisme

La contraction de la région myocardique dépendante d'une artère coronaire ligaturée diminue et cesse rapidement (TENNANT R. et WIGGLER C.J., 1935). Plusieurs théories sont proposées pour expliquer ce phénomène :

- La diminution de l'excitabilité électrique serait à l'origine de la perte de contractilité. Cette théorie est très discutable car la contraction est déjà fortement diminuée dans les premières secondes de l'ischémie alors que l'excitabilité électrique est encore normale.

- La diminution de la contractilité dépendrait de la déplétion cellulaire en phosphates énergétiques. Cette théorie n'est pas parfaitement démontrée car la diminution de phosphates énergétiques n'est pas toujours observée immédiatement après le début de la perte de contractilité (COWELL J.W. et coll., 1967), mais il n'est pas exclu que les "pools" d'ATP affectés au fonctionnement de la membrane et du réticulum sarcoplasmique soient les premiers diminués par l'ischémie, la perte d'ATP dans ces "pools" n'affectant pas la concentration totale d'ATP cellulaire.

D'autres auteurs ont montré que la contraction reste stable pendant les premières secondes d'anoxie alors que la concentration d'ATP diminue (HEARSE D.J., 1979) ; la chute ultérieure de la contraction serait alors fonction de la déplétion de l'ATP cellulaire.

- Selon une troisième théorie, les modifications de translocation calcique cellulaire seraient à l'origine de la perte de l'activité contractile. Les potentiels d'action des cellules ischémiées sont plus courts à tous les niveaux de la repolarisation et notamment lors de la phase en plateau où le courant entrant lent calcico-sodique est activé (CHESNIAS J.M. et coll., 1975).

Il a été proposé que la quantité de calcium qui entre dans la cellule par ces canaux voltage-dépendants soit moindre en ischémie et insuffisante pour catalyser les processus biochimiques de la contraction. D'autre part les ions H^+ qui s'accumulent dans les cellules ischémiées diminuent la réactivité du réticulum sarcoplasmique au calcium (inhibition du "calcium induced calcium released") et entrent en compétition avec cet élément au niveau de la troponine (KATZ A.M., 1973 ; BRAUNWALD E., 1976).

Le calcium s'accumule dans les cellules ischémiées, bien que la conductance calcique soit activée moins longtemps durant chaque potentiel d'action ; d'autres mécanismes sont responsables de cette accumulation (voir : Modifications de la répartition des ions) qui est responsable de la contracture des territoires ischémiés.

C - Répercussions électrophysiologiques et ioniques de l'ischémie

I Electrophysiologie sur animal entier

Lors d'ischémies expérimentales, l'électrocardiogramme de surface ou les électrocardiogrammes épicaudiques mettent en évidence des décalages de la phase de repolarisation (sus ou sous décalage du segment ST). Ce décalage traduit soit une dépression du segment TQ (diminution du potentiel de repos membranaire) soit un raccourcissement de la phase 2 des potentiels d'action.

Il existe une corrélation entre l'étendue des nécroses évaluée 60 minutes, 24 heures et 3 semaines après la ligature d'une coronaire chez le chien et l'élévation du segment ST épicaudique. L'étendue des nécroses est évaluée post-mortem par des méthodes histologiques (microscopie électronique...) (KLONER R.A. et coll., 1977) ou histoimmunologiques et biochimiques (BRAUNWALD E. et MAROKO P.R., 1976).

L'élévation du segment ST n'est pas spécifique de l'ischémie car l'intoxication digitalique et la stimulation sympathique peuvent y conduire. La diminution de la vitesse de conduction intraventriculaire consécutive à l'ischémie (élargissement du QRS) peut modifier l'élévation du segment ST (MULLER J.E. et coll., 1978) ainsi que l'existence d'un bloc focal (FOZZARD H.A. et DAS GUPTA P.S., 1975 ; MULLER J.J. et coll., 1978). En clinique, elle ne donne pas d'informations très précises sur le volume de myocarde ischémié ni sur le volume sauvé par les interventions pharmacologiques et/ou mécaniques.

L'augmentation de voltage de l'onde R a été aussi proposée pour évaluer l'étendue de la nécrose myocardique (RIBEIRO L.G.T. et coll., 1979) : elle est soit provoquée par la dépolarisation retardée des zones ischémiées par rapport aux zones saines, soit par le déplacement de la ligne de base de l'ECG à la suite de la diminution du potentiel de repos des cellules ischémiées (PRINZMETAL M. et coll., 1959 ; KATCHER A.H. et coll., 1960 ; SAMSON W.E. et SCHER A.M., 1960). L'onde R s'amplifie peu de temps après le début de l'occlusion d'une coronaire, puis décroît ; elle devient alors plus faible que l'onde témoin alors que des ondes Q ou QS apparaissent (WILSON F.N. et coll., 1955 ; SHUGOLD G.E., 1967).

L'élévation du segment ST et de l'amplitude de l'onde R sont des indices précoces de l'ischémie cardiaque ; ces modifications sont réversibles quand l'ischémie est rapidement levée mais se révèlent peu utiles dans l'appréciation quantitative de la nécrose. La disparition de l'onde R et le développement d'une onde Q sont des indices de lésions irréversibles étroitement en relation avec les lésions histologiques et biochimiques du myocarde sous-jacent.

2 Répercussions sur la répartition des ions et sur l'électrophysiologie cellulaire

2.1 Les modifications de la répartition des ions

La diminution du taux d'ATP dans les tissus ischémiques a pour effet immédiat de réduire l'activité ATPasique de la pompe Na - K ; on connaît le rôle tenu par cette enzyme dans l'établissement et le maintien des gradients transmembranaires ioniques. Les cellules dont le métabolisme est réduit accumulent du sodium et perdent du potassium (CARMELIET E. et BOULPAEP E., 1957). Les besoins énergétiques nécessaires à l'intégrité structurale et fonctionnelle de la membrane cellulaire sont probablement assurés par l'ATP d'un compartiment intracellulaire rapidement accessible à la membrane (BRICKNEL O.L. et OPIE L.H., 1978). Cet ATP est essentiellement produit par glycolyse, et il est associé à la production de potentiels d'action normaux (Mc DONALD T.F. et coll., 1971).

Non seulement le potassium interne diminue, mais bien évidemment le potassium perdu va se retrouver dans les espaces péricellulaires et y demeurer (flux de drainage très diminué) dans un tissu compact comme le myocarde : il semble que pour cet ion, le "grand espace" soit l'espace intracellulaire (COULOMBE A. et coll., 1981). Dans les espaces extracellulaires du myocarde infarci, le potassium peut alors atteindre des concentrations voisines de 10 à 14 mM/l (HILL H. et GETTES L.S., 1978). ROUET R. (1981) a dosé le potassium dans le liquide effluent d'une préparation ventriculaire de cobaye. Après un épisode de "stop-flow" de 30 minutes en "hypoxie", le potassium atteint des valeurs de l'ordre de 20 mM/l.

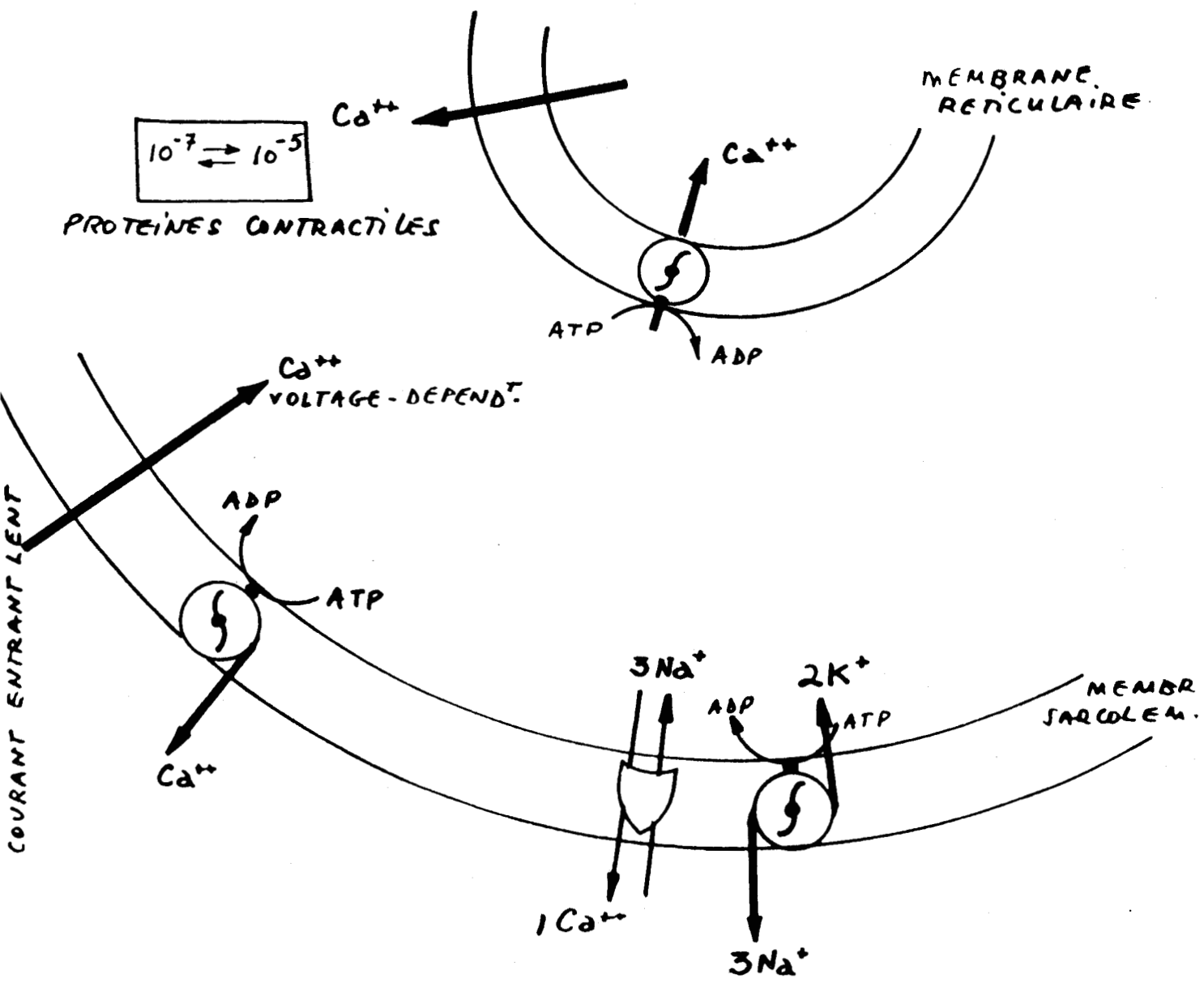
Le gradient potassique, dont on connaît le rôle primordial dans le fonctionnement de la membrane, s'en trouve très diminué.

Le métabolisme intracellulaire du calcium est également modifié par l'ischémie ; la concentration calcique intracellulaire peut atteindre dix fois sa valeur initiale et participer à la création de lésions cellulaires irréversibles (JENNINGS R.B. et SHEN A.G., 1972). Cela est en partie dû au fait que les mitochondries jouent un rôle important dans le contrôle de la concentration calcique intracellulaire (VASINGTON F.D. et MURPHY J.V., 1962 ; RASMUSSEN H., 1975) en captant une grosse part du calcium qui entre dans la cellule. L'hypoxie et l'ischémie modifient le métabolisme de la mitochondrie et diminuent son pouvoir de transport du calcium (STASZEWSKA-BARCZAK J., 1971).

La diminution quantitative de la liaison calcium-mitochondrie accroît la quantité de calcium intracellulaire libre ; ce calcium cytoplasmique peut modifier le potentiel d'action et être à l'origine d'arythmies (SATORU S., 1981). Les répercussions sur la famille de protéines spécialisées dans les fonctions de translocation calcique (calmoduline en particulier) sont mal connues.

L'existence d'un système d'évacuation du calcium, entré durant l'excitation du courant entrant lent, hors de la cellule est nécessaire à son fonctionnement physiologique. L'extrusion du calcium est indirectement couplée au métabolisme et est liée à un échange passif de deux ions sodium pour un ion calcium (REUTER H. et SEITZ N., 1968) : c'est l'échange $\text{Na}^+/\text{Ca}^{++}$. Celui-ci est supporté par une protéine membranaire transporteuse d'ions. Sa face interne présente une affinité pour les ions Ca^{++} supérieure à l'affinité pour les ions Na^+ , sa face externe une affinité pour Na^+ supérieure à l'affinité pour Ca^{++} . Le sodium entre dans la cellule en suivant son gradient de concentration et fournit ainsi l'énergie nécessaire à l'extrusion du calcium. Pour que le système fonctionne, il faut que la pompe $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATPase maintienne un gradient sodique important. Si le métabolisme est diminué par l'hypoxie par exemple, le sodium intracellulaire augmente et provoque la diminution de ce gradient, entraînant par conséquent une augmentation de la concentration intracellulaire de calcium.

En ischémie, le calcium s'accumule dans le cytoplasme car la diminution du taux d'ATP modifie le fonctionnement de l'ATPase calcium dépendante activée en présence de Mg^{++} qui permet au réticulum sarcoplasmique de repomper du calcium.



les mouvements du calcium

2.2. Les modifications de l'électrophysiologie cellulaire

Le comportement électrophysiologique du tissu myocardique infarci a été étudié in-vivo, chez l'animal, après ligature d'une coronaire grâce à des techniques de microélectrodes flottantes (CZARNECKA M. et coll., 1973 ; DOWNAR E. et coll., 1977) ou in-vitro dans du tissu myocardique prélevé en zone préalablement infarctée (FRIEDMAN P.L. et coll., 1975 ; ALLEN J.D. et coll., 1978), ou sur du tissu sain superfusé par l'effluent coronaire d'un animal donneur soumis à une oblitération coronaire.

Les potentiels d'action présentent les caractéristiques suivantes :

2.2.1. Dépolarisation cellulaire

La diminution des gradients potassiques entraîne une diminution du potentiel de repos (par une diminution du potentiel d'équilibre de la pile au potassium) ainsi que de la durée et de la vitesse maximale de dépolarisation des potentiels d'action (WEIDMANN S., 1955 ; CORABOEUF E. et OTSUKA M. 1956 ; GUILBAULT P., 1966).

2.2.2. Diminution de la vitesse maximale de dépolarisation (phase zéro) et de l'amplitude du potentiel d'action

Ce paramètre est sous la dépendance du courant entrant sodique rapide (I_{Na}). La mesure habituellement retenue est la vitesse maximale de dépolarisation (V_{max}).

Quand les cellules sont dépolarisées, la vitesse maximale de dépolarisation diminue ; en effet, dans le modèle d'HODGKIN-HUXLEY (1952), à de faibles potentiels de repos, la porte h d'inactivation du courant sodique rapide est déjà en partie fermée au moment de l'ouverture des portes m d'activation. Le passage des ions sodium est alors limité lors de la phase zéro du potentiel d'action, ce qui entraîne une diminution de la vitesse maximale de dépolarisation et de l'amplitude du potentiel

d'action. [La corrélation entre le potentiel de membrane E_m et V_{max} a été établi par WEIDMANN S. (1955)]. Il faut souligner que cette diminution apparaît avant que la dépolarisation membranaire ne soit installée, car l'hypoxie à elle seule, sans dépolarisation cellulaire, diminue la vitesse de la phase zéro (VLEUGELS A. et CARMELIET E., 1975). Ce phénomène peut s'expliquer par l'augmentation du sodium intracellulaire qui abaisse le gradient transmembranaire sodique.

2.2.3. Raccourcissement de la durée des potentiels d'action

Le courant entrant lent est porté par des mouvements transmembranaires des ions Ca^{++} et Na^+ ; la part respective jouée par ces ions varie selon les espèces. Chez le cobaye, le rôle du sodium est plus important que chez le chien et les primates (KOHLARDT M. et KUBLER M., 1975 ; REUTER H. et SCHOLZ H., 1977).

Une diminution du courant entrant lent a été mise en évidence après blocage du métabolisme oxydatif grâce à des techniques de voltage imposé (KOHLARDT M. et KUBLER M., 1975 ; NARGEOT J., 1976). En effet, le nombre de canaux Ca^{++}/Na^+ est contrôlé par la phosphorylation de sites spécifiques de la membrane par l'AMP cyclique (SCHNEIDER J.A. et SPERELAKIS N., 1975 ; REUTER H. et SCHOLZ H., 1977) comme en témoignent l'augmentation du courant entrant lent calcico-sodique sous l'influence des catécholamines (REUTER H. et SCHOLZ H., 1977) et sa diminution lors de situations hypoxiques (SCHNEIDER J.A. et SPERELAKIS N., 1974).

Ces derniers auteurs ont montré (1975) que l'augmentation du contenu en ATP (iontophorèse,...) permet la restauration de la composante calcique des potentiels d'action déprimés par l'hypoxie.

L'ischémie et l'hypoxie (CORABOEUF E. et coll., 1958) provoquent une diminution de la durée des potentiels d'action à toutes les phases de la repolarisation des cellules du tissu myocardique contractile. Ce raccourcissement est lié à la diminution d'intensité du courant entrant lent et à une augmentation du courant potassique IK_p , elle-même dépendante de l'élévation de la concentration calcique intracellulaire (Mac DONALD T.F. et Mac LEOD D.P., 1973 ; MASCHERR D. et CARMELIET E., 1975 ; VLEUGELS A. et CARMELIET E., 1976). Le potassium extracellulaire en excès dépolarise les cellules, ce qui accroît la conductance potassique, en dépit d'un gradient de

concentration abaissé (WEIDMANN S., 1955). L'activité électrique cellulaire est donc complètement bouleversée par l'ischémie. Aux effets de l'hypoxie et de l'hyperconcentration potassique extracellulaire s'ajoutent ceux de l'acidose. Les potentiels d'action du tissu conducteur de chien s'allongent (à 90 % de la repolarisation) en acidose, et on peut noter une altération de la phase finale de repolarisation qui se traduit par des phénomènes de rebond "hump" susceptibles de déclencher une dépolarisation. Ces rebonds ("humps") pourraient être dus à une diminution du courant ik_2 et/ou à une augmentation du courant sodique entrant qui existe en fin de plateau (CORABOEUF E. et coll., 1980 ; COULOMBE A. et coll., 1980)

D - Modifications histologiques

Le subendocarde est définitivement lésé après 20 à 60 minutes d'occlusion coronaire chez le chien, alors que le subépicaire n'est touché qu'entre la 6ème et la 9ème heure de l'occlusion (REIMER KA. et coll., 1977). L'onde de nécrose se propage lentement du subendocarde vers le subépicaire ; la lenteur de cette propagation permet d'envisager des manoeuvres qui visent à limiter l'étendue des nécroses.

La microscopie électronique permet d'étudier finement (CAULFIELD J. et LKIONSKY B., 1959) les modifications cytologiques qui surviennent dans les premiers temps de l'ischémie ; ces études sont menées pour une large part chez le chien et le rat (HERDSON P.B. et coll., 1965 ; JENNINGS R.B. et coll., 1965 ; KLONER R.A. et coll., 1974 ; Mc CALLISTER B.P. et coll., 1977 ; BANKA V.S. et coll., 1978).

La séquence habituellement décrite comporte : (JENNINGS R.B. et coll., 1979) de 0 à 15 minutes d'ischémie :

- une dispersion et margination de la chromatine du noyau,
- une diminution du nombre des granules de glycogène,
- une perte de l'organisation des myofibrilles.

- Les dommages sont réversibles si la reperfusion intervient avant la 20ème minute.

- de 15 à 60 minutes d'ischémie :

- gonflement des mitochondries et rupture de leurs membranes externes et internes,
- la chromatine se condense en périphérie du noyau,
- disparition complète du glycogène,
- oedème du réticulum sarcoplasmique.
- la réversibilité est encore mal précisée et fait l'objet d'études et d'hypothèses nombreuses.

- après 60 minutes d'ischémie :

- oedème intracellulaire,
- fractures de la membrane sarcolemmique ; le glycocalyx semble intact,
- étirement des myofibrilles qui présentent des bandes "N" ou "I".

. Les dommages cellulaires sont irréversibles et entraînent la nécrose.

E - La zone bordante "Border-zone"

Il s'agit de la zone menacée de l'évolution nécrotique. Toute aggravation des conditions locales va la faire basculer vers la nécrose. Par contre, en l'état actuel des connaissances il semble raisonnable de tenter de sauver ces tissus. C'est à eux que s'adressent les interventions médicamenteuses ou mécaniques (thrombolyse in situ, désobstruction endovasculaire, rétroperfusion veineuse...). Les stratégies de prévention secondaire de l'infarctus du myocarde pourraient même en cas d'échec, avoir une influence bénéfique sur cette zone. Des travaux expérimentaux ont évalué aux alentours de 9 heures la durée de vie de cette zone. (FISHBEIN M.C. et coll., 1977 ; HILLIS L.D. et coll., 1977 ; MIURA M. et coll., 1979). Elle est plus étendue dans la zone sous épocardique que dans la zone sous endocardique (REIMER K.A. et coll., 1977). Les mêmes constatations ont été établies chez l'homme lors d'autopsies post-infarctus. L'existence d'une border-zone latérale est probable (FISHBEIN M.C. et coll., 1977 ; VOKONAS P.S. et coll., 1978 ; JUGDUTT B.I. et coll., 1978) mais plus discutée (FACTOR S.M. et coll., 1978) et dépend de la méthodologie employée pour la définir.

Cette différence est en bonne corrélation avec la disposition anatomique, l'innervation végétative, l'hémodynamisme de la circulation coronaire (KJEKSHUS J.K. et coll., 1972 ; BECKER L.C. et coll., 1973 ; KLONER R.A. et coll., 1976 ; HEARSE D.J. et coll., 1977, HIRZEL H.O. et coll., 1977, VOKONAS P.S. et coll., 1978). Des techniques histologiques et histochimiques ont mis en évidence une border-zone latérale dans les premières heures de l'infarctus alors que la séparation est très brutale (non graduée) entre les zones ischémiques et saines 24 heures après la ligature d'une coronaire (PAGE et POLIMERI P.E., 1977 ; KLONER R.A. et Coll., 1978, 1979 ; FACTOR S.M. et coll., 1978).

F - La reperfusion des territoires ischémiés

Diverses interventions sont capables, dans un nombre de cas encore limité de réaliser, chez l'homme en phase précoce de l'infarctus myocardique un rétablissement de la perfusion coronaire.

Cet acte a pour objectif de tenter de diminuer l'étendue de la nécrose ; les résultats chez l'animal sont très divers : chez le chien, on observe une diminution de la taille de l'infarctus (GINKS W.R. et coll., 1972 ; MAROKO P.R. et coll., 1972 ; LEAF A., 1973), une augmentation de la zone nécrosée (MATHUR V.S. et coll., 1975) et/ou l'apparition d'arythmies ; des aires hémorragiques sont créées chez le cochon (CAPONE R.J. et MOST A.S., 1975) : le même phénomène a été mis en évidence l'homme (LIE J.T. et coll., 1978).

La reperfusion peut accélérer la détérioration de certains territoires (COSTANTINI C. et coll., 1975 ; JENNINGS R.B. et coll., 1975). L'étude histologique de zones ischémiées reperfusées a montré une accélération des phénomènes de détérioration et de nécrose des cellules cardiaques. Les cellules accumulent de l'eau, du sodium, du chlore, du calcium et perdent du potassium (KLONER R.A. et coll., 1974 ; WHALEN D.A. et coll., 1974 ; JENNINGS R.B. et coll., 1975), la libération d'enzymes est considérablement accrue (CPK ; LDH...) (HEARSE D.J. et coll., 1973-1978). Ces phénomènes n'interviendraient que dans les tissus déjà irréversiblement atteints

(JENNINGS R.B. et coll., 1975) ; les cellules épicaudiques subissent moins ce phénomène car l'ischémie consécutive à une ligature de coronaire y est moindre. Ce phénomène est voisin de "l'oxygène paradox" qui est lui-même proche du "calcium paradox" (HEARSE D.J. et coll., 1978). La reperfusion peut maintenir en vie des tissus faiblement atteints, l'effet favorable n'étant perceptible que 1 à 4 semaines après le rétablissement de la circulation sanguine (THEROUX P. et coll., 1976 ; PURI P.S. et coll., 1975).

De nombreux auteurs mettent à profit les modifications intenses et rapides qu'entraîne la reperfusion pour étudier en particulier les substances considérées comme potentiellement cardioprotectrices.

IV - REVUE DES MOYENS UTILISES POUR PREVENIR LA NECROSE ET LUTTER CONTRE SON EXTENSION

Bien que cette revue n'ait pas pour but d'être exhaustive, elle prend souvent l'allure d'une énumération. Dans un but de synthèse nous rapportons un tableau établi par l'équipe de KLONER R.A. et BRAUNWALD E. (1980) faisant état des méthodes ayant conduit à des travaux significatifs.

PLAN

TABLEAU (d'après KLONER R.A. et BRAUNWALD E., 1980)	35
1 <u>Augmentation de l'apport d'oxygène au myocarde ischémié</u>	38
1.1. <u>L'oxygène</u>	
1.2. <u>Les vasodilatateurs coronariens</u>	
2 <u>Les agents qui augmentent l'apport de substrats aux cellules</u>	39
2.1. <u>La hyaluronidase</u>	
2.2. <u>Le glucose - insuline - potassium (GIK)</u>	
Voir également le chapitre : modification du métabolisme des glucides	
3 <u>Les agents qui stabilisent les membranes et diminuent l'inflammation</u>	40
3.1. <u>Les glucocorticoïdes</u>	
3.2. <u>Les antiinflammatoires non stéroïdiens</u>	
4 <u>Le mannitol</u>	41
5 <u>Les inhibiteurs des récepteurs bêta-adrénergiques</u>	42
5.1. <u>Les effets des catécholamines sur le myocarde ischémié</u>	42
5.2. <u>Effets du blocage des récepteurs bêta-adrénergiques sur le myocarde ischémié</u>	43
5.2.1 <u>Etudes expérimentales</u>	43
5.2.1.1. <u>Expériences réalisées sur animal entier</u>	45
5.2.1.2. <u>Expériences réalisées sur des coeurs isolés</u>	47
5.2.1.2.1. Animaux non prétraités	
5.2.1.2.2. Animaux prétraités	
5.2.2 <u>Etudes cliniques</u>	
5.3. <u>"Résumé"</u>	52

6	<u>Les inhibiteurs du canal lent</u>	53
6.1.	<u>Présentation de ces substances</u> <u>Propriétés pharmacologiques</u>	53
6.2.	<u>Etudes sur le myocarde ischémié</u>	55
6.2.1	<u>Etudes expérimentales</u>	55
6.2.1.1.	<u>Animal entier : ligature d'une coronaire</u>	55
	Mesure des débits sanguins zone saine/zone ischémiée Mesures électrophysiologiques	
	Mesures biochimiques Etudes histologiques	
6.2.1.2.	<u>Coeurs isolés perfusés</u>	59
6.2.1.3.	<u>Cultures cellulaires</u>	61
6.2.1.4.	<u>Etudes in vitro sur des fragments de coeur</u>	61
6.2.2.	<u>Etudes cliniques</u>	62
6.3.	<u>Le "calcium paradox"</u>	64
6.3.1	Présentation du "calcium paradox"	
6.3.2	Effets des inhibiteurs du calcium	
6.4.	<u>"Résumé"</u>	68
7	<u>Substance "économiseur d'oxygène"</u> <u>Le piridoxilate</u>	69
7.1.	Mécanismes d'action	69
7.2.	Effets sur le myocarde ischémié	72
7.3.	"Résumé".	72

TABLEAU
d'après KLONER R.A. et BRAUNWALD E. (1980)

Les manoeuvres qui modifient la taille de la nécrose
consécutives à l'ischémie

A : Les manoeuvres qui diminuent les dommages myocardiques consécutifs à la ligature
d'une coronaire

1 Diminution de la demande d'oxygène

- Propranolol (cl),
- Diminution du rayon de courbure des fibres myocardiques (hétérosides cardiotoniques sur coeurs insuffisants) (cl),
- Assistance circulatoire par ballon intraaortique,
- Diminution de la postcharge,
- Inhibiteurs du canal lent,
- Hypothermie.

2 Augmentation de l'apport en oxygène

a) direct

- reperfusion coronarienne (cl),
- élévation de la pO_2 artérielle.

b) par les vaisseaux collatéraux

- élévation de la pression de perfusion coronarienne par la méthoxamine, la néosynéphrine ou la norépinéphrine (cl)
- rétroperfusion du territoire ischémié par le système veineux (cl),

- vasodilatation : inhibiteurs du canal lent,
prostacycline

c) redistribution favorable du flux sanguin vers la zone ischémique

- dérivés nitrés,
- inhibiteurs des récepteurs bêta-adrénergiques.

3 - Augmentation de l'osmolalité plasmatique

- Mannitol,
- Glucose hypertonique.

4 - Augmentation (présumée) du métabolisme anaérobie

- Glucose - insuline - potassium (GIK) (cl),
- Glucose hypertonique.

5 - Augmentation (présumée) de l'apport de substrat vers la zone ischémisée

- Hyaluronidase (cl)

6 - Protection (supposée) contre les processus auto et hétérolytiques

- Glucocorticoïdes,
- Facteurs de venin de cobra,
- Aprotinine,
- Antiinflammatoires non stéroïdien.

B : Les manoeuvres qui augmentent les dommages myocardiques consécutifs à la ligature d'une coronaire

1 Augmentation des besoins en oxygène

- Isoprénaline,
- Glucacon,
- Ouabaïne (coeur non insuffisant),
- Tosylate de Brétylium,
- Tachycardie (cl)
- Hyperthermie.

2 Diminution des apports en oxygène

a) Directe

- hypoxémie (cl)
- anémie (cl)

b) par les vaisseaux collatéraux

- réduction de la pression de perfusion (hémorragie)
- redistribution non favorable du flux sanguin aux zones ischémiées

3 Diminution de la disponibilité en substrats

- Hypoglycémie (cl),

(cl) : Des études cliniques ont mis en évidence l'efficacité de ces interventions.

I Augmentation de l'apport d'oxygène au myocarde ischémié

1.1. L'oxygène

L'inhalation d'un mélange à 40 % ou 100 % d'O₂ par un chien subissant une ligature de coronaire diminue la taille de la nécrose cardiaque (MAROKO P.R. et coll., 1975) ; par contre l'inhalation d'un mélange à 10 % en augmente la taille (RADVANY P. et coll., 1975). L'oxygène pourrait améliorer favorablement la redistribution de la circulation collatérale de la zone saine vers la zone ischémiée (RIBEIRO L.G.T. et coll., 1979). MADIAS J.E. et coll. (1976) observent une réduction de l'élévation du segment ST en faisant respirer 100 % d'O₂ à des malades subissant un infarctus antérieur.

1.2. Les vasodilatateurs coronariens

Les résultats sont très controversés. Pour certains auteurs (MYERS R.W. et coll., 1975 ; JUGDUTT B. et coll., 1978 ; HILLIS L.D. et coll., 1979) la nitroglycérine diminue l'ischémie et la taille de l'infarctus (diminution de l'élévation du segment ST, observations histologiques, pression partielle en Co₂...), pour d'autres (FUKUYAMA T. et coll., 1975) elle n'a aucun effet. Le nitroprussiate peut accroître la taille de l'infarctus en dilatant les coronaires saines plus que les coronaires atteintes (CHIARIELLO M. et coll., 1977). C'est le classique détournement ou vol coronarien.

Selon BORET et coll. (1975), la nitroglycérine ne réduit l'élévation du segment ST que chez des patients infarcis insuffisants cardiaques ; chez les non insuffisants, l'addition de phényléphrine à la nitroglycérine est nécessaire pour observer la diminution de l'élévation du segment ST. COME et coll. (1975) trouvent que la nitroglycérine diminue l'élévation du segment ST chez ses patients infarcis mais que l'addition de phényléphrine annule ce résultat. BRANCHON J.M. et coll. (1979) ont montré que la nitroglycérine pouvait augmenter l'incidence des arythmies sans diminuer la taille de l'infarctus (mesure des CPK plasmatiques) alors que MIHALICK M.J. et coll. (1974) et EPSTEIN S.A. et coll. (1975) mettaient en évidence un effet antiarythmique. L'action des vasodilatateurs est complexe puisqu'ils agissent à la fois sur la précharge, la postcharge, le tonus coronarien et indirectement sur la tension pariétale qui conditionne le flux coronarien. Selon KLONER R.A. et BRAUNWALD E. (1980) leurs effets dépendent des conditions basales initiales.

2 Les agents qui augmentent l'apport de substrats aux cellules

2.1. La Hyaluronidase

Chez le chien (MAROKO P.R. et coll., 1972 ; HOFFMANN M. et coll., 1979) et le rat (MAC LEAN D. et coll., 1976) la hyaluronidase diminue la taille de l'infarctus à la suite d'une ligature de coronaire (mesures électriques, biochimiques, histologiques), mais chez le cochon elle est inefficace (MOST A.S. et coll., 1976) à cause de la faible circulation collatérale.

MAROKO P.R. et coll. (1975 ; 1977) ont montré que la hyalurodinase réduit la sévérité de l'ischémie (enregistrement électrocardiographique précordial) et qu'elle limite chez l'homme la taille de l'infarctus.

En "cassant" l'acide hyaluronique des tissus interstitiels elle facilite la diffusion des substrats dans la zone ischémisée et facilite l'évacuation des oedèmes.

2.2. Le glucose - insuline - potassium (G.I.K.)

voir également le chapitre : Modifications du métabolisme des glucides.

Cette association est supposée améliorer le métabolisme des cellules ischémisées en favorisant la glycolyse anaérobie et en diminuant le métabolisme des lipides. D'autre part il est bien établi que l'insuline facilite l'entrée du potassium dans les cellules.

Après une ligature de coronaire le G.I.K. augmente chez le chien la différence artério-veineuse en glucose au niveau cardiaque et diminue celle en acides gras libres ; il augmente la quantité de glycogène dans la zone qui entoure l'infarctus. (OPIE L.H. et OWEN P., 1976). Le G.I.K. retarde la mort des cellules ischémisées comme en témoignent des mesures d'activités électriques, enzymatiques et des études histologiques (SODI-PALLARES D. et coll., 1962 ; MAROKO P.R. et coll., 1972 ; OPIE L.H. et coll., 1975). Une étude récente chez le chien n'a pas montré de réduction de taille de l'infarctus, mais une diminution de la fréquence des arythmies et une amélioration

de la fonction ventriculaire gauche (HENG M.K. et coll., 1978).

Chez l'homme, le G.I.K. diminue l'utilisation des lipides et favorise celle du glucose par le coeur infarci, il augmente le débit sanguin sinusal et diminue la résistance des coronaires (STANLEY A.W. et coll., 1975 ; ROGERS W.J. et coll., 1977). Une étude récente n'a pas montré de diminution de la taille de l'infarctus mais, comme chez le chien, une diminution de la fréquence des fibrillations ventriculaires et une amélioration de la fonction ventriculaire gauche (ROGERS W.J. et coll., 1979).

3 Les agents qui "stabilisent" les membranes et diminuent l'inflammation

3.1. Les glucocorticoïdes

les résultats sont ici aussi controversés voire contradictoires. Les glucocorticoïdes peuvent agir en :

- Stabilisant les membranes lysosomales, donc en empêchant le relargage d'enzymes qui participeraient à la nécrose cellulaire.
- Stabilisant les autres membranes et en particulier la membrane sarcolemmique.
- Diminuant la réponse inflammatoire.

Selon certains auteurs, les glucocorticoïdes réduisent la taille de l'infarctus chez le chien, le rat et le lapin (LIBBY P. et coll., 1973 ; SHATNEY C.H. et coll., 1976 ; MAC LEAN D. et coll., 1978 ; HARDEN W. et coll., 1979). Cet effet bénéfique a également été trouvé chez l'homme (MORISSON J. et coll., 1976).

La méthylprednisolone retarde la désintégration des myocytes nécrotiques et leur confère un aspect de cellules "momifiées" en préservant l'architecture cellulaire (KLONER R.A. et coll., 1978) ; elle retarde le processus inflammatoire.

Pour d'autres, les corticoïdes ne réduisent pas la taille de la nécrose aussi bien chez les animaux que chez l'homme (OPDYKE D.F. et coll., 1953 ; VOGEL W.M. et coll., 1977). Ils peuvent d'autre part augmenter la taille de la nécrose et le nombre d'arythmies (ROBERTS R. et coll., 1975) et provoquer la formation d'anévrismes ventriculaires (BULKLEY B.H. et coll., 1974).

KLONER R.A. et BRAUNWALD E. (1980) pensent que de fortes doses aggravent les lésions et empêchent la guérison alors que de faibles doses sont bénéfiques pendant la phase aiguë de l'infarctus.

3.2. Les antiinflammatoires non stéroïdiens (on peut en rapprocher la prostacycline)

L'ibuprofen et le flurbiprofen diminuent la taille de l'infarctus (RIBEIRO L.G.T. et coll., 1979 ; DARSE J.R. et coll., 1980) ; la prostacycline qui est de plus vasodilatatrice est également efficace (LEFER A.M. et coll., 1978, OGLETREE M.L. et coll., 1979 ; ARAKI H. et coll., 1980 ; SCHROR K. et coll., 1980 ; SAKAI K. et coll., 1982).

4 Le Mannitol

L'œdème cellulaire est une des premières conséquences de l'ischémie : il est donc logique de tenter d'utiliser des solutions hyperosmolaires pour prévenir ou combattre ce phénomène.

Le mannitol réduit les lésions cellulaires provoquées par de courtes occlusions coronaires (40 minutes) chez le chien (KLONER R.A. et coll., 1976 ; POWELL W.J. et coll., 1976), mais il ne réduit pas les lésions consécutives à des occlusions prolongées (24 heures) (FIXLER D.E. et coll., 1977 ; HIRZEL H.O. et coll., 1977). Il faut rappeler ici que le mannitol augmente les résistances coronaires et que d'autre part toute augmentation de l'osmolalité peut entraîner des effets indésirables au niveau du système nerveux central (convulsions).

5 Les inhibiteurs des récepteurs bêta-adrénergiques

Avant d'étudier l'action des bêta-bloquants pour la préservation du myocarde ischémié, il convient de rappeler brièvement les effets des catécholamines sur le myocarde

5.1. Effets des catécholamines sur le myocarde ischémié

Les concentrations plasmatiques de catécholamines sont élevées chez les patients qui présentent un infarctus du myocarde (VALORI et coll., 1967 ; VIDEBACK J. et coll., 1972) ; de plus les tissus ischémiés libèrent et/ou ne recaptent plus leurs catécholamines endogènes (WOLLENBERGER et coll., 1965). L'ischémie plus que l'hypoxie favorise le relargage de noradrénaline et l'hyperkaliémie participe pour une large part à cette fuite (DIETZ R. et coll., 1981). Les catécholamines endogènes aggravent les lésions cellulaires liées à l'ischémie (GAUDUEL Y. et coll., 1979 ; HUMPHREY S.M. et coll., 1982).

L'élévation du tonus sympathique serait déclenchée par la douleur et le stress de l'infarctus mais serait un mécanisme physiologique qui permettrait au tissu sain d'accroître sa contractilité et de compenser ainsi la perte d'activité mécanique du territoire ischémié (BAUMANN G. et coll., 1981). En cas de défaillance cardiaque secondaire à un infarctus, une perte de sensibilité à la stimulation bêta-adrénergique a été mise en évidence. Le mécanisme exact de cette perte de réactivité vis à vis des catécholamines n'est pas exactement connu mais il a été montré que le nombre de récepteurs diminue (Down - regulation) et que l'affinité des récepteurs restants est réduite vis à vis de l'isoprotérénol et de la tyramine chez le coeur de cobaye, 3 jours après la création d'un infarctus (BAUMANN G. et coll., 1981).

L'augmentation du tonus sympathique accélère le rythme (et diminue le rapport temps de diastole/temps de systole et donc la perfusion myocardique) et augmente la contractilité cardiaque entraînant une dépense métabolique mal supportée dans cette situation : on assiste alors à l'extension des lésions.

Les catécholamines ont d'autres effets défavorables sur le coeur ischémié.

- Elles diminuent le seuil de fibrillation ventriculaire : cette diminution serait due à une augmentation du taux d'AMP cyclique (PODZUWEIT T. et coll., 1976, 1978 ; CORR P.B. et coll., 1978).
- Elles augmentent l'entrée de calcium dans les cellules (augmentation de la force de contraction donc dépense énergétique supplémentaire) ; on connaît l'effet néfaste du calcium sur les cellules ischémiées. (FLECKEINSTEIN A., 1975).

Même dans des conditions considérées comme physiologiques, HORAK A.F. et coll. (1980) ont mis en évidence que l'adrénaline et la noradrénaline augmentent la fuite enzymatique de coeur isolé et ischémié de rat. WALDENSTROM A.P. et coll. (1977) ont montré que la noradrénaline accélère cette fuite enzymatique quand les coeurs sont ischémiés.

L'administration répétée de fortes doses d'isoprotérenol entraîne chez le rat de multiples nécroses myocardiques. Cette technique a été proposée comme modèle d'ischémie expérimentale du myocarde (FERRANS V.J. et coll., 1969 ; MUELLER E.A. et coll., 1977).

- Les catécholamines d'autre part activent la glycolyse et favorisent ainsi le métabolisme du glucose, ce qui en ischémie pourrait être favorable (WOLLENBERGER A. et coll., 1966) ; par contre elles activent aussi la lipolyse des triglycérides endogènes et augmentent ainsi les besoins d'oxygène (CHALLONER D.R. et coll., 1966) ; la libération des acides gras qui en résulte aggrave les lésions membranaires (De LEIRIS J. et coll., 1975).
- La noradrénaline et l'hyperkaliémie provoquent une constriction des coronaires.
- La noradrénaline est thrombocyto-agrégante.

5.2. Effets du blocage des récepteurs bêta-adrénergiques sur le myocarde ischémié

5.2.1 Etudes expérimentales

Les études expérimentales de cardioprotection sont réalisées soit sur des animaux entiers qui subissent une ligature de coronaire (le plus souvent le chien) mais aussi sur des coeurs isolés perfusés (de rats, de lapins...) qui subissent une ischémie globale ou localisée. De multiples paramètres sont choisis pour mesurer l'importance de l'ischémie.

- 1) mesure des débits sanguins en zones ischémiques et saines
- 2) mesures électrophysiologiques - vitesse de conduction en zone ischémique et saine - élévation du segment ST...
- 3) mesures biochimiques : dosages des réserves énergétiques intracellulaires, dosage des enzymes cardiaques, mesure du fonctionnement mitochondrial...
- 4) étude histologique de l'extension de la zone ischémisée et nécrotique.

Les études sont menées pour rechercher le pouvoir "cardioprotecteur" des inhibiteurs des récepteurs bêta-adrénergiques et pour mettre éventuellement en évidence le rôle que pourraient jouer les propriétés accessoires que présentent un certain nombre d'entre eux. Ces propriétés sont rappelées dans le tableau ci-dessous.

INHIBITION DES RECEPTEURS BETA ADRENERGIQUES	ACTIVITE STIMULANTE INTRINSEQUE DES RECEPTEURS BETA-ADRENERGIQUES	EFFET ANESTHESIQUE LOCAL
Propranolol 1	0	+
Acébutolol 0,2	+	+ ou -
Alprenolol 1	+	+
Oxprénolol 1	+	+
Pindolol 20	+	+ ou -
Practolol 0,3	+	0
Sotalol 0,4	0	+ ou -
Penbutolol 4	+	0
Tolamolol 0,5	0	0
Timlolol 8	0	0
Atenolol 1	0	0

5.2.1.1. Animal entier

En utilisant la ligature de coronaire de chien comme modèle d'infarctus, REIMER K.A. et coll. (1973, 1976) ont montré que le propranolol réduit la taille de la nécrose cardiaque (analyse histologique du muscle papillaire postérieur), mais des études plus récentes n'ont pas retrouvé ce résultat favorable (JENNINGS R.B. et coll., 1978 ; GORCZYNSKI R.J. et coll., 1981). Dans l'étude de REIMER K.A. de 1976, l'efficacité de la drogue était dose-dépendante et fonction de la précocité d'administration.

En revanche, GORCZYNSKI R.J. et coll. (1981) n'observent pas de protection même quand le propranolol est administré en préventif. Selon ces derniers auteurs, le propranolol ne manifesterait une action cardioprotectrice franche qu'au moment de la reperfusion du territoire ischémié. On peut penser que le propranolol (dans les expériences où il est efficace) diminue la taille de l'infarctus en allégeant le travail cardiaque (rythme, contractilité), donc les demandes d'oxygène. La diminution du rythme cardiaque par le propranolol serait donc un des facteurs d'efficacité de ce médicament, mais certains auteurs (MAROKO P.R. et coll., 1971 ; REIMER K.A. et coll., 1976 ; HILLIS L.D. et coll., 1979) ont montré dans des expériences où la fréquence est maintenue constante que le propranolol conserve son activité cardioprotectrice. En revanche pour BUCK J.D. et coll. (1979), l'effet bénéfique ne serait fonction que de la bradycardie qu'occasionne le propranolol. D'autres études ont montré que le propranolol réduit le débit sanguin à la fois en zone saine et en zone ischémiée, bien qu'une diminution de l'élévation du segment ST soit observée (KLONER et coll., 1976 ; HILLIS L.D. et coll., 1979). L'amélioration du comportement électrique ne serait donc pas fonction d'un accroissement du débit coronarien absolu ou relatif en zone ischémiée mais d'une diminution des besoins cardiaques en oxygène et substrats. Nous pouvons exprimer cet effet des inhibiteurs des récepteurs béta-adrénergiques par la formule suivante : bien que ces substances soient indiscutablement vasoconstrictives, le rapport diminution des besoins en oxygène et substrats/diminution du flux coronaire est supérieur à 1, c'est-à-dire que la quantité d'oxygène et de substrats pour chaque unité de travail est augmentée aussi bien au repos qu'à l'effort ou durant un "stress".

Dans un travail chez le chat, de SMITH E.F. et coll., 1982, le timolol se révèle capable de diminuer l'étendue de l'infarctus, le blocage des récepteurs bêta-adrénergiques se manifeste par une diminution du rythme cardiaque et une faible chute de la pression artérielle et par des modifications métaboliques : retard à la chute d'ATP dans le myocarde ischémié (confirmé par des travaux de OBEID A. et coll., 1976). On sait aussi que l'inhibition des récepteurs bêta-adrénergiques (par du propranolol) inhibe la glycolyse et la lipolyse (MASTERS T.N. et coll., 1969).

D'autre part il a été démontré que le propranolol diminue la production d'acide lactique et empêche la chute de pH dans les zones ischémiées (ANDRIEU J.L. et coll., 1980). Le d. et le l. propranolol manifestent de façon identique cette propriété (ABIDO Y. et coll., 1980) ; or le d. et le l. propranolol ont le même pouvoir anesthésique local mais le d. propranolol est 20 à 100 fois moins bêta-bloquant que le l. L'effet anesthésique local semblerait donc conférer ce pouvoir sur le métabolisme cellulaire, mais il faut rappeler qu'il n'y a pas de travaux qui ont attribué cette propriété à des substances purement anesthésiques locales et que le sotalol (qui n'est pas anesthésique local) empêche également la chute de pH en zone ischémiée. (ICHIHARA K. et coll., 1979). Certains auteurs tentent d'expliquer ces constatations en proposant que le pouvoir bêta-bloquant du d. propranolol est insuffisant pour agir sur l'hémodynamisme mais suffisant pour modifier le métabolisme cellulaire. KANTER K.R. et coll. (1981) ont montré que dans des conditions d'ischémie très particulières (solution cardioplégique à 37 meq de K à 15°C pendant 90 minutes, puis reperfusion à 37°C pendant 60 minutes) que le propranolol protégeait le cœur de chien. Dans ces conditions, le cœur est arrêté par l'hyperconcentration potassique externe et la protection ne dépend donc plus d'une action hémodynamique, mais certainement d'une modification du métabolisme cellulaire.

Les mitochondries, responsables de la production d'ATP se révèlent sensibles à l'ischémie ; elles pourraient jouer un rôle important dans la constitution des lésions ischémiques myocardiques. KLONER R.A. et coll. (1978) ont constaté que le propranolol exerçait un plus grand effet sur les

mitochondries (en retardant l'installation des processus oedemateux à leur niveau) que sur n'importe quelle autre structure cellulaire. Ceci semble corroborer l'hypothèse d'un mécanisme d'action du propranolol lié à une réduction de la demande en oxygène. De plus un blocage des récepteurs β_1 par le métoprolol empêche l'accumulation d'Acyl-coA dans les mitochondries ischémiées et on sait que cette accumulation inhibe le transport de l'ATP vers le cytoplasme (NAMKI M., 1981).

On sait d'autre part que l'accumulation d'AMP cyclique dans les cellules cardiaques ischémiées serait un facteur arythmogène. KRAUSE E.G. (1979) observe une diminution de l'AMP cyclique dans les cellules ischémiées sous propranolol à la différence de MULLER et coll. (1979), qui de plus n'enregistrent pas une diminution du nombre des fibrillations ventriculaires. D'après OPIE L.H. (1981), d'autres mécanismes tels que l'inhibition des phosphodiésterases entraînent en ischémie une augmentation de l'AMP cyclique et expliquent le manque d'efficacité des béta-bloquants dans la réduction de l'accumulation d'AMP cyclique et dans la suppression des troubles du rythme.

Il semble se confirmer que l'effet béta β -bloquant soit le support de la cardioprotection ; en étudiant l'aténolol, le nadolol et le propranolol, BURMEISTER W.E. et coll. (1981) ont montré que ni la cardiosélectivité ni l'effet anesthésique local n'intervenaient dans la limitation de la taille de la nécrose myocardique.

5.2.1.2. Expériences réalisées sur des coeurs isolés

Les travaux réalisés sur ce type de préparation sont très nombreux. Les résultats de l'évaluation des effets cardioprotecteurs des inhibiteurs des récepteurs béta-adrénergiques sont discordants.

Il nous a semblé nécessaire de séparer 2 types de travaux. Les premiers sont menés sur des coeurs isolés prélevés chez des animaux non prétraités par l'inhibiteur des récepteurs béta-adrénergiques étudié. Les seconds sont menés sur des animaux prétraités pendant des durées plus ou moins longues par la substance à évaluer.

5.2.1.2.1. Animaux non prétraités

Des coeurs isolés de chats présentent après une heure d'ischémie et une heure de reperfusion des dommages cellulaires importants (séparation des myofibrilles, rupture du sarcomère, lésion des mitochondries) alors que les coeurs traités par le propranolol et l'aténolol 10 minutes avant l'installation de l'ischémie conservent une intégrité structurale (BUSH L.R. et coll., 1980) ; le même type de protection a été observé par MAGEE P.G. et coll. (1980). CHIONG M.A. et coll. (1980) observent une protection de coeurs isolés de lapin même quand le propranolol n'est administré que pendant la reperfusion (diminution de la fuite de CPK et préservation des réserves énergétiques).

Des résultats tout à fait opposés ont été rapportés par différents auteurs. HARDEN W. et coll. (1979) n'ont pas observé d'effets protecteurs du propranolol sur des coeurs isolés et ischémiés de lapin. Pour EDOUTE Y. et coll. (1979), ce produit n'exerce aucune protection ni cytologique ni biochimique sur des coeurs isolés et ischémiés de rats, mais préserve quand même le stade 3 QO_2 des phosphorylations oxydatives. WINSLOW E. et coll. (1980) ont même rapporté une augmentation de la fuite des LDH lors de la reperfusion sous propranolol (coeurs isolés de rats).

ARMIN T.V. et coll. (1981) ont montré que seules des concentrations élevées de propranolol qui possèdent un effet membranaire hors récepteur dit "quinidine - like" sont susceptibles d'exercer une cardioprotection sur ce modèle. Ces résultats ont été critiqués et contredits par MANNING A.S. et coll. (1981). Ces auteurs ont démontré que la cardioprotection n'apparaît que lorsque la préparation est exposée à un stimulant des récepteurs bêta-adrénergiques. L'addition de catécholamines simule l'élévation du tonus sympathique et remplace le "pacing" électrique ; dans ces conditions, seul l'isomère l. est efficace et les doses sont purement bêta-bloquantes.

L'effet protecteur du propranolol ou d'un autre bêta-bloquant est attribué à son pouvoir purement bêta-bloquant ou dans certains cas à son effet membranaire hors récepteur, mais un mécanisme de type antagoniste des mouvements du calcium a été proposé par certains auteurs. La perfusion dès la phase de stabilisation de l. et de d. propranolol (1 mg/l), mais aussi de vérapamil (0,1 mg/l)

(inhibiteur du canal lent) diminue la fuite de CPK et favorise le retour de l'activité électrique de coeurs isolés de cobayes, soumis à une ischémie de 40 minutes puis reperfusés. Par contre l'oxprenolol (l) et (d) (1 mg/l) n'a aucun effet bénéfique. La "protection" ne dépend pas de l'activité béta-bloquante puisque les 2 isomères du propranolol sont efficaces et que les deux isomères de l'oxprenolol sont inefficaces ; l'effet membranaire hors récepteur peut être exclu car les 2 béta-bloquants étudiés possèdent cette propriété. Par contre, l'efficacité du propranolol (1 mg/l) est identique à celle du vérapamil (0,1 mg/l). Selon TRUOG A. et coll. (1979), la protection obtenue par le propranolol dépendrait d'un effet de type antagoniste des mouvements du calcium. MEZGER V.A. et coll. (1980) ont montré sur la même expérience (coeur isolé de cobaye) que le d-l propranolol a le même pouvoir protecteur que le d-l vérapamil et que le d-l oxprénolol est moins efficace. Les doses de propranolol sont faibles (0,4 à 10^{-8} M), mais les auteurs attribuent néanmoins l'effet protecteur du propranolol à une inhibition de l'entrée du calcium. Ce type de protection est également attribué par VOGEL W.M. et coll. (1980) au diméthylpropranolol.

Si à l'évidence, le blocage des récepteurs β_1 -adrénergiques joue un rôle essentiel (si ce n'est exclusif) dans les propriétés cardioprotectrices des inhibiteurs béta-adrénergiques, en ce qui concerne les propriétés accessoires de cette famille, le rôle éventuel joué par les effets membranaires hors récepteur n'est pas clairement établi. En ce qui concerne le pouvoir agoniste partiel résiduel, il semble qu'il joue un rôle néfaste (Cf. étude de l'oxprenolol). En effet, MANNING A.S. et coll. (1980) ont établi que la fuite enzymatique est moins ralentie par les substances possédant cette propriété (oxprénolol) que par les inhibiteurs des récepteurs béta-adrénergiques qui en sont dépourvus (propranolol).

5.2.1.2.2. Animaux prétraités

Ce type d'étude est intéressant d'un point de vue clinique car les malades angineux traités par béta-bloquants sont toujours susceptibles de présenter un infarctus myocardique. On sait que l'arrêt brutal de l'administration des inhibiteurs des récepteurs béta-adrénergiques chez les angineux peut entraîner une exacerbation du

syndrome angineux, un état de mal angineux voire un infarctus. Ces accidents de sevrage semblent en rapport avec une multiplication du nombre des récepteurs béta-adrénergiques (non exprimé) durant l'exposition prolongée aux inhibiteurs des récepteurs béta-adrénergiques (de plus une modification de la sensibilité est invoquée). De nombreuses études ont évalué ce phénomène de "UP REGULATION" en termes chronologiques et quantitatifs.

KEOGH J.M. et coll. (1981) et MANNING A.S. et coll. (1981) ont traité des rats pendant 3 semaines avec du propranolol et de l'oxprenolol (4 mg/Kg/jour), puis les coeurs sont isolés et perfusés (coeurs travaillant) ; pendant la période de stabilisation, les coeurs de rats traités sont plus performants. Les préparations sont ensuite soumises à une ischémie de 30 minutes sous isoprénaline, puis reperfusées. La récupération de l'activité mécanique est meilleure dans les groupes traités ainsi que la récupération du taux de créatine phosphate et de glycogène. Un béta-blocage chronique des récepteurs béta-adrénergiques protège donc des coeurs isolés et ischémiés en présence de catécholamines ; l'oxprenolol qui manifeste une activité sympathomimétique intrinsèque facilite davantage que le propranolol le retour à une fréquence normale. Ce résultat ne corrobore pas celui qu'avaient obtenu MANNING A.S. et coll. (1980) en administrant en aigu du propranolol et de l'oxprénolol à des coeurs isolés et ischémiés de rats : dans cette expérience, les coeurs traités par l'oxprénolol sont moins protégés pendant l'ischémie que ceux traités par le propranolol (mesure de la fuite de CPK).

Cette différence est difficilement interprétable et nécessite d'autres investigations, mais justifie certainement l'utilisation de prétraitements quand on étudie les béta-bloquants, d'autant plus que TASGAL J. et VAUGHAN-WILLIAMS E.M. (1981) ont montré que l'administration de propranolol (3 mg/Kg/jour) pendant 41 jours à des lapins de 6 semaines augmente le nombre de capillaires dans le muscle ventriculaire. Il est possible que le développement du réseau capillaire myocardique limite l'extension des nécroses consécutives à l'obstruction d'une coronaire. Un blocage chronique des récepteurs béta-adrénergiques protège également les mitochondries des effets de l'ischémie : en effet NAYLER W.G. et coll. (1980), ont montré que les mitochondries de coeurs de lapins prétraités par du propranolol (du vérapamil et de la nifedipine) pendant 4 à 5 jours sont plus résistantes à l'ischémie (90 minutes) induite sur les coeurs isolés et reperfusés (30 minutes). A l'issue de la reperfusion, la concentration calcique intramitochondriale est moindre dans les séries traitées et l'intensité des oxydations phosphorylantes y est supérieure.

S'il semble admis que le prétraitement par bêta-bloquant diminue sur ce modèle l'extension des nécroses consécutives à l'ischémie, il n'en est pas de même pour la réduction du nombre des fibrillations ventriculaires qu'engendre la reperfusion. MANNING A.S. et coll. (1981) ont prétraité 3 semaines des cobayes par de l'acébutolol (50 mg/Kg/jour) avant de prélever les coeurs et de les soumettre in vitro à une ischémie puis à une reperfusion. Ce prétraitement ne diminue pas mais favorise l'apparition de troubles du rythme et de fibrillation pendant la reperfusion tout en empêchant l'augmentation du taux d'AMP cyclique. Un autre groupe de cobayes ne fut pas prétraité mais soumis in vitro à une perfusion d'acébutolol (3 mg/l) : les auteurs ont constaté une diminution du nombre des troubles du rythme mais une augmentation du taux d'AMP cyclique. Ce bêta-bloquant serait donc antiarythmique par son effet stabilisant de membrane et non par son effet inhibiteur des récepteurs bêta-adrénergiques. Etant donné la dose très élevée utilisée dans cet essai, il n'est pas possible d'exclure le rôle du pouvoir agoniste partiel que possède cet inhibiteur des récepteurs bêta-adrénergiques.

5.2.2 Etudes cliniques

Il est admis que l'administration d'inhibiteurs des récepteurs bêta-adrénergiques en prophylaxie, ou dans les premières heures qui suivent un infarctus expérimental chez le chien réduit la taille de la nécrose (BRAUNWALD E. et coll., 1974). Il n'est pas encore parfaitement démontré que cette thérapeutique ait le même succès chez l'homme car les protocoles d'étude sont encore imparfaitement standardisés : ils sont lourds et extrêmement onéreux s'ils veulent enlever la conviction. Leurs résultats demeurent discutables, en dehors de la preuve d'un effet de prévention secondaire de l'infarctus du myocarde tant qu'un procédé de mesure de la taille de l'infarctus ne sera pas utilisable en routine clinique. La courbe de l'évolution de l'activité plasmatique des enzymes cardiaques (CPK, LDH) est l'examen le plus utilisé ; il est cependant, nous l'avons vu, indirect et imprécis.

- L'administration de propranolol dans les 4 heures qui suivent le début des douleurs thoraciques diminue la fuite de CPK (PETER T. et coll., 1978).

- L'administration de métoprolol peu de temps après le début de l'infarctus diminue le pic de LDH I + LDH II (étude réalisée en double aveugle, lot témoin : 177 patients, lot traité : 183 patients) (HJALMARSON A., 1979).
- Le même type de résultat a été observé avec l'alprenolol (diminution des CPK, modifications des ondes Q et R) (YUSUF S., 1980).
- Une étude à long terme a montré que le propranolol diminue la mortalité (8,9 % contre 12,5 %) dans les 3 ans qui suivent un infarctus myocardique quand le traitement débute avant la fin de la 3ème semaine qui suit l'infarctus (JONES R.J., 1982).
- Toutes les études ne sont cependant pas unanimes ; c'est ainsi que TONKIN A.M. (1981) n'observe aucun effet bénéfique du timolol (pas de diminution de la taille de la nécrose, même incidence des arythmies, des défaillances cardiaques et de la mortalité).

5.3. "Résumé"

Les résultats observés chez l'homme, s'ils sont moins précisément établis, semblent confirmer les études expérimentales. Aucun essai clinique ne vient contredire leurs conclusions. Le blocage des récepteurs β_2 -adrénergiques, l'activité agoniste partielle et les effets membranaires hors récepteurs bien que parfois évoqués semblent jouer un rôle secondaire. Aucune étude clinique n'a mis en évidence de différence statistique significative entre les inhibiteurs des récepteurs β -adrénergiques purs et les autres représentants de cette famille.

6 - Les inhibiteurs du canal lent

6.1. Présentation de ces substances

Propriétés pharmacologiques

Ces drogues (parmi lesquelles le vérapamil, le diltiazem et le nifédipine sont les plus utilisés en clinique) sont à l'origine d'un progrès important de la pharmacologie cardiovasculaire. S'il est reconnu qu'elles soulagent la douleur angineuse et suppriment certaines arythmies, leurs effets "protecteurs" du myocarde ischémié et même préventif de l'infarctus sont soupçonnés mais non parfaitement démontrés.

Il apparaît de plus en plus que ces drogues ne constituent pas, au sens strict, une classe pharmacologique (SCHWARTZ A., 1982), car si initialement leur mécanisme d'action semblait unique (inhibition du canal lent calcico-sodique), il est maintenant admis que leurs sites d'action ne sont pas réduits aux canaux calciques du sarcolemme (des sites intracellulaires tels que la calmoduline pourraient servir de récepteur (HIDAKA H. et coll., 1979 ; JONHSON J.D. et coll., 1981) et que les mécanismes d'action sont différents d'une molécule à l'autre. Il n'existe pas de relation structure activité entre les différentes molécules, ce qui exclut l'existence d'un récepteur unique.

Nous nous sommes intéressés aux effets de ces substances sur du myocarde ischémié ; de ce fait, nous passons rapidement en revue les propriétés pharmacologiques de ces molécules, propriétés qui théoriquement empêchent la survenue d'ischémie ou diminuent l'extension de la zone ischémiée.

1) Relachement de la musculature lisse

Conséquences :

- inhibition du spasme coronarien,
- amélioration de la circulation collatérale
- amélioration du débit coronarien,
(nifédipine > diltiazem = vérapamil)
- réduction de la précharge (veinodilatation splanchnique)
- diminution des résistances périphériques
(diminution de la pression artérielle)

2) Ralentissement de la fréquence cardiaque

Il y a compétition entre l'action directe sur le sinus et la mise en jeu du système sympathique consécutive au relâchement des fibres vasculaires lisses.

En aigu, aux doses usuelles, l'administration de diltiazem diminue le rythme cardiaque alors que le vérapamil et la nifédipine l'accélèrent.

A long terme, la réaction du système nerveux autonome s'amenuise et les effets directs sur le sinus deviennent prédominants ; le diltiazem et le vérapamil provoquent (ou non) une légère bradycardie, la nifédipine ne modifie pas le rythme cardiaque.

3) Inhibition de la neurotransmission adrénergique

- action directe sur le sinus,
- action sur la fibre myocardique,
- (on connaît les effets néfastes des catécholamines sur le myocarde ischémié).

4) Diminution de la contractibilité

In vitro, ces drogues provoquent un effet inotrope négatif sur des oreillettes et des ventricules isolés (vérapamil > nifédipine > diltiazem) ; par contre chez un animal conscient (chien) la nifédipine augmente l'inotropisme, le vérapamil le diminue et le diltiazem a peu d'effets.

5) Diminution de l'agrégation plaquettaire

6) Action directe sur le myocyte

La diltiazem, le vérapamil et la nifédipine semblent retarder ou amoindrir les dommages cellulaires consécutifs à l'ischémie. C'est cet aspect qui nous intéresse particulièrement.

6.2. Etudes sur le myocarde ischémié

Les tentatives de mise en évidence d'effets protecteurs du myocarde ischémié par les inhibiteurs calciques sont pratiquées sur plusieurs modèles expérimentaux.

- 1) Animal entier, ligature d'une coronaire
 - le plus souvent chez le chien.
- 2) Coeurs isolés perfusés
 - (rat, lapin...)
- 3) Culture cellulaire
 - peu de travaux.
- 4) Fragments de coeur isolé
 - peu de travaux.

La phase de reperfusion est très souvent étudiée et représente parfois l'instant privilégié de l'étude. Les dégâts cellulaires sont voisins de ceux observés lors du "calcium paradox" ; de ce fait, de nombreuses études de "cardioprotection" sont réalisées sur du myocarde soumis au "calcium paradox". Nous retiendrons ces travaux dans les exemples bibliographiques que nous avons choisis.

6.2.1. Etudes expérimentales

6.2.1.1. Animal entier : ligature d'une coronaire

Sur animal entier, de nombreuses régulations physiologiques sont modifiées par l'ischémie cardiaque mais aussi par l'action pharmacologique des inhibiteurs du canal lent ; il sera donc très difficile de déterminer précisément le mécanisme responsable d'un effet "protecteur".

De multiples paramètres sont choisis pour mesurer l'importance de l'ischémie, nous les rappelons :

- 1) Mesure des débits sanguins en zone ischémique et saine.
- 2) Mesures électrophysiologiques - vitesse de conduction en zone ischémique et saine, élévation du segment ST.
- 3) Mesures biochimiques : dosage de réserves énergétiques, des enzymes cardiaques, mesure du fonctionnement mitochondrial...
- 4) Mesures cytologiques de l'extension de la zone ischémisée et nécrotique.

Mesure des débits sanguins zone saine/zone ischémisée

Mesures électrophysiologiques

(Sauf précision l'espèce animale employée est le chien)

Le vérapamil augmente le débit sanguin épicaudique et endocardique à la fois en zone saine et en zone ischémisée, de plus il redistribue favorablement ce débit de la zone saine à la zone ischémisée ; ces résultats sont obtenus quand le vérapamil développe son action bradycardisante. Quand le coeur est soumis à un "pacing", le débit sanguin n'augmente pas en zone ischémisée (BERTEAUX A. et coll., 1976). Il y a corrélation entre les modifications du flux sanguin en zone ischémisée et les variations de l'élévation du segment ST. Le pouvoir antiangineux de cette drogue serait donc essentiellement lié à son action bradycardisante. DAVENPORT N. et coll. (1981) n'observent pas d'amélioration de la circulation en zone ischémisée sous perfusion de vérapamil. Les effets de cette drogue sur la redistribution sanguine entre la zone saine et la zone ischémisée sont donc toujours très discutés ; HATORI S. et coll. (1981) notent que le vérapamil et la nifédipine ne modifient pas le

flux sanguin endocardique et éplicardique quand l'occlusion est sévère (la nifédipine améliore alors la contractilité endocardique alors que le vérapamil la dégrade ; ces effets sont indépendants des flux sanguins) ; lorsque l'occlusion est moins stricte, la nifédipine redistribue le sang de l'endocarde vers l'épicarde, le vérapamil ne diminue pas le flux endocardique mais augmente le flux éplicardique.

Le diltiazem n'améliore pas le débit sanguin en zone ischémique (BUSCH L.R. et coll., 1982) bien qu'étant un puissant dilatateur des artères coronaires (BERTRAND M.E. et coll., 1982).

Les inhibiteurs du canal lent diminuent le temps de conduction dans les territoires ischémiés ; NAKAYA H. et coll. (1981) ont montré que cette amélioration n'est pas dépendante de la dilatation des coronaires et des vaisseaux périphériques. En effet, parmi les vasodilatateurs testés (inhibiteurs calciques, dypiridamole, nitroglycérine...) seules les substances qui touchent le canal calcique augmentent la vitesse de conduction dans les territoires ischémiés. PETER T. et coll. (1982) ont montré que le vérapamil et le diltiazem améliorent ce temps de conduction à la différence de la nifédipine ; le diltiazem est le produit le plus actif. Ces deux derniers auteurs pensent que ces médicaments agissent directement sur les myocytes ischémiés en améliorant leur fonctionnement.

Toutefois, quand ces substances réduisent la taille de la nécrose, il est probable que l'augmentation de la circulation collatérale soit un facteur important de leur efficacité ; en effet CLARK R.E. et coll. (1979) ont montré que la nifédipine réduit l'extension de l'infarctus chez le chien alors que GEARY G. et coll. (1982) n'ont pas pu obtenir ce résultat chez le babouin. Cette différence est la conséquence d'une vascularisation cardiaque variable selon les espèces. Le chien présente une vascularisation collatérale subéplicardique importante, alors que chez le babouin cette vascularisation est peu développée. Ce résultat laisse penser que chez l'homme la réduction de la taille de l'infarctus ne sera pas effective sous nifédipine, sauf s'il existe déjà une circulation collatérale développée à la suite d'anciens épisodes d'ischémie ou si l'occlusion n'est pas totale (GEARY G. et coll., 1982). Sur un autre type de modèle expérimental (coeur isolé de lapin, occlusion coronaire et/ou spasme à la vasopressine) la nifédipine ne diminue le déséquilibre entre les besoins et les apports métaboliques que sur la part liée au spasme (KISSIN I. et KILPATRICK J.V., 1982).

Mesures biochimiques

Etudes histologiques

Les travaux qui étudient ces aspects de l'ischémie cardiaque sont extrêmement nombreux et tout aussi discutés que ceux qui abordent l'étude des modifications hémodynamiques et électriques.

Le vérapamil diminue, à la suite d'occlusions coronaires itératives, les quantités de potassium, de lactate et de phosphates inorganiques relargués pendant les épisodes de reperfusion (KORB H., 1981) ; il diminue aussi la taille de la nécrose mesurée par une méthode histologique même s'il n'a été administré qu'une heure après le début de la ligature (DEBOER L.W.V., 1980). La taille de la nécrose est plus faible ainsi que celle de la zone ischémisée.

BUSH L.R. (1982) a décrit sous diltiazem une diminution de la taille de la nécrose mais pas de la zone ischémisée ; chez les animaux traités, les concentrations calciques intracellulaires sont plus faibles dans les zones ischémisées nécrotiques. Chez le rat, le diltiazem diminue l'étendue des nécroses consécutives à la ligature d'une coronaire ; la "protection" est liée à une diminution d'entrée du calcium dans les tissus ischémisés et/ou à une action hémodynamique qui réduit le travail cardiaque (diminution de la pression artérielle et de la fréquence cardiaque) (ZAMANIS A. et coll., 1981). RICHARD V. et coll. (1982) observent également, chez le rat que le diltiazem réduit la zone nécrotique et épargne les réserves énergétiques des territoires ischémisés par la ligature d'une coronaire, mais cette protection n'est possible que quand le diltiazem est administré avant la pose de la ligature, car le traitement est inefficace s'il commence 10 minutes après le début de l'ischémie.

CLARK et coll. (1982) ont montré que la nifédipine réduit l'extension des nécroses chez le chien, mais GEARY G. et coll. (1982) ont montré qu'elle était inefficace chez le babouin.

Comme nous l'avions signalé en introduction de ce paragraphe (Animal entier, ligature d'une coronaire), il est difficile sur ce modèle d'analyser les mécanismes qui conduisent à une diminution de l'extension des nécroses, car l'aspect hémodynamique interfère avec une action directement "cytoprotectrice" qui est de plus en plus décrite par les auteurs.

6.2.1.2. Coeurs isolés perfusés

Les études pratiquées sur ce modèle sont très nombreuses et les protocoles expérimentaux multiples. Les animaux sont prétraités ou non ; les drogues sont ajoutées au milieu de survie, avant l'ischémie, pendant l'ischémie ou même uniquement pendant la phase de reperfusion.

Un prétraitement de 5 jours par du vérapamil, de la nifédipine (et du propranolol) protège des coeurs isolés de lapins et ischémiés 90 minutes ainsi que ceux qui subissent une reperfusion à l'issue de l'ischémie. Les réserves énergétiques (ATP, créatine phosphate) diminuent moins en ischémie dans les séries traitées et les mitochondries accumulent moins de calcium et maintiennent un métabolisme oxydatif et phosphorylant supérieur (NAYLER W.G. et coll., 1980). Un prétraitement de 4 à 5 jours par du vérapamil améliore l'aspect cytologique de coeurs isolés ischémiés 90 minutes et reperfusés 15 minutes (moins d'accumulation de lipides, moins d'éclatement de noyaux) (SLADE A.M. et coll., 1981).

Sur des séries de coeurs isolés d'animaux (lapin) non prétraités l'administration de vérapamil avant induction d'une ischémie de 60 minutes et d'une reperfusion de même durée diminue la perte d'ATP et de phosphocréatine cellulaire. L'activité mécanique est deux fois plus faible pendant les premières minutes de l'ischémie et récupère mieux lors de la reperfusion dans les séries traitées. Aucune protection biochimique ou mécanique n'est observée si le vérapamil est administré 10 minutes après le début de l'ischémie (BERSOHN M.M. et SHINE K.L., 1981). Ces auteurs considèrent que la cardioprotection dépend de la diminution du travail cardiaque qu'entraîne le vérapamil, et qu'elle n'est pas liée à une éventuelle diminution du flux calcique par le canal lent pendant l'ischémie. Toujours pour le vérapamil, BOURDILLON P.D. et POOLE-WILSON (1982) proposent le même mécanisme de cardioprotection ainsi que THOMAS G. et SCHLOSSMANN K. (1980) pour la nifédipine. BOUDOT J.P. et coll. (1981) ont également montré que le diltiazem empêche les altérations histologiques en accélérant la chute de la contractibilité pendant l'ischémie et en empêchant la contracture.

Le fait que la cardioprotection ne dépende que d'une diminution de la contraction donc d'une diminution des dépenses énergétiques est cependant très discuté.

Chez des coeurs isolés de rats, HIGGINS A.J. et coll. (1981) observent une protection biochimique (diminution de la fuite de LDH) et histologique avec le diltiazem et la nifédipine alors que ces produits retardent en ischémie la chute de la pression d'éjection ventriculaire. BUSCH L.R. et coll. (1981) rapportent le même résultat avec le diltiazem sur des coeurs isolés de chats. Dans ce cas, la perte de contractilité est retardée en ischémie et de plus la consommation d'oxygène des mitochondries diminue... Le diltiazem empêche alors l'accumulation de calcium dans le cytoplasme et les mitochondries. Selon cet auteur, la "protection" serait liée à une modification des mécanismes de translocation du calcium.

WEISHAAR R.E. et BING R.J. (1980) ont montré que l'addition de diltiazem à la reperfusion qui suit une ischémie de 120 min de coeurs isolés de rats diminue la fuite de CPK, empêche la fibrillation et/ou la contracture et restaure le taux d'ATP (mais pas de créatine phosphate). Le diltiazem agirait en empêchant la surcharge massive et brutale en calcium qu'entraîne la reperfusion.

De nombreux travaux s'intéressent à l'effet bénéfique des inhibiteurs calciques sur les mitochondries de tissus ischémiés. PIACENZA G. et coll. (1981) ont montré que la nifédipine réduit l'accumulation de calcium dans les mitochondries de coeurs isolés ischémiés et reperfusés de lapin et en protège le métabolisme (cette protection est accompagnée d'une diminution de la fuite de CPK, et de la restauration du taux d'ATP au niveau contrôle).

Les phosphates inorganiques s'accumulent dans les cellules ischémiées et participent aux lésions mitochondriales de l'ischémie. Le vérapamil et le diltiazem protègent les membranes mitochondriales des lésions induites par les phosphates inorganiques et diminuent l'inhibition des oxydations phosphorylantes (VAGHY P.L., 1980-1981).

Le mécanisme de l'action cardioprotectrice de ces substances sur le modèle coeur isolé perfusé n'est donc pas encore parfaitement élucidé. La diminution de l'inotropine, mais aussi l'inhibition de l'entrée massive de calcium dans les cellules cardiaques ischémiées interviennent certainement mais n'excluent pas d'autres mécanismes biochimiques comme celui qui protège les mitochondries vis à vis des phosphates inorganiques.

6.2.1.3. Cultures cellulaires

Peu d'études sont réalisées sur ce modèle ; néanmoins, HIGGINS T.J.C. (1980-1981) et coll. ont montré que le vérapamil et la nifédipine diminuent la fuite de LDH de cultures néonatales myocytaires de rats soumises à une hypoxie de 16 heures. En hypoxie, l'augmentation de la concentration calcique extracellulaire accroît la fuite de LDH et la chute de la concentration d'ATP cellulaire. Le vérapamil et la nifédipine limitent cette fuite enzymatique, par contre ils n'empêchent pas la chute du taux d'ATP, sauf aux très fortes concentrations calciques extracellulaires.

Les auteurs ne constatent pas en hypoxie une augmentation du calcium intracellulaire. L'aggravation des dommages cellulaires consécutifs à l'augmentation du calcium extracellulaire dépendrait d'une augmentation de l'inotropisme donc d'une consommation accrue d'énergie (ATP) et non d'une accumulation de calcium dans les cellules. L'effet inotrope négatif du vérapamil et de la nifédipine expliquent la protection observée.

Les mécanismes d'action du calcium et des inhibiteurs du canal lent sur la fuite enzymatique de cellules hypoxiques ne sont pas parfaitement connus et les résultats sont même contradictoires. COHEN L. et coll., 1981 montrent que le vérapamil augmente la fuite de CPK et de LDH de coeurs isolés de souris (incubés in vitro à 25°C), et que le calcium inhibe l'effet néfaste du vérapamil. Selon ces auteurs, le calcium et le vérapamil se fixeraient sur un site commun (ou 2 sites interdépendants) qui régirait la perméabilité membranaire aux enzymes.

6.2.1.4. Etudes in vitro sur des fragments de coeur

Nous n'avons pas trouvé dans la littérature de dosages d'enzymes réalisés sur ce modèle pour du myocarde "ischémié" ; il existe toutefois des expériences menées sur du muscle squelettique de grenouille, perfusé dans une cuve à organe isolé et qui étudient la fuite de CPK et de LDH lorsque la préparation est soumise à diverses drogues (SUAREZ-KUTZ G. et EASTWOOD A.B., 1982).

Nous avons vu que les inhibiteurs du canal lent améliorent la vitesse de conduction dans le myocarde ischémié ; il n'est pas démontré si cette propriété est localisée au niveau du myocyte ou si elle ne dépend pas d'une amélioration de la circulation collatérale et/ou d'une diminution du travail cardiaque. Afin de vérifier si le vérapamil améliore l'activité électrique cellulaire de myocarde ischémié, KIMURA S. et coll. (1982) ont étudié ce produit sur des fragments d'endocarde et d'épicarde de chien soumis *in vitro* à l'association d'une hypoxie, d'une acidose et d'une hyperconcentration potassique. En "ischémie", dans l'épicarde et pas dans l'endocarde, la vitesse de conduction est améliorée par le vérapamil, ainsi que l'amplitude des potentiels d'action et la vitesse maximale de dépolarisation. L'amélioration des ces paramètres électriques a été retrouvée par ROUET R. (1982) sous perfusion de vérapamil, dans l'endocarde d'un fragment de ventricule droit de cobaye soumis *in-vitro* à des conditions "d'ischémie" proches de celles utilisées par les précédents auteurs.

Le mécanisme d'action n'est pas connu, mais il est possible que l'inhibition du canal lent diminue l'intensité du métabolisme des cellules ischémiées et épargne ainsi des réserves énergétiques nécessaires au bon fonctionnement du canal sodique rapide. Ce canal est déprimé par "l'ischémie" et son fonctionnement conditionne la vitesse de conduction.

Ces résultats sont en opposition avec ceux enregistrés par DERSHAM G.H. et HAN J. (1981) ; dans ce travail, le vérapamil est perfusé sur une préparation de Purkinje d'un chien ayant subi une ligature de coronaire et déprime fortement la vitesse de dépolarisation des cellules ayant survécu à l'ischémie.

6.2.2. Etudes cliniques

Les inhibiteurs du canal lent sont utilisés dans l'angine de poitrine : dans certains cas, leur emploi est indiscutable, dans d'autres, leur place n'est pas encore déterminée. Ils diminuent la consommation d'oxygène du myocarde (diminution de la pression artérielle et des résistances périphériques...) et retardent le seuil d'apparition de la douleur angineuse (ANTMAN E., 1979 ; DEBAISIEUX J.C. et coll., 1979 ; FERLINZ J. et coll., 1979 ; SUBRAMANIAM V.B. et coll., 1980).

Les indications indiscutables dans l'angine de poitrine sont les suivantes :

a) - Angor de PRINZMETAL.

Leur utilisation ne se discute plus actuellement qu'il s'agisse :

b) - d'arrêter les crises en attendant de pratiquer une coronarographie.

c) - du traitement définitif qu'il y ait ou non présence de lésions athéromateuses.

Le choix des inhibiteurs du canal lent se fait actuellement, de préférence, entre le diltiazem et la nifédipine qui semblent plus efficaces que le vérapamil.

d) - L'angine de poitrine rebelle au traitement médical habituel.

Indications à préciser :

a) - Syndrome de menace avec sous décalage du segment ST.

Les inhibiteurs du canal lent semblent aussi efficaces que les bêta-bloquants. Si le spasme coronaire est constant, leur action sur les troncs coronaires semble plus bénéfique que celle des bêta-bloquants.

b) - L'Angor d'effort.

La tendance actuelle est de ne pas faire appel à eux à cause d'un manque de recul. Il n'est pas impossible que dans les années à venir, le traitement de l'angine de poitrine puisse être débuté par les inhibiteurs du canal lent. Ils sont indiqués si les bêta-bloquants sont contre-indiqués.

c) -Il peut être envisagé de donner comme traitement de fond de l'infarctus du myocarde des inhibiteurs du canal lent (en absence d'insuffisance cardiaque) en poursuivant ce traitement au-delà de la phase aiguë de l'infarctus du myocarde sans que l'on sache toutefois si ces médicaments sont susceptibles de prévenir les accidents secondaires de l'infarctus du myocarde (LANCELIN B. et coll., 1980).

A ce jour, nous n'avons pas trouvé d'études menées sur un grand nombre de patients comme le sont celles réalisées avec les bêta-bloquants.

6.3. Le "calcium paradox"

6.3.1. Présentation du "calcium paradox"

Une préparation (coeur isolé) reperfusée par une solution physiologique calcique, après avoir été perfusée par une solution sans calcium subit des dégâts qui ressemblent à ceux observés lors de la réadmission d'oxygène à une préparation anoxique ("oxygen paradox") ou lors de la reperfusion d'une préparation ischémisée. On observe un accroissement de la fuite enzymatique des lésions. Les conséquences cytologiques sont identiques bien que la cinétique d'installation et que la nature des deux phénomènes ne soient pas les mêmes (HEARSE D.J. et coll., 1978).

On observe :

- la formation de vésicules intracellulaires,
- une contracture des myofibrilles,
- la dislocation et l'extrusion hors de la cellule des mitochondries,
- des dommages membranaires,
- une accumulation de calcium dans le cytoplasme et les mitochondries.

- "Calcium paradox"

I - PERIODE SANS CALCIUM

- durée minimale 3 minutes
- séparation du sarcolemme de la membrane basale
 - vacuole à la périphérie cellulaire
- Perte par la membrane du contrôle de l'homéostasie hydrique et minérale
 - fuite de Ca^{++} hors de la cellule
- Séparation des faces opposées des disques intercalaires

- formation de vésicules à ce niveau

- "Oxygen Paradox"

I - PERIODE HYPOXIQUE

- durée minimale 45 minutes
- augmentation du calcium ionisé cellulaire par :
 - déchélation de l'ATP et des citrates
 - le réticulum sarcoplasmique et les mitochondries ne séquestrent plus le calcium

II - PERIODE DE REPERFUSION

- Pendant la reperfusion la membrane ne contrôle plus la perméabilité ionique. Le calcium s'engouffre dans la cellule selon son gradient de concentration.

- contracture, gonflement, cellulaire

Les lésions membranaires sont initiales et maximales à ce niveau

- zone d'entrée préférentielle du calcium

- fragmentation du sarcolemme, fuite d'enzymes

II - REOXYGENATION



- détérioration de la membrane, entrée passive de calcium

réactivation des chaînes d'oxydation mitochondriales

- entrée massive de calcium dans la mitochondrie qui relargue des ions H^+ dans le cytoplasme.

- dommages cellulaires.

Dans les deux cas, les dégâts cellulaires sont attribués à une entrée brusque et massive du calcium à travers les membranes (sarcolemme et/ou mitochondrie). Les auteurs étudient les effets des inhibiteurs du canal lent sur le "calcium paradox" pour rechercher un effet cardioprotecteur car les lésions provoquées par ce "paradox" sont très voisines de celles qu'entraîne "l'oxyden paradox" et semblent avoir toutes deux pour origine une perte du contrôle du métabolisme calcique.

6.3.2. Effets des inhibiteurs du canal lent

On peut supposer que les inhibiteurs du canal lent limiteront l'entrée du calcium dans la cellule lors du calcium "paradox" si cette entrée dépend de ce canal.

HEARSE D.J. et coll. (1980) montrent que le vérapamil (1 mg/l) réduit la fuite de CPK de coeurs isolés de rats perfusés 10 minutes sans calcium et soumis 20 autres minutes à la réplétion calcique. OHHARA H. et coll. (1982) constatent que la protection par le vérapamil, mesurée dans ce cas par la diminution de la surcharge calcique est fonction de la pression de perfusion pendant la phase sans calcium. Le verapamil protège les coeurs perfusés sous 40 mm Hg et non ceux sous 80 mm Hg.

RUIGROK T.J.J. et coll. (1980) et NAYLER W.G. et GRINWALD P.M. (1981) n'observent pas de protection par le vérapamil du myocarde de rat soumis au "calcium paradox" (l'accumulation de calcium, la fuite de protéines, de CPK et la perte de réserves énergétiques sont identiques dans les séries témoins et traitées).

HEARSE D.J. et coll. (1980) considèrent la faible diminution de la fuite de protéines dans les 2 premières minutes de la réplétion comme indice de protection alors que NAYLER W.G. et GRINWALD P.M. (1981) pensent qu'il n'y a pas de protection, car la surcharge calcique n'est pas modifiée par le vérapamil 25 minutes après le début de la réplétion. Ces auteurs suggèrent que le vérapamil ne fait que retarder les dégâts du "calcium paradox" sans changer le résultat final. Il est difficile de déterminer quelle est la voie d'entrée principale du calcium pendant la reperfusion et quel est alors le mécanisme d'action du vérapamil.

- Le calcium peut emprunter les canaux lents pendant la réplétion sans que cette voie soit la plus importante puisque le "paradox" se développe sous vérapamil. En corollaire, on peut supposer que l'inhibition du canal lent par le vérapamil est insuffisante pour limiter le paradox.
- Si le calcium emprunte d'autres voies que les canaux lents pendant la reperfusion on peut admettre que le vérapamil agit en préservant l'homéostasie cellulaire, notamment calcique contre le flux de calcium transmembranaire de la reperfusion (cette protection est peut-être liée à une épargne des réserves énergétiques).

ASHRAF M. et coll. montrent que le diltiazem (2 mg/l) protège les préparations (coeur isolé de rat, 10 minutes de perfusion sans calcium, 10 minutes de reperfusion) pendant la phase sans calcium en limitant les lésions cellulaires et notamment la séparation des cellules au niveau des "gap junction" et pendant la phase de réplétion en limitant l'entrée du calcium dans la cellule. Le diltiazem réduit la fuite de CPK de 35 % quand il est ajouté uniquement à la solution sans calcium et de 85 % quand il est présent pendant les deux phases de l'expérience ; il limite également la chute du taux d'ATP. Cette expérience montre qu'au moins une part du pouvoir protecteur ne dépend pas de l'inhibition du canal lent.

Le nombre et la nature des paramètres étudiés qui signent la protection lors de ce "paradox" seront certainement augmentés dans les expériences à venir, et la limitation de la fuite en protéines et en enzymes ne sera peut-être plus considérée comme un indice de protection (NAYLER W.G. et GRINWALD P.M., 1981).

Bien qu'ayant considéré ces paramètres comme capitaux, HEARSE D.J. et BAKER J.E. (1981) aboutissent à une conclusion voisine en admettant que la mort cellulaire intervient sous vérapamil même si le relargage de CPK et de protéines est réduit.

6.4. "Résumé"

In vivo, chez le chien et le rat, les inhibiteurs du calcium diminuent l'extension des nécroses cellulaires consécutives à une ligature de coronaire.

Le principal mécanisme d'action n'est pas encore parfaitement défini : part importante de la diminution du travail cardiaque ? Effet cytoprotecteur ? (notamment contre l'accumulation de calcium), modification de la vascularisation cardiaque ? etc...

Ce dernier point mérite certainement d'être étudié avec attention, car nous avons vu que le coeur de chien est protégé par la nifédipine alors que celui du babouin ne l'est pas. Le chien présente une vascularisation cardiaque particulière qui permet à la circulation collatérale de suppléer la circulation principale. Le coeur de babouin ne possède pas cette circulation collatérale. La nifédipine (et les autres inhibiteurs canal lent) protégerait donc le coeur de chien en augmentant le débit de cette circulation.

Le pouvoir cardioprotecteur des inhibiteurs du canal lent est peut-être surévalué quand il est étudié sur le coeur ligaturé de chien.

Il faut rappeler que l'appréciation du pouvoir antiarythmique de nouvelles substances (sur les arythmies ventriculaires complicant un infarctus) est également surévaluée quand on s'adresse au chien comme animal d'expérience (DUPUIS B.A. et VINCENT A.C., 1981). L'infarctus est alors souvent induit selon la méthode de HARRIS A.S. (1950) (ligature d'une coronaire) ou selon des procédés plus sophistiqués tels que celui de DUPUIS B.A. (1976) (spire de laiton, introduite par cathétérisme, sous amplificateur de brillance, dans une coronaire).

In vitro, les inhibiteurs du canal lent limitent les dégâts cellulaires consécutifs à l'ischémie sans que les mécanismes responsables de la cardioprotection soient parfaitement définis, (diminution de l'inotropisme, de l'accumulation de calcium intracellulaire, protection métabolique, etc...).

7 - SUBSTANCE "ECONOMISEUR D'OXYGENE" - LE PIRIDOXILATE

7.1. Mécanismes d'action

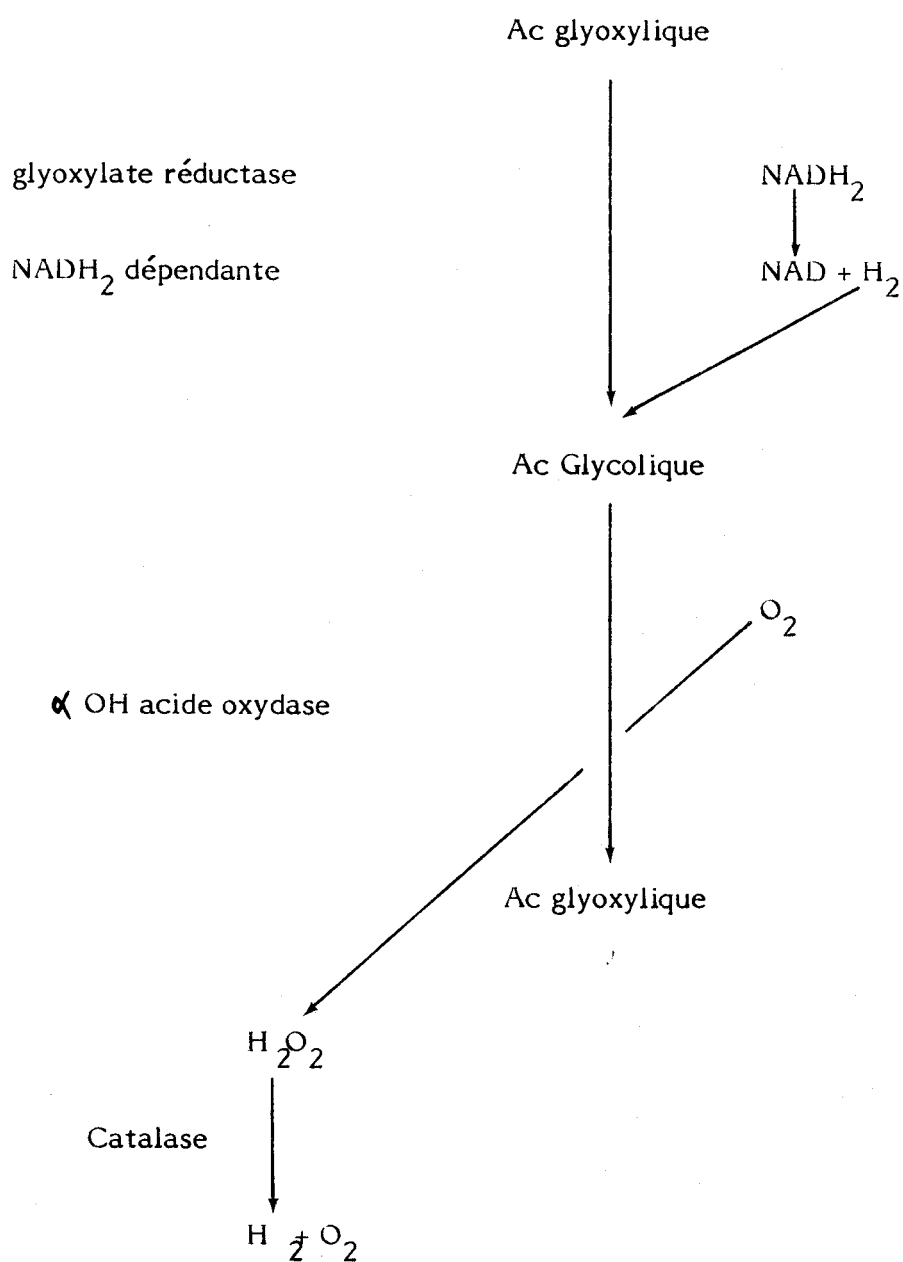
Le piridoxilate est un conjugué de l'acide glyoxylique et de la pyridoxine ; il est considéré comme étant un régulateur de la respiration mitochondriale et utilisé en clinique comme "économiseur d'oxygène".

Le piridoxilate exerce une action biochimique complexe : l'acide glyoxylique est le métabolite actif et la conjugaison avec la pyridoxine prolonge son activité métabolique en ralentissant sa transformation en acide oxalique.

Action au niveau des mitochondries. La réactivité du groupement aldéhyde du glyoxylate lui permet de fournir des produits de condensation avec l'oxaloacétate, le pyruvate, de participer à des réactions avec les groupements thiols et aminés. Il inhiberait ainsi diverses enzymes du cycle de KREBS, l'inhibition de la respiration ne s'accompagnant jamais de découplage et d'abaissement du rapport P/O ; il ne toucherait donc pas aux réactions de phosphorylation (RUFFO A., 1961-1967). Cette diminution de la synthèse oxydative de l'ATP et de l'activité du cycle de KREBS explique difficilement le rôle bénéfique que le piridoxilate exercerait en anoxie puisque l'anoxie inhibe ce métabolisme énergétique (LABORIT H. et coll., 1971).

Action dans le cytoplasme

- Réactions décrites dans les peroxysomes d'animaux
(particulièrement nombreux dans le foie et le rein)



On sait que la glycolyse est limitée par la quantité de coenzyme oxydé utilisable ; ce schéma métabolique est particulièrement intéressant en hypoxie car le NADH_2 est directement oxydé par l'oxygène sans passer par les oxydations intramitochondriales ; l'oxygène est récupéré par l'intermédiaire d'une catalase. Cette voie n'est pas phosphorylante mais susceptible de réanimer la glycolyse en augmentant la quantité de NAD utilisable (VANDOR S.L. et TOLBERT N.E., 1970).

OTORII T. et coll. (1980) ont confirmé ce diagramme sur une préparation hypoxique coeur-poumon de chien. Des concentrations de piridoxilate supérieures à 0,4 mM élèvent le potentiel d'oxydo-réduction et diminuent la quantité de NADH_2 .

Le glycolate et le glyoxylate réduisent la consommation d'oxygène et de glucose mesurée sur des coupes de foie à l'appareil de WARBOURG ; la diminution de la consommation en glucose n'est plus constatée sur les homogénats (LABORIT H. et coll., 1971). Le glycolate ne diminue la consommation de glucose que quand l'intégrité cellulaire est préservée (coupes) et en particulier l'intégrité membranaire.

Chez le lapin anesthésié au nembotal, la perfusion lente de 200 mg/Kg de glycolate est fort bien supportée. La réponse hypertensive aux catécholamines n'est pas modifiée par le glycolate alors que celle hypotensive à l'acétylcholine entraîne un effondrement souvent mortel de la pression artérielle. On sait que l'acétylcholine s'oppose à la phosphorylation du glycogène par inhibition de la synthèse de 3'5' AMP. LABORIT H. et coll. (1971) ont donc pensé en confrontant les résultats de cette expérience à ceux de l'expérience précédente que le glycolate inhibait l'entrée de glucose dans la cellule au niveau membranaire. La réponse hypotensive à l'acétylcholine est normalement correctement supportée car l'inhibition de la glycogénolyse est compensée par l'entrée du glucose exogène, mais cette entrée est inhibée par le glycolate. On assiste alors à une faillite brusque du système cardiovasculaire.

LABORIT H. et coll. (1971) ont démontré cette hypothèse en observant que l'addition de glucose et d'insuline rétablit une réponse normale à l'acétylcholine en présence de glycolate. Selon ces auteurs, "il semble que l'action pharmacologique du glycolate soit en partie la conséquence de l'oxydation du NADH_2 .

Cette localisation serait le siège membranaire du fait de la localisation membranaire de la glyoxylate réductase. Elle interviendrait sur la pénétration intracellulaire du glucose et serait le facteur principal de la diminution de la consommation d'oxygène constatée sur les coupes et non les homogenats".

7.2. Effets sur le myocarde ischémié

En dehors des travaux de DUCHENE-MARULLAS P. et coll. (1968) et de FOURNEAU J.P. et coll. (1970, 1974), peu de travaux ont été consacrés à l'étude des effets de ce produit sur l'anoxie ou l'ischémie cardiaque.

Selon DUCHENE-MARULLAS P. et coll. (1968), le piridoxilate ne modifie aucune fonction cardiaque mais augmente la pO_2 veineuse coronaire chez le chien, diminue la chute thermique que provoque le cyanure chez le rat, et augmente la durée pendant laquelle persistent les battements d'oreillettes hypoxiques de cobayes. FOURNEAU J.P. et coll. (1974) ont montré que le piridoxilate prolonge la durée de battement de coeurs isolés et ischémiés de cobaye et retarde, in vivo, l'apparition des désordres électriques consécutifs à l'ischémie.

Le piridoxilate augmente la durée des potentiels d'action de coeurs isolés de rats (durée initiale du potentiel d'action : 100 msec, allongement de 20 à 30 msec), et dépolarise parfois les cellules de quelque mv. (GUITIENNE B. et coll., 1973). Ces auteurs observent que le piridoxilate empêche en anoxie la diminution de durée des potentiels d'action.

7.3. "Résumé"

Ce produit n'est pas utilisé en clinique pour réduire les lésions cellulaires consécutives à un infarctus du myocarde. D'un point de vue théorique, son mécanisme d'action est intéressant et nous a conduit à étudier ses effets sur notre modèle. Les doses élevées que doivent utiliser les différents auteurs pour observer des modifications métaboliques rendent son efficacité thérapeutique problématique.

MATERIEL ET METHODES

page :

1 - Matériel biologique	75
2 - Le dispositif expérimental	75
3 - Le dispositif d'oxygénation	76
4 - Les liquides de survie	76
4.1. Liquide de survie contrôle	
4.2. Liquide de survie "ischémique"	
5 - Stimulation électrique de la préparation	77
6 - Enregistrement de l'activité électrique unicellulaire	78
7 - Les paramètres électriques mesurés	79
8 - Dosage des CPK dans le liquide effluent	80
9 - Les substances étudiées	81
10 - Le prétraitement des animaux	81
11 - Le protocole expérimental	82
12 - Interprétation des résultats	84
12.1. paramètres électriques	
12.2. dosage des CPK	
12.3. seuils de signification.	

1 - MATERIEL BIOLOGIQUE

Les expériences sont réalisées sur du myocarde de cobaye (race : tricolore, poids : 250 à 300 grammes, sexe : mâle ou femelle). Les animaux sont assommés puis saignés. Le thorax est ouvert, le coeur est rapidement prélevé puis placé dans une solution de liquide physiologique contrôle à température ambiante (20°C), oxygénée par un mélange à 95 % O₂ et 5 % CO₂. Lorsque le coeur est convenablement vidé de son sang, il est placé dans un autre cristalliseur contenant du liquide physiologique contrôle oxygéné. Les oreillettes sont séparées du reste de l'organe et le bord libre du ventricule gauche est isolé puis transporté dans la cuve expérimentale.

2 - LE DISPOSITIF EXPERIMENTAL

La cuve expérimentale comporte trois compartiments :

- un compartiment d'arrivée du liquide physiologique (1,1 ml)
- un compartiment central où est épinglée la préparation, endocarde vers le haut (1,70 ml)
- un compartiment d'évacuation du liquide physiologique (1,1 ml).

La cuve expérimentale est alimentée à débit constant 4 ml min⁻¹ par une pompe péristaltique LOGEAS TEC mini 615 ; le liquide de perfusion est thermostaté à 37 + ou - 0,5°C, il est aspiré du compartiment d'évacuation par une trompe à vide. Un "piège" est branché à la sortie du compartiment d'évacuation et permet de recueillir le liquide qui a perfusé la préparation.

3 - LE DISPOSITIF D'OXYGENATION

En normoxie, l'oxygénation est assurée par un barbotage de carbogène (95 % O_2 ; 5% CO_2) dans les compartiments d'admission et d'expérimentation de la cuve. En situation "d'ischémie", le carbogène est remplacé par le mélange gazeux 95 % N_2 , 5 % CO_2 .

La pO_2 , la pCO_2 et le pH sont mesurés au moyen d'un analyseur CORNING 175 automatic pH/blood gas system, sur des échantillons de liquide de perfusion prélevés dans le compartiment central.

En normoxie, la pO_2 a pour valeur 370 + ou - 20 mm Hg, la pCO_2 34 + ou - 2 mm Hg et le pH 7,35 + ou - 0,1.

En "ischémie", la pO_2 diminue jusqu'à 80 + ou - 10 mm Hg, la pCO_2 ne varie pas, le pH est de 7,00 + ou - 0,1.

4 - LES LIQUIDES DE SURVIE

Les compositions des liquides de survie sont les suivantes :

4.1. Liquide de survie physiologique contrôle

Na^+	135	m M/l
K^+	4	m M/l
Ca^{++}	1,8	m M/l
Mg^{++}	1	m M/l
$H_2PO_4^-$	1,8	m M/l
HCO_3^-	25	m M/l
Cl^-	117,8	m M/l
Glucose	5,5	m M/l
pH	7,35	+ ou - 0,1

Le pH mesuré au pH mètre (pH Meter CG 818 Schott Geräte) est ajusté par de l'acide chlorhydrique 1 N.

4.2. Liquide de survie "ischémique"

Na ⁺	135	m M/l
K ⁺	12	m M/l
Ca ⁺⁺	1,8	m M/l
Mg ⁺⁺	1	m M/l
H ₂ PO ₄ ⁻	1,8	m M/l
HCO ₃ ⁻	9	m M/l
Cl ⁻	141,8	m M/l
Glucose	0	m M/l
pH	7,00 + ou -0,1	

La diminution de concentration de l'ion sodium due à un plus faible taux de bicarbonate est compensée par l'addition de chlorure de sodium.

5 - STIMULATION ELECTRIQUE DE LA PREPARATION

Les électrodes de stimulation sont constituées de 2 fils de platine de 0,1 mm de diamètre, isolés sauf à leur extrémité et appliqués au moyen d'un micromanipulateur, au centre de la préparation. Elles sont reliées à un stimulateur orthorythmique SAVITA. La stimulation est délivrée sous forme de chocs rectangulaires de 2 msec de durée et d'une intensité double du seuil diastolique. La gamme d'intensité de stimulation varie de 0,3 à 11 mA, avec un incrément de 0,1 mA.

La fréquence de stimulation est fixée à 66 chocs par minute.

6 - ENREGISTREMENT DE L'ACTIVITE ELECTRIQUE UNICELLULAIRE

L'activité électrique unicellulaire est enregistrée par microélectrode fixe en verre, étirée, remplie de KCL 3M, de résistance électrique comprise entre 5 et 10 $M\Omega$; le diamètre de pointe varie de 0,5 à 1 micron.

La microélectrode est reliée, par l'intermédiaire d'une interface Ag/Ag Cl à un adaptateur d'impédance (W-H instrument, model A 35 C) lui-même relié à un amplificateur double trace TEKTRONIX 5A18N, d'un oscilloscope à mémoire TEKTRONIX 5111 pourvu d'une base de temps TEKTRONIX 5B10N. L'électrode de référence des circuits de mesure est constituée d'un pont d'agar-agar 5 %, KCL 3M 95 %, muni d'une interface Ag/Ag Cl. Le pont KCL 3M/agar-agar est placé au niveau du compartiment d'évacuation, ce qui évite la diffusion de potassium dans la cuve d'expérimentation.

Les potentiels d'action enregistrés peuvent être traités de 2 façons différentes :

- 1) La vitesse maximale de dépolarisation est déterminée par un circuit capacité résistance ($R = 100 K\Omega$, $C = 1 nF$), monté en filtre passe haut. Les potentiels d'action enregistrés sur l'oscilloscope, ainsi que la dérivée première de la phase de dépolarisation, sont photographiés par un appareil photographique (VOITGLANDER, film noir et blanc, 24 x 36, 400 ASA).
- 2) Le potentiel d'action est enregistré sur l'oscilloscope et le signal électrique est traité par un appareil de saisie à haute résolution (40 000 points à la seconde) et rendu sur table traçante. La vitesse maximale de dépolarisation est calculée par le microprocesseur de l'appareil de saisie.

7 - LES PARAMETRES ELECTRIQUES MESURES

Le seuil de stimulation diastolique (SED) est noté à chaque étape du protocole expérimental. La préparation est dite inexcitable lorsqu'elle ne répond plus à un stimulus de 11 mA (intensité maximale délivrée par le stimulateur, et au delà de laquelle il ne nous semble pas nécessaire de recourir, car on peut se demander alors si une telle intensité de stimulation engendre des phénomènes physiologiquement représentatifs).

L'activité électrique que l'on enregistre en "ischémie" peut être de deux types (tableau 3).

1) Réponse 1/1

Un potentiel d'action est déclenché à chaque stimulation.

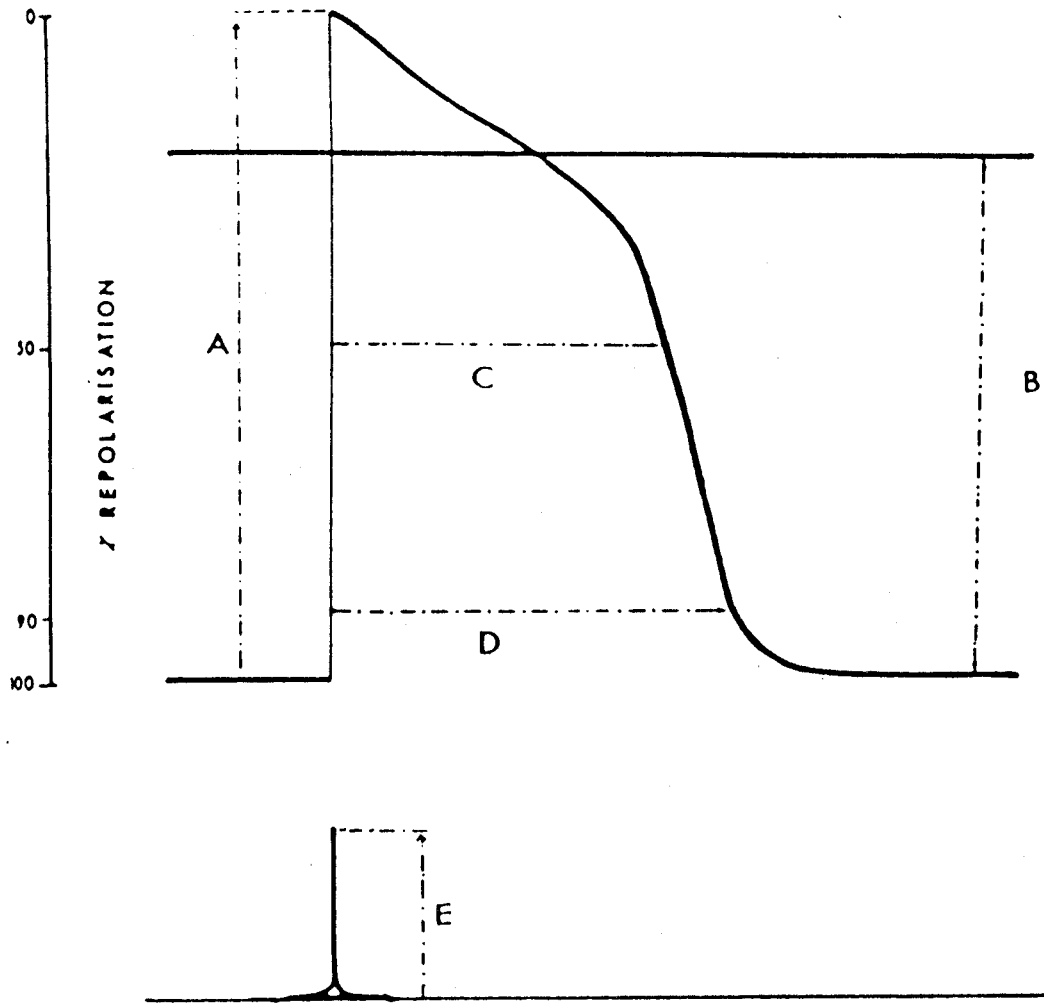
2) Activité électrique de type décrémental

La préparation ne déclenche plus de stimulation pour une stimulation régulière. Mais après un arrêt de stimulation de 30 secondes, les stimuli de forte intensité déclenchent quelques potentiels d'action de type lent, la réponse est décrémentielle (tableau 3). On comptabilise alors le premier potentiel d'action déclenché.

La persistance de l'activité électrique en ischémie est notée pour chaque préparation (réponse 1/1 et décrémentielle).

Les paramètres suivants sont mesurés directement sur les tracés issus de la table traçante ou après agrandissement (x 7) des négatifs photographiques.

- Potentiel de repos ou Em - exprimé en millivolt (mv)
- Amplitude du potentiel d'action ou APA - exprimée en millivolt (mv)
- Durée du potentiel d'action mesuré à 50 % de la repolarisation ou DPA₅₀ - exprimée en milliseconde (msec).
- Durée du potentiel d'action mesuré à 90 % de la repolarisation ou DPA 90 - exprimée en milliseconde (msec).

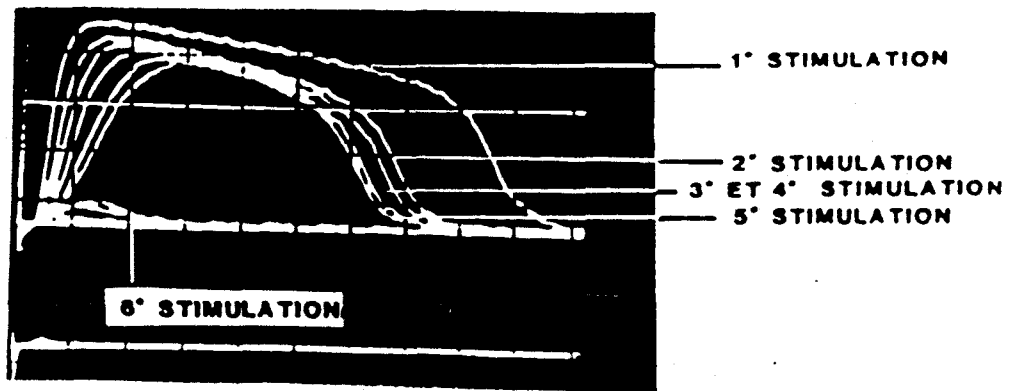


A	APA	mV
B	E_m	mV
C	DPA_{50}	ms
D	DPA_{90}	ms
E	$\frac{dv}{dt}$ Max	γ/s



PARAMETRES MESURES

REPONSE DECREMENTIELLE



TABEAU 3

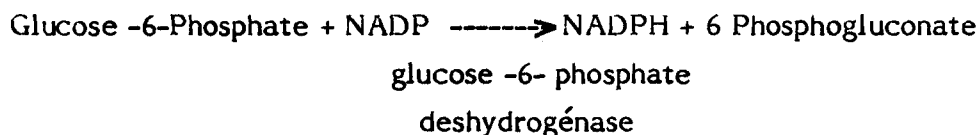
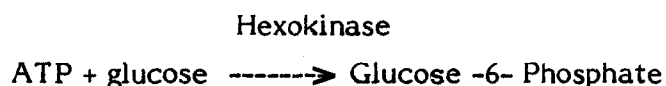
- Vitesse maximale de dépolarisation ou V_{max} . - exprimée en volts par seconde (V/sec).

8 - DOSAGE DES CPK DANS LE LIQUIDE EFFLUENT

Les CPK sont dosés dans le liquide effluent qui est piégé et maintenu à une température de 4°C jusqu'au moment du dosage qui est pratiqué 30 minutes au plus tard après le dernier prélèvement.

Le dosage est réalisé sur un analyseur centrifuge ROTOCEM 2A36 selon la méthode de Oliver et Rosalki coffret CALBIOCHEM-BEHRING CPK-S.U.T. TM. Ce dosage est réalisé à 30°C.

Le détail de la réaction est le suivant :



L'appareil enregistre à 340 nm l'augmentation de densité optique qu'entraîne la formation de NADPH.

Le volume de prélèvement nécessaire à un dosage est de 10 μ l. Ce prélèvement est dilué par 40 μ l de sérum physiologique. Le volume de réactif est de 500 μ l. La mesure de l'évolution de densité optique commence après 180 secondes d'incubation ;

les concentrations de substrats sont telles que l'enzyme (CPK) travaille à vitesse maximale. 9 mesures de densité optique sont enregistrées toutes les 20 secondes.

La pente de la droite que forment ces différents points de mesure est proportionnelle à l'activité CPKinasique du prélèvement. Cette activité est calculée à partir du coefficient d'extinction moléculaire du NADPH.

Les résultats sont rendus en milliunités internationales par millilitre (mUI/ml).

Le coefficient de variation de la méthode est de + ou - 10 % pour une valeur cible de 100 mUI/ml.

9 - LES SUBSTANCES ETUDIEES

d.l propranolol AVLOCARDYL^S

d.l vérapamil ISOPTINE^S

diltiazem

aimablement fournie par les laboratoires
DAUSSE

piridoxilate GLYO 6^S

10 - LE PRETRAITEMENT DES ANIMAUX

Seuls les cobayes de la série propranolol ont subi un prétraitement, à raison de 2 injections de 4 mg/Kg par voie intrapéritonéale pendant 21 jours.

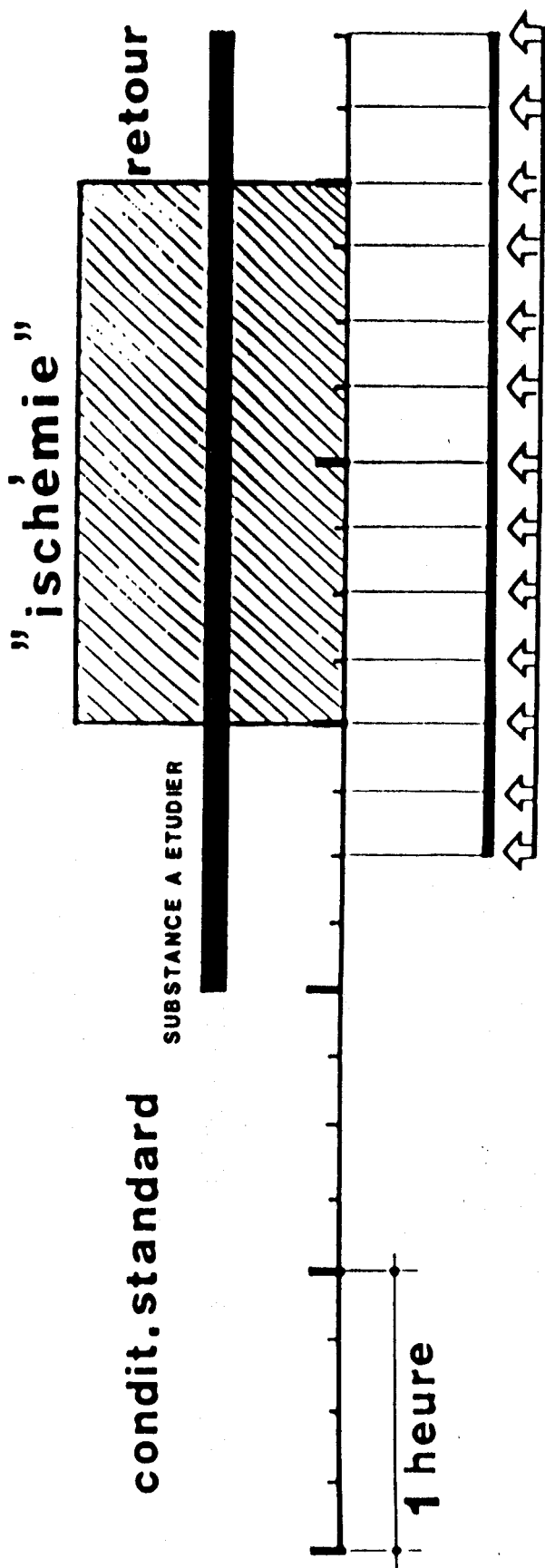
L'electrocardiogramme mesuré par télémétrie a été enregistré avant la première injection et 12 heures après la dernière injection. La fréquence cardiaque et le QT corrigé ont été calculés.

11 - PROTOCOLE EXPERIMENTAL (Tableau 4)

- 1) Les préparations de bord libre de ventricule gauche de cobaye sont placées dans la cuve expérimentale, électrostimulées et superfusées 180 minutes par le Tyrode standard à 37°C ; les préparations sont oxygénées (pO_2 370 + ou - 20 mm Hg).

- 2) durant les 120 minutes suivantes, le débit et certains constituants du liquide de perfusion sont modifiés par le liquide "ischémique".
 - le potassium passe de 4 à 12 mM
 - le glucose passe de 5,5 à 0 mM
 - le pH passe de 7,35 à 7,00
 - le débit passe de 4 à 0,150 ml.min⁻¹
 (le débit est amené dès la 150ème minute de stabilisation à cette valeur afin de permettre le dosage des CPK de la 150ème à la 180ème de stabilisation).
 - la pO_2 passe de 370 + ou - 20 mm Hg à 80 + ou - 10 mm Hg.

- 3) La préparation est remplacée durant 30 minutes dans les conditions de départ : cette situation mime la reperfusion (le débit est maintenu à 0,150 ml.min⁻¹ afin de permettre le dosage des CPK).



C.P.K.

TABLEAU 4



- 4) Les substances à étudier suivantes : vérapamil, diltiazem et piridoxilate sont perfusées durant la dernière heure de la phase de stabilisation (1), durant toute l'ischémie (2) et la phase de reperfusion (3).

Dans la série propranolol, le coeur a été prélevé dans du Tyrode contrôle contenant du propranolol (10^{-6} M) ; le propranolol a été perfusé pendant toutes les phases de l'expérimentation : les 3 heures de stabilisation (1), les 2 heures d'ischémie (2) et la phase de reperfusion (3).

5) Nombre d'essais :

- 5 essais en situation contrôle
- 10 essais témoins "ischémiques"
- 5 essais "ischémie" + diltiazem 10^{-6} M
- 5 essais "ischémie" + diltiazem 10^{-5} M
- 7 essais "ischémie" + vérapamil 10^{-5} M
- 7 essais "ischémie" + propranolol 10^{-6} M
après prétraitement de 21 jours (2 fois 4 mg/Kg/jour)
- 1 essai sous piridoxilate 10^{-4} M
- 9 essais sous piridoxilate 10^{-3} M

- 6) L'activité électrique cellulaire est enregistrée tout au long du protocole expérimental.

7) Dosage des CPK

Les CPK sont dosées dans l'effluent entre la 150ème et la 180ème minute de stabilisation, et toutes les 15 minutes durant les autres phases de l'expérimentation.

A la fin de l'essai, le fragment de myocarde est placé 15 heures dans une étuve (70°C) pour dessiccation et pesée.

L'activité CPKinasique libérée est alors rapportée par gramme de myocarde sec. Le résultat est exprimé en unités internationales par gramme de myocarde sec (UI/g sec).

La courbe d'activité cumulée est tracée.

12 - INTERPRETATION DES RESULTATS

12.1. Paramètres électriques

Les paramètres électriques (SED, Em, APA, DPA₅₀, DPA₉₀, Vmax) sont mesurés aux temps :

- 120ème minute et 180ème minute de stabilisation,
- 5ème, 15ème, 30ème, 45ème, 60ème, 75ème, 90ème, 105ème, 120ème minute d'ischémie,
- 15ème et 30ème minute de reperfusion.

La moyenne et l'erreur standard à la moyenne sont calculées pour chacun de ces paramètres à ces différents temps. Les moyennes des séries traitées sont comparées à celles de la série témoin "ischémie" par le t de Student en séries non appariées (Sauf entre la 120ème et 180ème minute de stabilisation).

La moyenne et l'erreur standard à la moyenne de la persistance de l'activité électrique (réponse 1/1 et décroissante) sont calculées pour chaque série. Les séries traitées sont comparées à la série témoin ischémie par le t de Student en séries non appariées.

L'action du diltiazem (10^{-6} M, 10^{-5} M), du verapamil (10^{-5} M), et du piridoxilate (10^{-3} M) sur les potentiels d'action contrôlés est étudiée en comparant à l'intérieur de la série par le t de Student en séries appariées les modifications des paramètres électriques qui surviennent entre la 120ème et la 180ème minute de stabilisation.

Dans la série propranolol, la fréquence cardiaque et le QT corrigé sont étudiés par le t de Student en séries appariées. Les paramètres électriques unicellulaires de cette série sont comparés à l'issue des 180 minutes de stabilisation à ceux de la série témoin "ischémie".

12.2. Dosage des CPK

La moyenne et l'erreur standard à la moyenne de l'activité cumulée CPKinasique sont calculées pour chaque série entre la 150ème et 180ème minute de stabilisation et toutes les 15 minutes pour le reste de l'expérimentation.

A ces différents temps, l'activité des séries traitées est comparée à celle correspondante de la série témoin "ischémie" par le t de Student en séries non appariées. La série témoin "ischémie" est comparée par ce test à la série situation contrôle.

12.3. Seuils de signification

- p est signalé quand il est inférieur à 0,10

- On admet comme seuil de signification $p < 0,05$.

VI - RESULTATS

page :

1 - <u>SERIE : SITUATION CONTROLE</u>	90
1.1. Libération enzymatique	
2 - <u>SERIE : TEMOIN "ISCHEMIE"</u>	90
2.1. <u>Electrophysiologie cellulaire</u>	90
2.1.1. Effets de l'ischémie	
2.1.2. Effets de la reperfusion	
2.2. <u>Libération de CPK</u>	92
2.2.1. Les 30 dernières minutes de stabilisation	
2.2.2. "L'ischémie"	
2.2.3. La reperfusion	
2.3. <u>Comparaison avec la situation contrôle</u>	92
3 - <u>SERIE PROPRANOLOL</u>	93
3.1. <u>Electrophysiologie</u>	93
3.1.1. Effet d'un blocage des récepteurs béta-adrénergiques de 3 semaines sur l'électrophysiologie cardiaque in vivo	93
3.1.2. Caractéristiques des potentiels d'action enregistrés in vitro	94
3.1.3. Commentaires	94
3.1.4.1. Effets de l'ischémie sur les potentiels d'action	96
3.1.4.2. Comparaison de la persistance de l'activité électrique entre la série témoin et propranolol 10^{-6} M en "ischémie".	99
3.1.5. Effets de la reperfusion	99
3.2. <u>Mesure de la fuite de CPK</u>	100
3.2.1. Les 30 dernières minutes de stabilisation	
3.2.2. "L'ischémie"	
3.2.3. La reperfusion	
3.3. <u>Discussion partielle</u>	100

4 - <u>SERIE "INHIBITEURS DU CANAL LENT"</u>	105
4.1. <u>Electrophysiologie cellulaire</u>	
4.1.1. <u>Actions des inhibiteurs du canal lent sur les potentiels d'action témoins</u>	105
4.1.1.1. diltiazem 10^{-6} M	
4.1.1.2. diltiazem 10^{-5} M	
4.1.1.3. vérapamil 10^{-5} M	
4.1.1.4. Commentaires	
4.1.2. <u>Effets de l'ischémie</u>	107
4.1.2.1. diltiazem 10^{-6} M	
4.1.2.2. diltiazem 10^{-5} M	
4.1.2.3. vérapamil 10^{-5} M	
4.1.2.4. Comparaison de ces 3 séries par rapport à la série témoin "ischémie".	
4.1.3. <u>Effets de la reperfusion</u>	109
4.1.3.1. diltiazem 10^{-6} M	
4.1.3.2. diltiazem 10^{-5} M	
4.1.3.3. vérapamil 10^{-5} M	
4.1.3.4. Comparaison de ces 3 séries par rapport à la série témoin "ischémie".	
4.2. <u>Libération de CPK</u>	110
4.2.1. <u>Les 30 dernières minutes de stabilisation</u>	110
4.2.1.1. diltiazem 10^{-6} M	
4.2.1.2. diltiazem 10^{-5} M	
4.2.1.3. vérapamil 10^{-5} M	
4.2.2. <u>"L'ischémie"</u>	110
4.2.2.1. diltiazem 10^{-6} M	
4.2.2.2. diltiazem 10^{-5} M	
4.2.2.3. vérapamil 10^{-5} M	
4.2.2.4. Comparaison de ces 3 séries par rapport à la série témoin "ischémie".	
4.2.3. <u>La reperfusion</u>	111
4.2.3.1. diltiazem 10^{-6} M	
4.2.3.2. diltiazem 10^{-5} M	
4.2.3.3. vérapamil 10^{-5} M	
4.2.3.4. Comparaison de ces 3 séries par rapport à la série témoin "ischémie".	

4.3. <u>Discussion partielle</u>	113
5 - <u>SERIE PIRIDOXILATE</u>	117
5.1. <u>Electrophysiologie cellulaire</u>	
5.1.1. Action du piridoxilate (10^{-3} M) sur les potentiels d'action témoins	117
5.1.2.1. Effets de l'ischémie	
5.1.2.2. Comparaison de la persistance de l'activité électrique entre la série témoin "ischémie" et piridoxilate 10^{-3} M	
5.1.3.1. Effets de la reperfusion	
5.1.3.2. Comparaison avec la série témoin "ischémie"	
5.2. <u>Libération de CPK</u>	121
5.2.1. Essai piridoxilate 10^{-4} M	
5.2.2. Essais piridoxilate 10^{-3} M	
5.2.2.1. Les 30 dernières minutes de stabilisation	
5.2.2.2. "L'ischémie"	
5.2.2.3. La reperfusion	
5.3. <u>Discussion partielle</u>	122

1 - SERIE : SITUATION CONTROLE - Nombre d'essais : 5

Libération enzymatique : tableaux 5-31

En 120 minutes, la libération cumulée des CPK est de 14,00 + ou - 3,88 UI/gsec.

De la 120ème minute à la 135ème minute, elle est de 1,40 + ou - 0,42 UI/gsec et de la 120ème minute à la 150ème de 3,80 + ou - 1,43 UI/gsec.

2 - SERIE TEMOIN "ISCHEMIE" : NOMBRE D'ESSAIS = 10

2.1. Electrophysiologie cellulaire

2.1.1. Effets de l'ischémie : tableaux 3-6-7-8

On observe une dépolarisation membranaire, une diminution de l'amplitude des potentiels d'action et de la vitesse maximale de dépolarisation, ainsi que des durées APD₅₀ et APD₉₀. Le seuil d'excitation diastolique augmente.

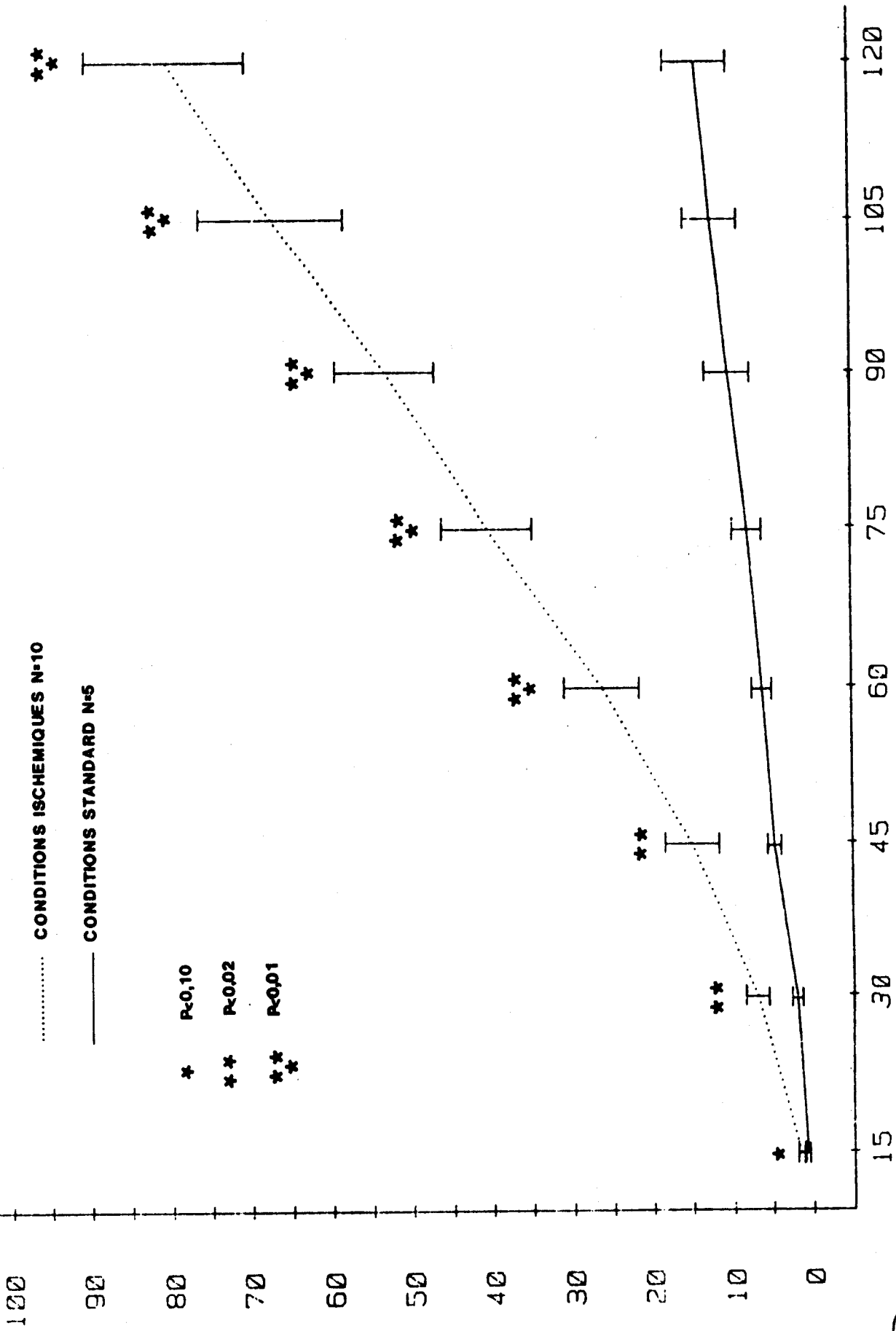
Rappels : l'activité électrique que l'on enregistre en "ischémie" peut être de deux types (tableaux 3-6).

1) réponse 1/1

Un potentiel d'action est déclenché à chaque stimulation.

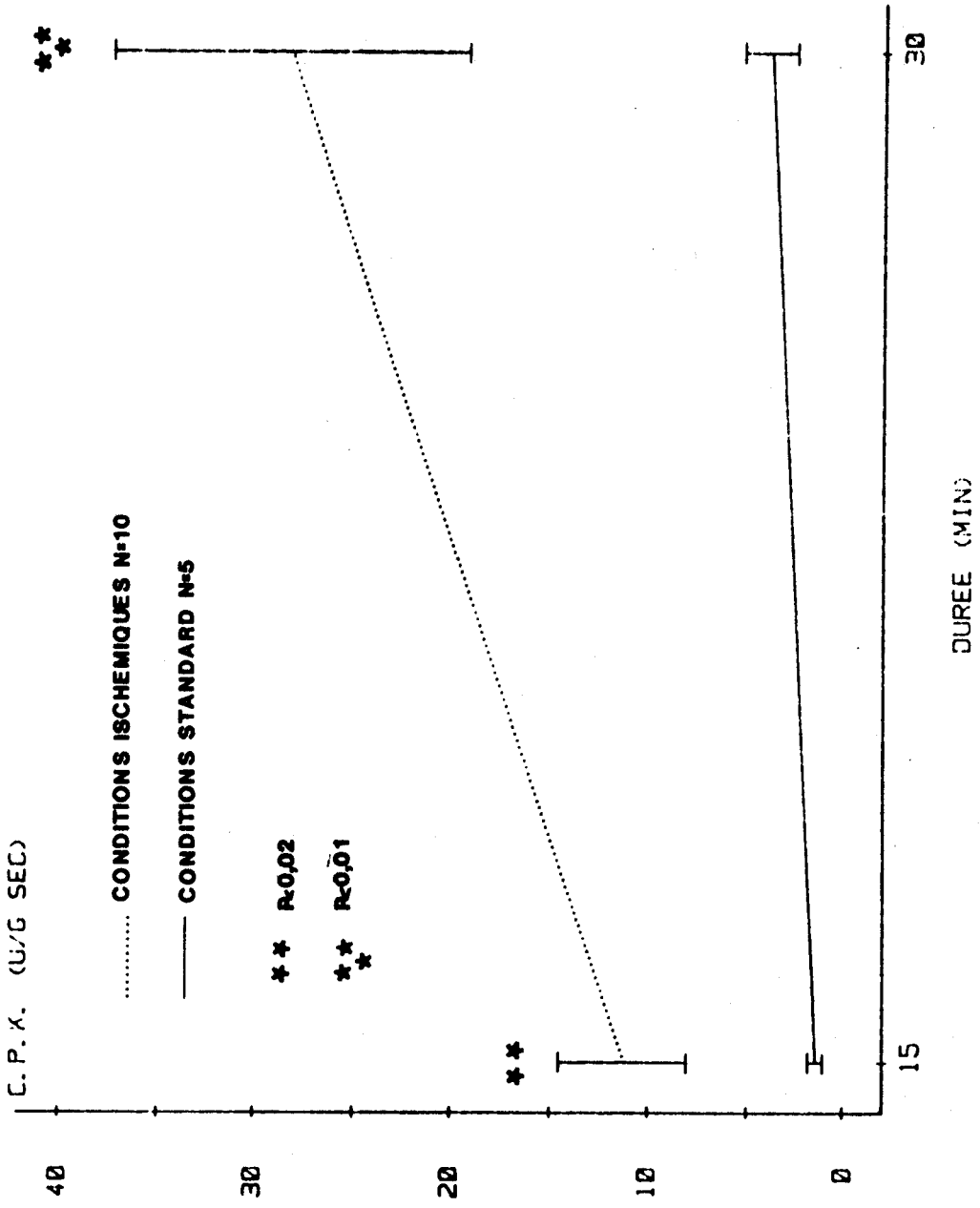


C.P.K. (U/G SEC)



Libération de C.P.K.

tableau 5



REPERFUSION DE LA SERIE ISCHEMIE / CONDITIONS STANDARD 135 ET 150 MINUTES

Libération de C.P.K.
 tableau 5bis



2) activité électrique de type décrémental

La préparation ne déclenche plus de potentiels d'action pour une stimulation régulière. Mais, après un arrêt de stimulation de 30 secondes, des stimuli de forte intensité (11 mA) déclenchent quelques potentiels d'action de type lent : la réponse électrique est décrémente (tableau 3). Ce phénomène est représenté en pointillé dans le tableau 7.

- 4 préparations sur 10 sont devenues définitivement inexcitables dès la 10ème minute d'ischémie et 5 dès la 15ème minute.
- Une réponse 1/1 est maintenue pour 1 préparation sur 9 jusqu'à la 30ème minute.
- Une activité de type 2 a été enregistrée jusqu'à la 45ème minute pour 5 préparations, jusqu'à la 60ème minute pour 3 préparations.
- Persistance de l'activité électrique :

	MOYENNE	ERREUR STANDARD A LA MOYENNE
Persistance de la réponse 1/1	12,1 minutes	2,56 minutes
Persistance de la réponse décrémente	20 minutes	7,34 minutes
Persistance de la réponse électrique (réponse 1/1 + décrémente)	32,1 minutes	7,53 minutes

REPONSE DECREMENTIELLE

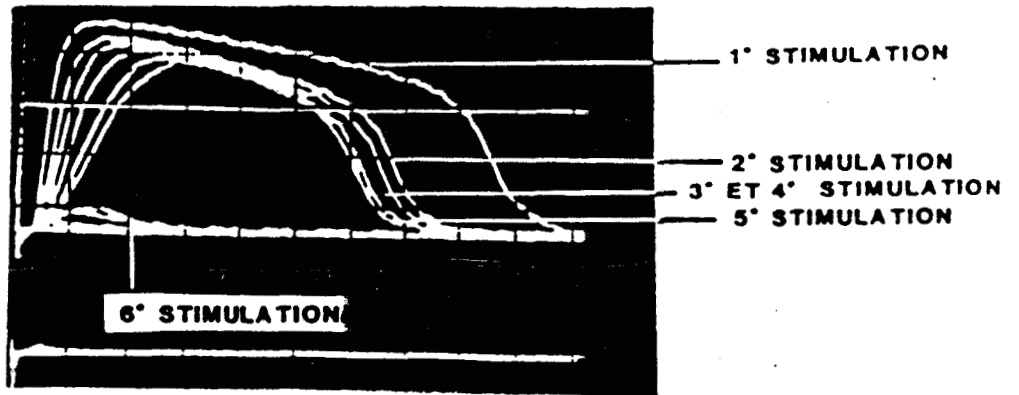
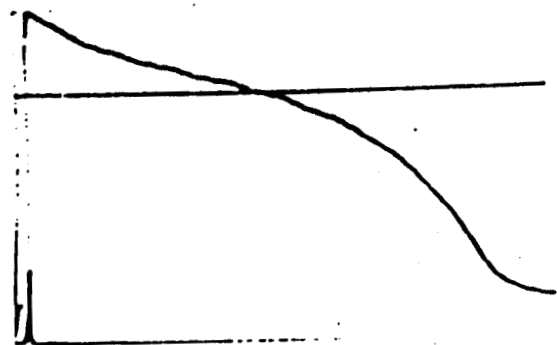


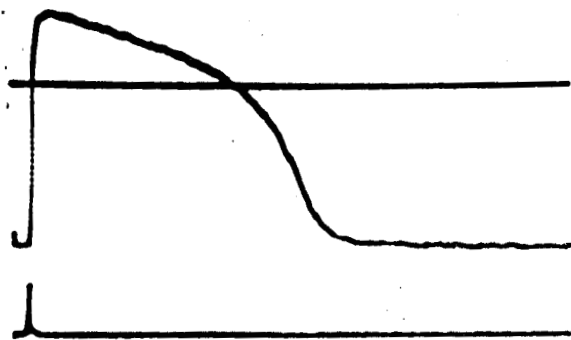
TABLEAU 3

20MV
20 MS
150 V/S

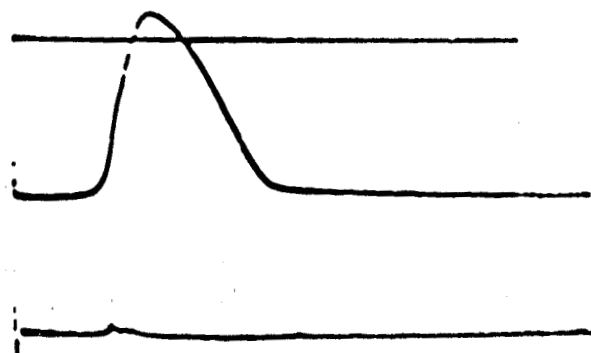
TEMOIN



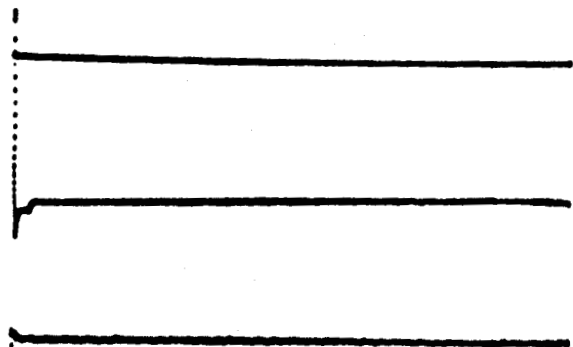
ISCHEMIE 5min



ISCHEMIE 10min



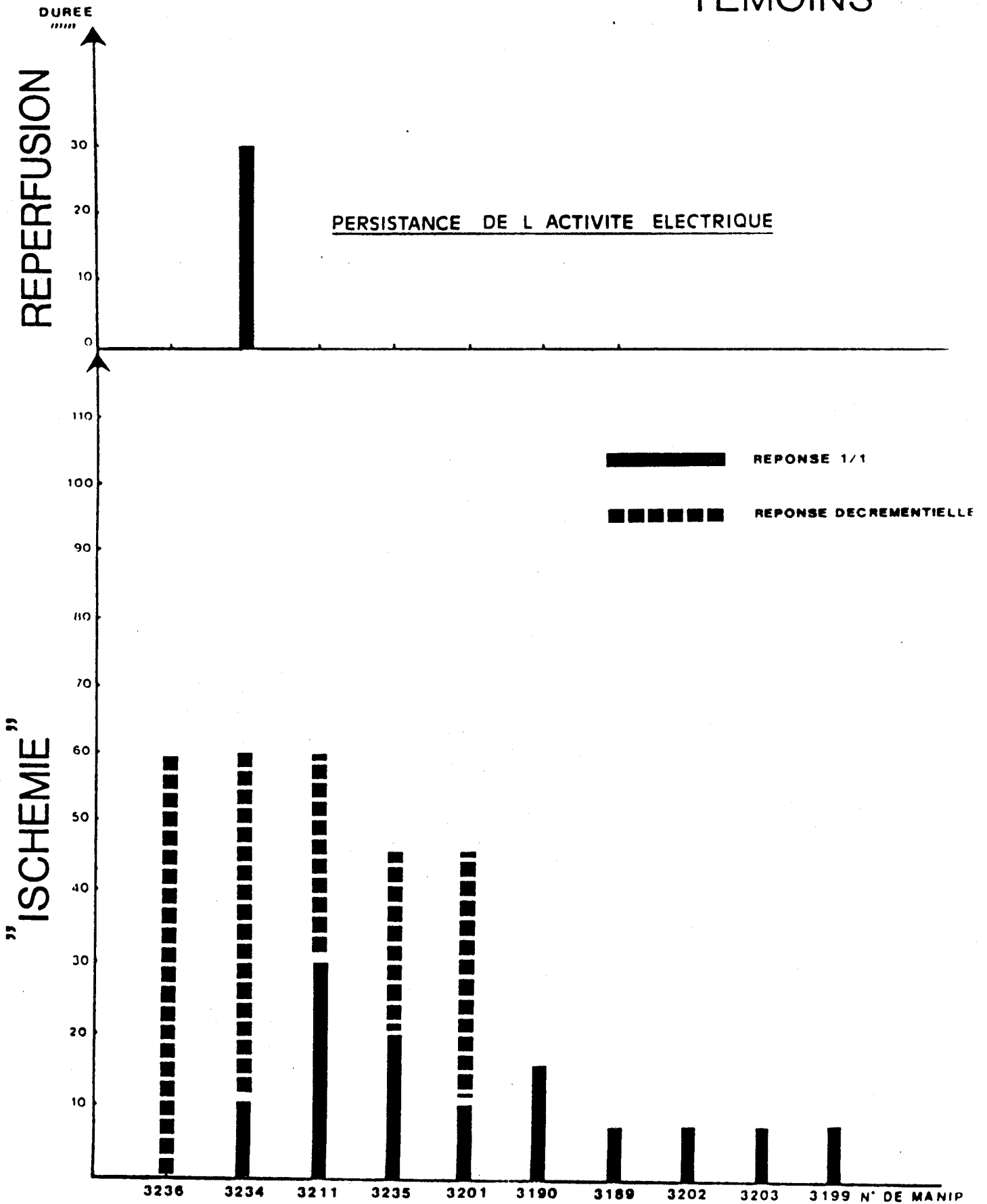
ISCHEMIE 15min



EXEMPLE D'ISCHEMIE



TEMOINS



TABEAU 7



TEMOINS (Effet de l'ischémie)

- moyenne

(-) erreur standard

à la moyenne

n = nombre d'essais

	Em (mV)	APA (mV)	DPA 50 (ms)	DPA 90 (ms)	Vmax V/s	seuil mA	n
Stabilisation	79,11 (1,51)	105,70 (3,48)	109,50 (10,22)	148,80 (11,56)	144,20 (12,22)	0,42 (0,10)	n=10
Ischémie 5 min	54,80 (1,57)	58,85 (5,53)	47,75 (8,29)	68,37 (9,27)	35,00 (12,19)	5,56 (1,55)	n=10
15 min	54,80 (2,81)	38,20 (11,47)	52,00 (19,69)	70,40 (22,60)	7,00 (7,00)	9,14 (1,86)	n=5
30 min	54,00 (2,34)	41,60 (13,74)	72,20 (24,70)	84,80 (26,72)	2,80 (1,71)	11 (0,00)	n=5
45 min	52,75 (2,17)	59,00 (8,31)	49,25 (25,66)	66,25 (28,03)	1,75 (1,75)	11 (0,00)	n= 5
60 min	57,00 (1,52)	37,00 (13,89)	29,00 (9,50)	61,66 (18,55)	9,33 (9,33)	11 (0,00)	n=3

	Em (mV)	APA (mV)	DPA 50 (ms)	DPA 90 (ms)	Vmax V/s	seuil mA	
Reperfusion 15 min	74,00	80,00	19,00	39,00	154,00	2,00	n=1
30 min	74,00	80,00	19,00	39,00	154,00	2,00	n=1

TABLEAU 9

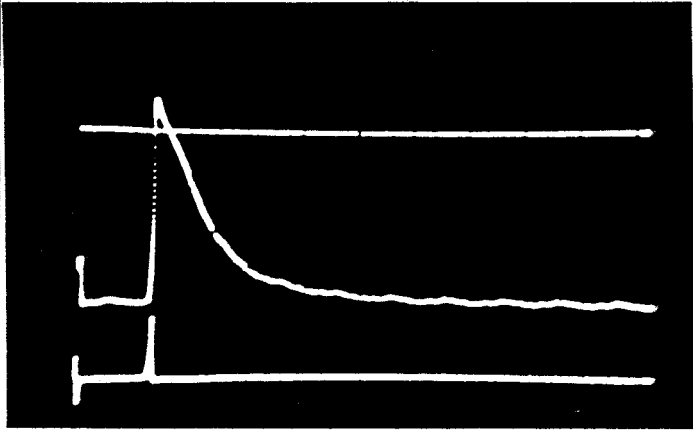
EFFET DE LA REPERFUSION



20 MV

20 MS

150 V/S



**RECUPERATION D'UNE
ACTIVITE ELECTRIQUE
APRES REPERFUSION
D'UNE PREPARATION
TEMOIN**

(MANIP. N°3234)

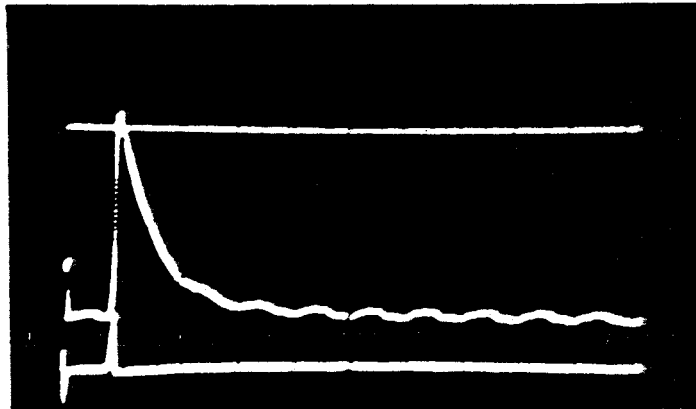


TABLEAU 10



2.1.2. Effets de la reperfusion : tableaux 7-9-10

La préparation sur 10 a retrouvé une activité électrique après reprise de la perfusion de Tyrode normal oxygéné. Cette activité n'était pas généralisée à toute la préparation et le potentiel d'action enregistré à l'allure d'un "spike".

2.2. Libération de CPK : tableau 5

2.2.1. Les 30 dernières minutes de stabilisation.

On observe une libération de 2,61 UI/g sec.

2.2.2. L'"ischémie".

A l'issue de 120 minutes d'ischémie, la libération totale de CPK est de 79,84 + ou - 10,30 UI/g sec.

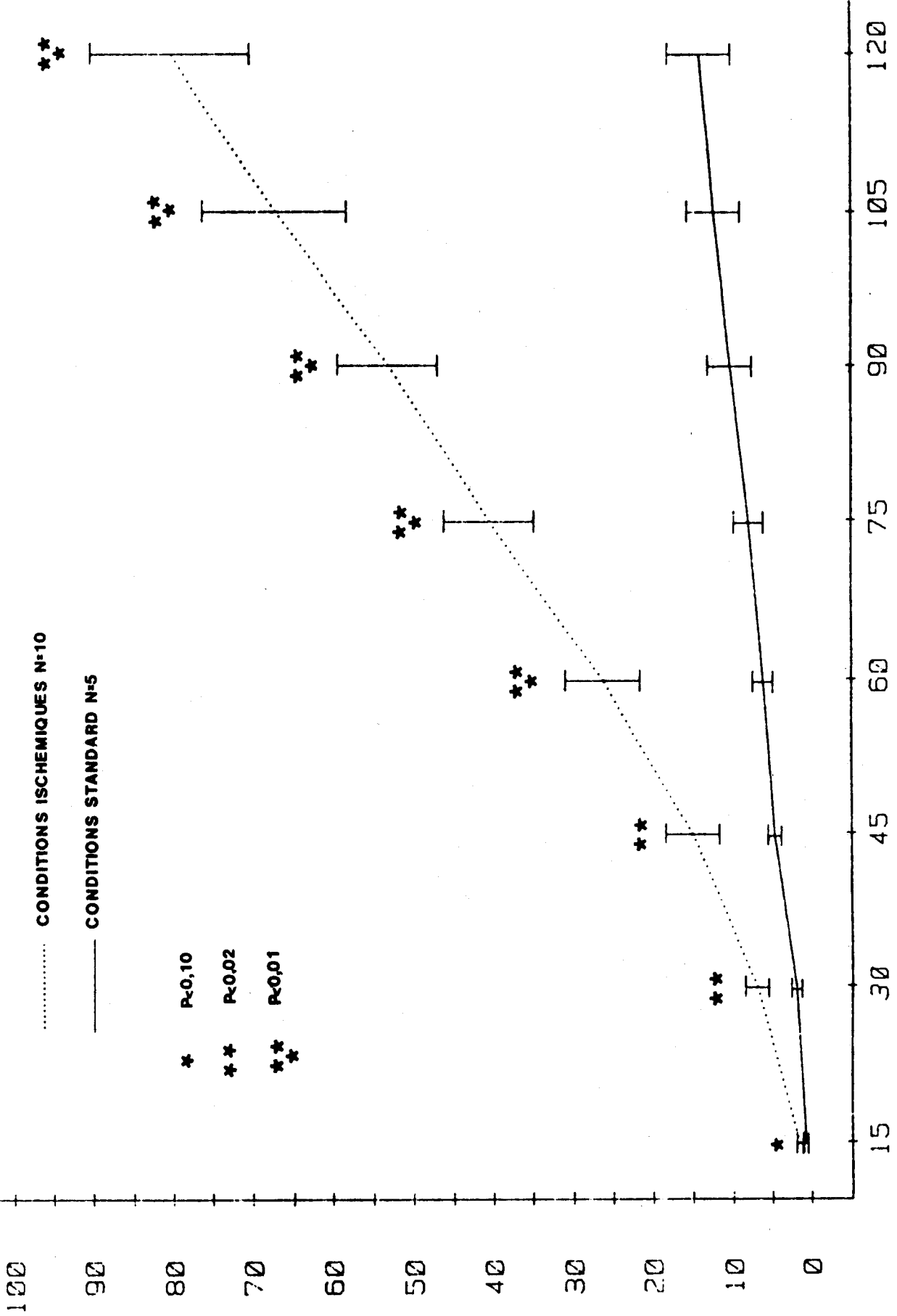
2.2.3. La reperfusion.

La libération de CPK se maintient ou même augmente légèrement au cours des 30 minutes de reperfusion ; en effet elle est de 28 UI/g sec du début de la perfusion jusqu'à la fin de celle-ci, alors qu'elle était de 26 UI/g sec de la 90ème à la 120ème minute d'ischémie.

2.3. Comparaison avec la série : situation contrôle.

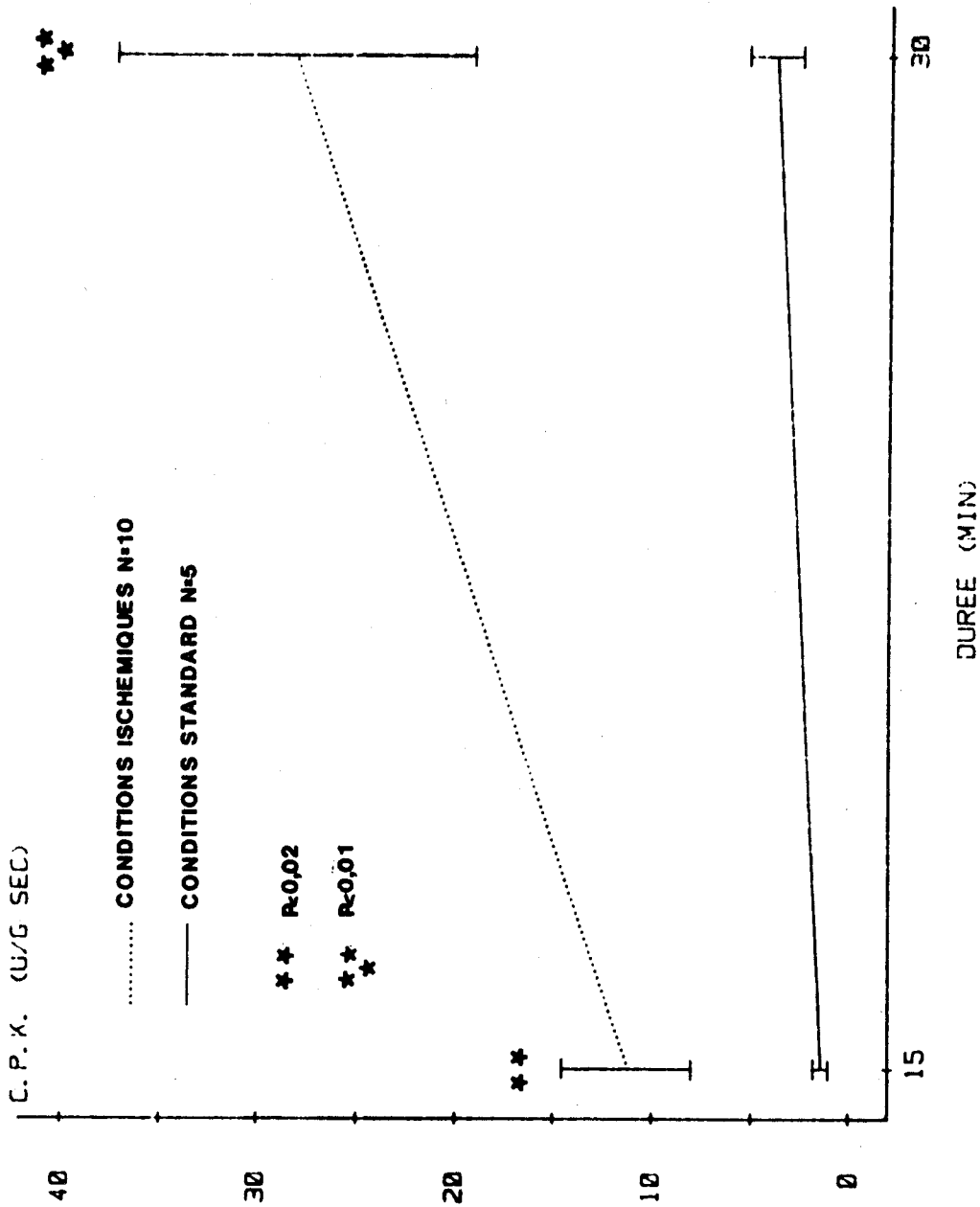
Dès la 15ème minute d'ischémie, la libération de CPK est plus forte en "ischémie" que dans la situation contrôle, p est inférieur à 0,10. Ce seuil passe à 0,02 à 45 minutes, puis à 0,01 jusqu'à la 120ème minute. A ce moment, la perte de CPK est de 14,00 + ou - 3,88 UI/gsec dans la série situation contrôle. Aux temps 135 minutes et 150 minutes de la perfusion en situation contrôle, la fuite de CPK est plus faible que pendant la reperfusion de la série ischémie ($p < 0,02$ et $p < 0,01$).

C.P.K. (0/6 SEC)



Libération de C.P.K.

tableau 5



REPERFUSION DE LA SERIE ISCHEMIE / CONDITIONS STANDARD 135 ET 150 MINUTES



3 - SERIE PROPRANOLOL

3.1. Electrophysiologie.

3.1.1. Effets d'un blocage des récepteurs béta-adrénergiques de 3 semaines sur l'électrophysiologie cardiaque in vivo.

Les cobayes ont subi pendant 3 semaines 2 injections (par voie intrapéritonéale) de propranolol par jour à raison de 4 mg/Kg par injection. Un électrocardiogramme de chaque cobaye a été enregistré par télémétrie avant la première injection et 12 heures après la dernière injection. La fréquence cardiaque et le QT corrigé ont été mesurés.

FREQUENCE : BATTEMENTS/MINUTE		QT corrigé (msec)	
Avant traitement	Après traitement	Avant traitement	Après traitement
moyenne 326	350	108	96
s \bar{x} 58	21	16	6
s \bar{x} 28	8	6	2
signification	NS	p < 0,10	

On n'observe pas de modification du rythme cardiaque mais une dispersion moins importante des fréquences.

Le QT corrigé est légèrement diminué après traitement (-12 msec) : ce résultat est à la limite de la signification ($p < 0,10$), la dispersion est également moindre après traitement.

3.1.2 Caractéristiques des potentiels d'action enregistrés in vitro.

Nous enregistrons les potentiels d'action myocardique à l'issue d'un bêta-blocage chronique et sous bêta-blocage aigu car les préparations sont baignées dès leur prélèvement et pour toute la durée de l'expérimentation dans un liquide physiologique contenant du propranolol 10^{-6} M .

Les potentiels d'action sont comparés à ceux de la série témoin.

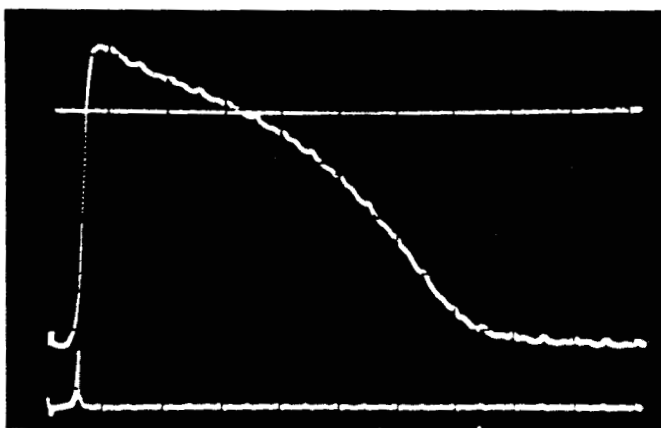
Caractéristique des potentiels et action : tableau II

SERIE TEMOIN			SERIE PROPRANOLOL		DIFFERENCE	
Em (mv)	m 79	s \bar{x} 1,5	79	s \bar{x} 1,2	0	
APA (mv)	101	3,5	99	1,5	- 2	
DPA ₅₀ (msec)	109	10,2	86	7,2	- 23	P<0,05
DPA ₉₀ (msec)	149	11,6	122	5,7	- 27	P<0,05
Vmax (V/sec)	144	12,2	127	17	- 17	
Seuil (mA)	0,42	0,10	0,50	0,13	+ 0,08	

On observe une diminution de durée des potentiels d'action à 50 % et 90 % de la repolarisation, de 23 msec et de 27 msec ; la vitesse maximale de dépolarisation chute sans signification.

3.1.3. Commentaires.

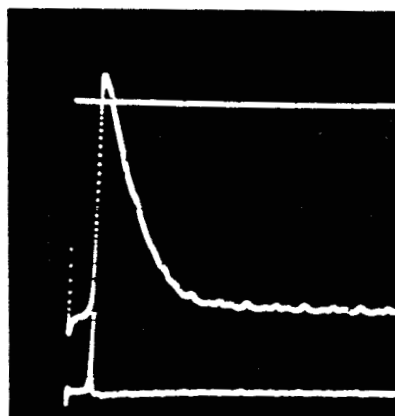
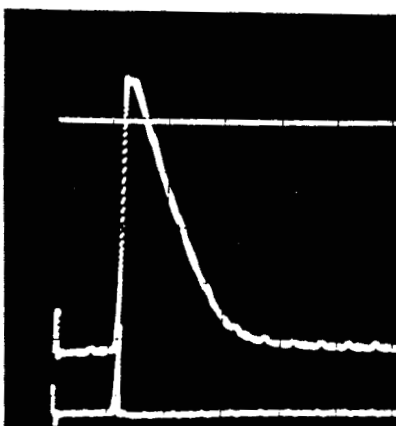
Nous n'observons pas de modification de rythme cardiaque après un traitement de 3 semaines ; ce résultat n'est pas différent de celui qu'enregistrent RAIME AEG et VAUGHAN WILLIAMS E.M. (1980) après avoir traité des lapins pendant la même durée. Ces auteurs ont, en 1976, mesuré un allongement du QT dans le même type d'expérience et TASGAL J. et VAUGHAN WILLIAMS E.M. (1981) ont confirmé l'allongement du QT corrigé après avoir traité des lapins pendant 6 semaines. RAIME AEG et VAUGHAN WILLIAMS E.M. (1980) ont de plus mesuré un allongement des potentiels d'action à l'issue d'un bêta-blocage chronique, ce qui est en corrélation avec l'allongement du QT observé par ces différents auteurs.



POTENTIEL D'ACTION ENREGISTRE SOUS PROPRANOLOL 10-6 M

20MV
 └── 20 MS

150 V/s
 └──



RECUPERATION D'UNE ACTIVITE ELECTRIQUE PENDANT LA REPERFUSION

SERIE PROPRANOLOL



A la différence de ces auteurs, MANNING A.S. et coll. (1981) n'ont pas mesuré d'allongement du QT ni du QT corrigé sur des coeurs isolés de cobayes traités pendant 3 semaines par un bêta-bloquant (de l'acébutolol, les autres expériences sont réalisées sous propranolol).

Ces résultats sont obtenus après un bêta-blocage chronique ; en aigu AMLIE J.P. et coll. (1982) observent un allongement de la durée et de la période réfractaire de potentiels d'action monophasiques enregistrés par des électrodes à succion chez le chien ; JAILLON P et coll. (1981) ne mesurent pas d'allongement du QT corrigé chez cet animal.

L'effet du propranolol est également étudié, en aigu, *in vitro* sur des fragments de myocarde. GAUTIER P. (1980) note que le propranolol au niveau ventriculaire à $2 \cdot 10^{-5}$ M diminue le potentiel de repos, l'amplitude et la vitesse maximale de dépolarisation ainsi que la durée à 80 % de repolarisation des potentiels d'action de fibres de Purkinje de chien ; ces effets sont beaucoup plus faibles, voire absents, avec la concentration de $4 \cdot 10^{-6}$ M. Le propranolol ne diminue pas la durée des potentiels d'action du tissu ventriculaire musculaire.

PAPP J.G. et VAUGHAN WILLIAMS E.M. (1969) observent que le (-) propranolol (10^{-6} M) diminue l'amplitude (-8,4 mv), la vitesse maximale de dépolarisation (- 23,3 V/sec) et la durée des potentiels d'action à 50 % (- 2,7 msec) et 90 % (-4,1 msec) de la repolarisation d'oreillettes isolées de lapins.

Nous observons une diminution importante des durées des potentiels d'action mesurés à 50 % et 90 % de la repolarisation (-23 msec et -27 msec) et une diminution de la vitesse maximale de dépolarisation. La diminution de la vitesse maximale de dépolarisation correspond certainement à l'effet inhibiteur du canal sodique rapide de cette drogue, même à cette faible concentration (10^{-6} M) et n'est pas en opposition avec les résultats des différents auteurs. Par contre, l'importante diminution de durée des potentiels d'action que nous observons ne correspond pas à ce qui est habituellement décrit à l'issue d'un bêta-blocage chronique ou aigu (avec mesure dans ce cas des effets *in vivo*) car l'allongement de durée est alors mesuré.

Un bêta-blocage aigu in vitro entraîne une faible diminution de durée des potentiels d'action (PAPP J.G. et VAUGHAN WILLIAMS E.M., 1969).

Les résultats des différents auteurs sont homogènes entre eux, car l'allongement du QT corrigé est en corrélation avec l'allongement de durée des potentiels d'action. Sur ce point, nos résultats sont aussi homogènes entre eux, car nous observons une diminution du QT corrigé et de la durée des potentiels d'action.

Les travaux que nous avons rapportés sont réalisés chez le chien et le lapin et nos expériences sur le cobaye. Le cobaye réagit peut-être de façon différente, car MANNING A.S. et coll. (1981) n'ont pas mesuré d'allongement du QT ni du QT corrigé sur des coeurs isolés de cobayes, alors que ces animaux étaient sous inhibiteur des récepteurs bêta-adrénergiques (acébutotol) depuis 3 semaines.

3.1.4.1. Effets de l'"ischémie" sur les potentiels d'action : tableaux 12-14-15

Les préparations "ischémiées" sous propranolol subissent les mêmes modifications des caractéristiques des potentiels d'action que les préparations témoins, mais l'inexcitabilité est beaucoup plus rapidement atteinte. 2 préparations sur 7 sont inexcitables avant la 5ème minute d'ischémie et les 5 autres le sont dès cet instant. On n'observe aucune activité électrique de type décrémental.

SERIE PROPRANOLOL 10^{-6} M

EVOLUTION DE L'ACTIVITE ELECTRIQUE EN "ISCHEMIE"

- Situation contrôle : n = 7

Em (mv)	m : 79	s(\bar{x}) : 1,2
APA (mv)	99	1,5
DPA ₅₀ (msec)	86	7,2
DPA ₉₀ (msec)	122	5,7
Vmax V/sec	127	17,8
SED mA	0,50	0,13

- "Ischémie" 5 mn : n = 5

Em (mv)	m : 53,4	s(\bar{x}) : 1,6
APA (mv)	46	10,2
DPA ₅₀ (msec)	36,2	3,8
DPA ₉₀ (msec)	49,0	4,8
Vmax V/sec	21,0	12,3
SED mA	2,5	0,8

TABLEAU 12



- Inexcitable jusqu'à la fin de "l'ischémie" (120 min)

Reperfusion

	15 min n = 6		30 min n = 6	
Em (mv)	m : 72,3	s \bar{x} : 2,1	m : 73,5	s \bar{x} : 1,5
APA (mv)	85,1	4,8	79,3	3,4
DPA ₅₀ (msec)	28,3	3,6	19,2	4,1
DPA ₉₀ (msec)	48,0	5,2	32,0	6,4
Vmax V/sec	142,3	21,3	129,5	23,9
SED mA	2,56	0,56	1,80	0,41

TABLEAU 13



PROPRANOLOL 10^{-6} M

PERSISTANCE DE L ACTIVITE ELECTRIQUE

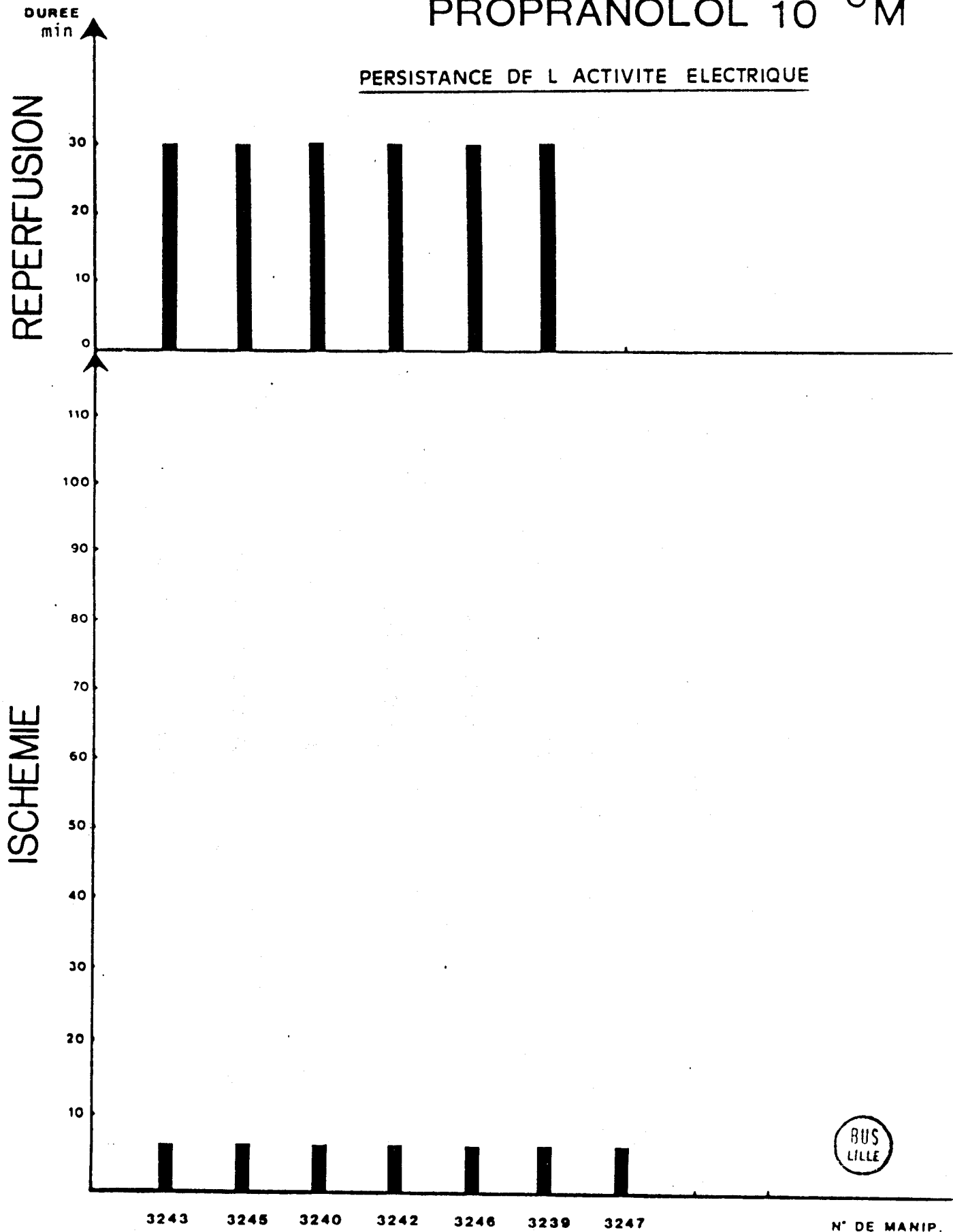
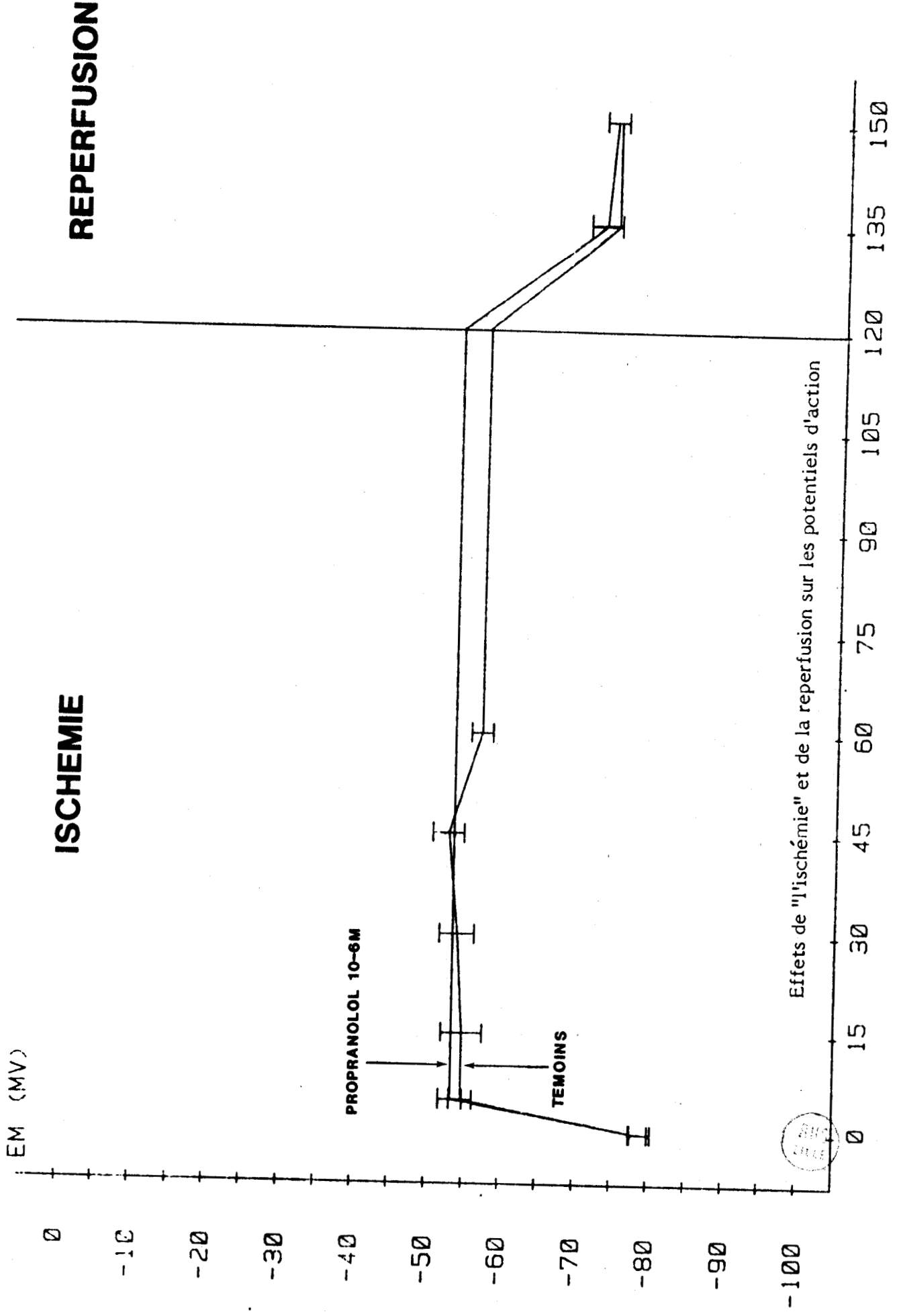


TABLEAU 14



Effets de "l'ischémie" et de la reperfusion sur les potentiels d'action

DUREE (MIN) tableau 15-1-



A. P. A. (MV)

ISCHEMIE

REPERFUSION

Effets de "l'ischémie" et de la reperfusion sur les potentiels d'action

PROPRANOLOL 10-6M

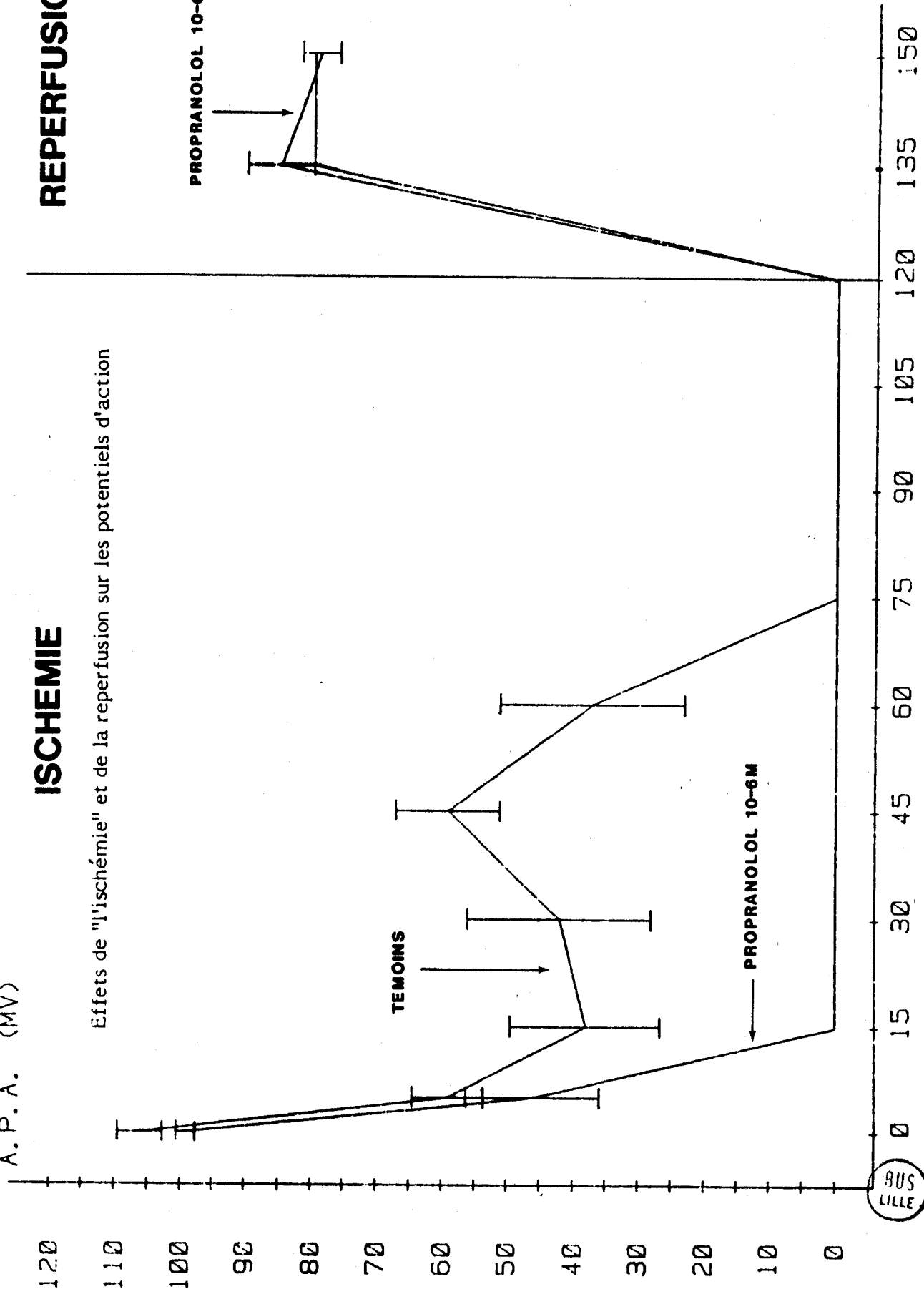
TEMOINS

PROPRANOLOL 10-6M

DUREE (MIN)

BUS LILLE

tableau 15-2-

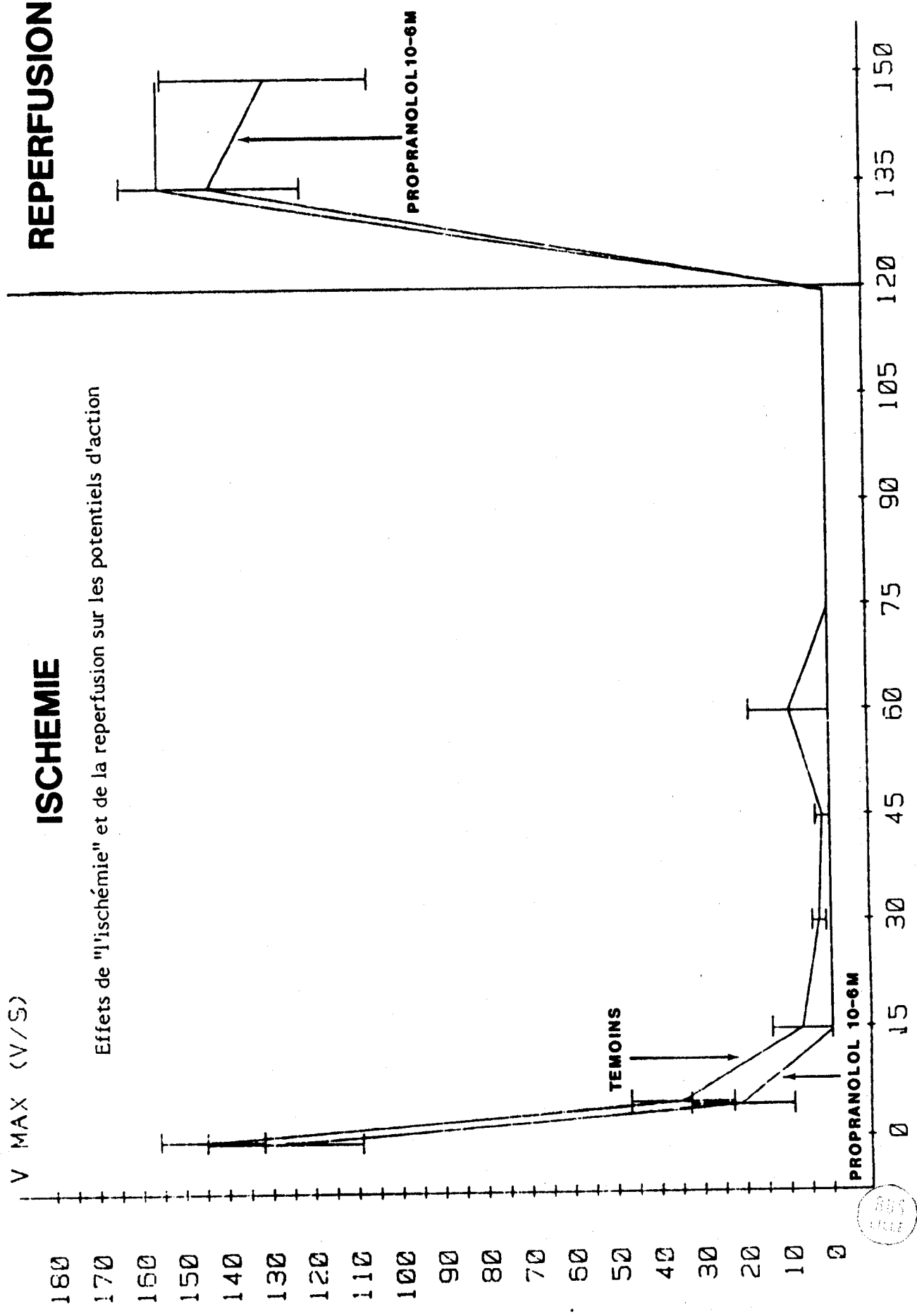


V MAX (V/S)

ISCHEMIE

Effets de "l'ischémie" et de la reperfusion sur les potentiels d'action

REPERFUSION



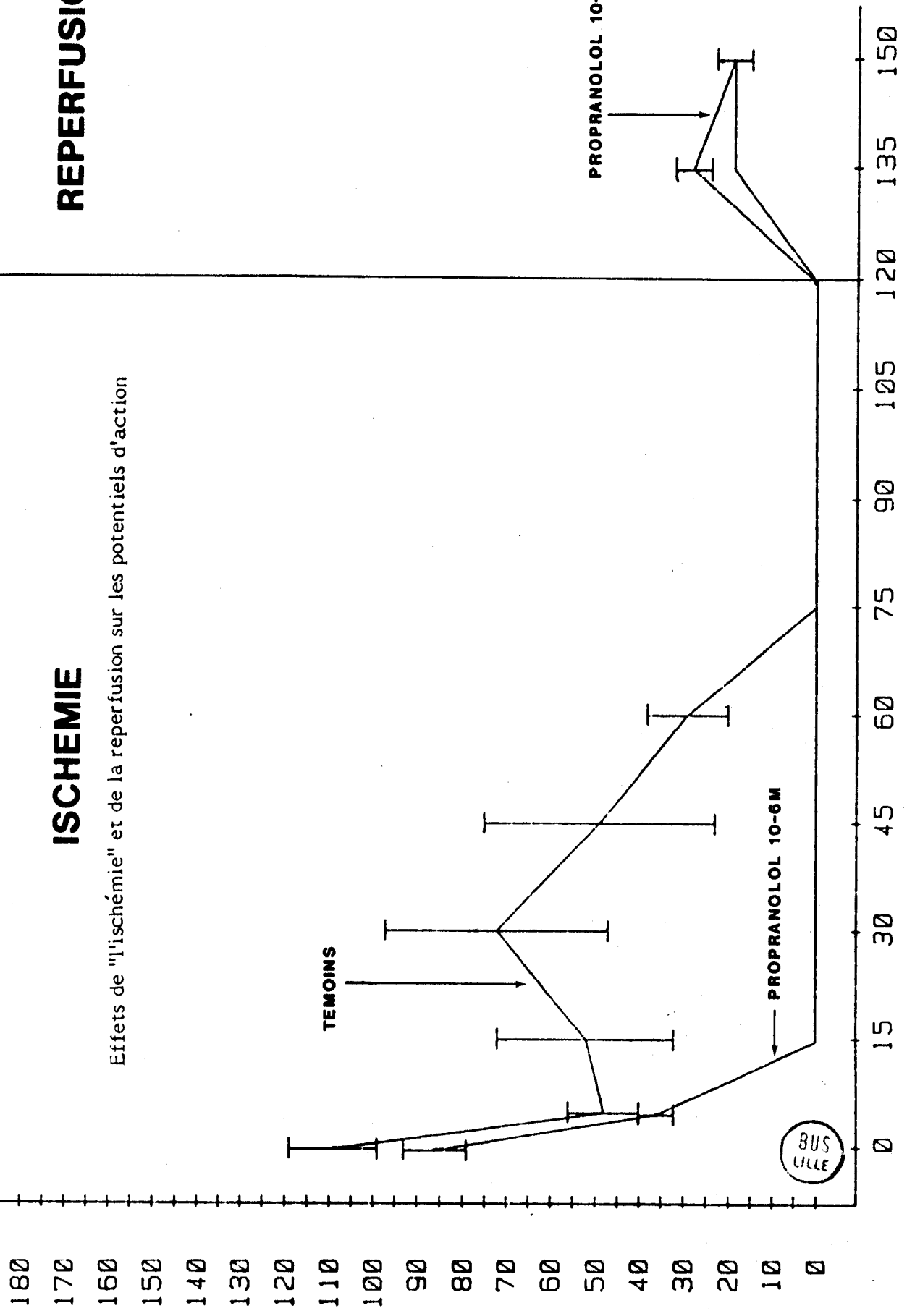
DUREE (MIN)

D. P. A. 50 (MSEC)

ISCHEMIE

Effets de "l'ischémie" et de la reperfusion sur les potentiels d'action

REPERFUSION

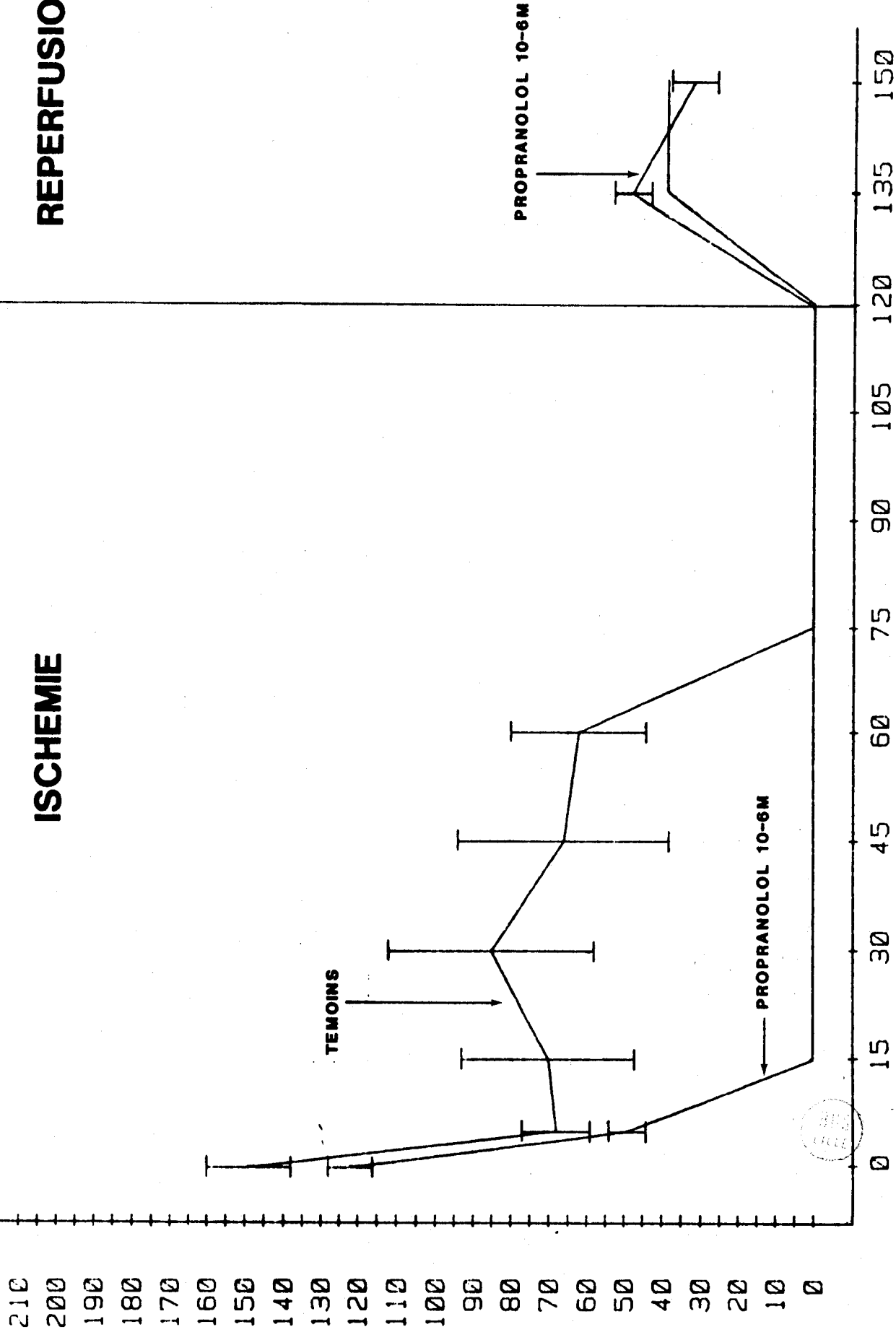


BUS LILLE

DUREE (MIN)

ISCHEMIE

REPERFUSION



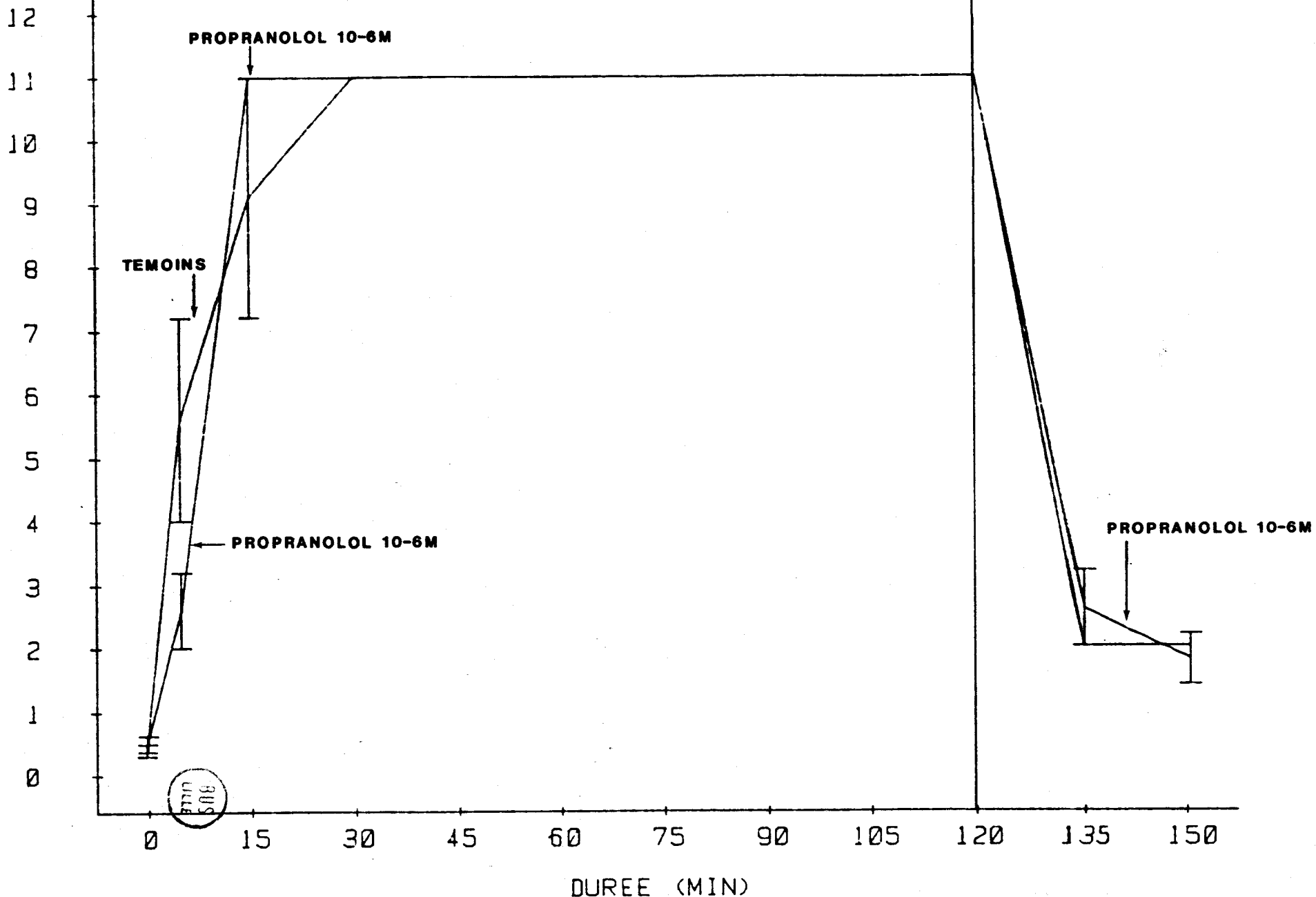
DUREE (MIN)

Effets de "l'ischémie" et de la reperfusion sur les potentiels d'action
tableau 15-5-

S. E. D. (MA)

ISCHEMIE

REPERFUSION



DUREE (MIN)
Effets de "l'ischémie" et de la reperfusion sur les potentiels d'action
tableau 15-6-

3.1.4.2. Comparaison de la persistance de l'activité électrique dans la série témoin et propranolol - 10^{-6} M en "ischémie" (voir tableaux 7-14)

	SERIE TEMOIN	SERIE PROPRANOLOL	SIGNIFICATION
durée totale de l'enregistrement d'une activité électrique	M 32,1 minutes \bar{sx} : 7,53 minutes	M 4,43 minutes \bar{sx} : 0,37 minutes	$p < 0,01$
durée de l'enregistrement d'une activité électrique réponse 1/1	M 12,1 minutes \bar{sx} : 2,56 minutes	M 4,43 minutes \bar{sx} : 0,37 minutes	$p < 0,05$
durée de l'enregistrement d'une activité électrique réponse décrementielle	M 20 minutes \bar{sx} : 7,34 minutes	M : 0 minute \bar{sx} : 0 minute	$p < 0,05$

BUS
LILLE

3.1.5 Effets de la reperfusion (voir tableaux 11-13-14-15-)

6 préparations sur 7 ont retrouvé une activité électrique à l'issue de la reperfusion, alors qu'une seule préparation témoin sur 10 a retrouvé une activité pendant cette étape expérimentale.

Les potentiels d'action enregistrés sont mal polarisés (- 73,5 mv), de faible amplitude (79 mv) et courts ($DPA_{50} = 19$ msec ; $DPA_{90} = 32$ msec).

SERIE PROPRANOLOL 10⁻⁶ M

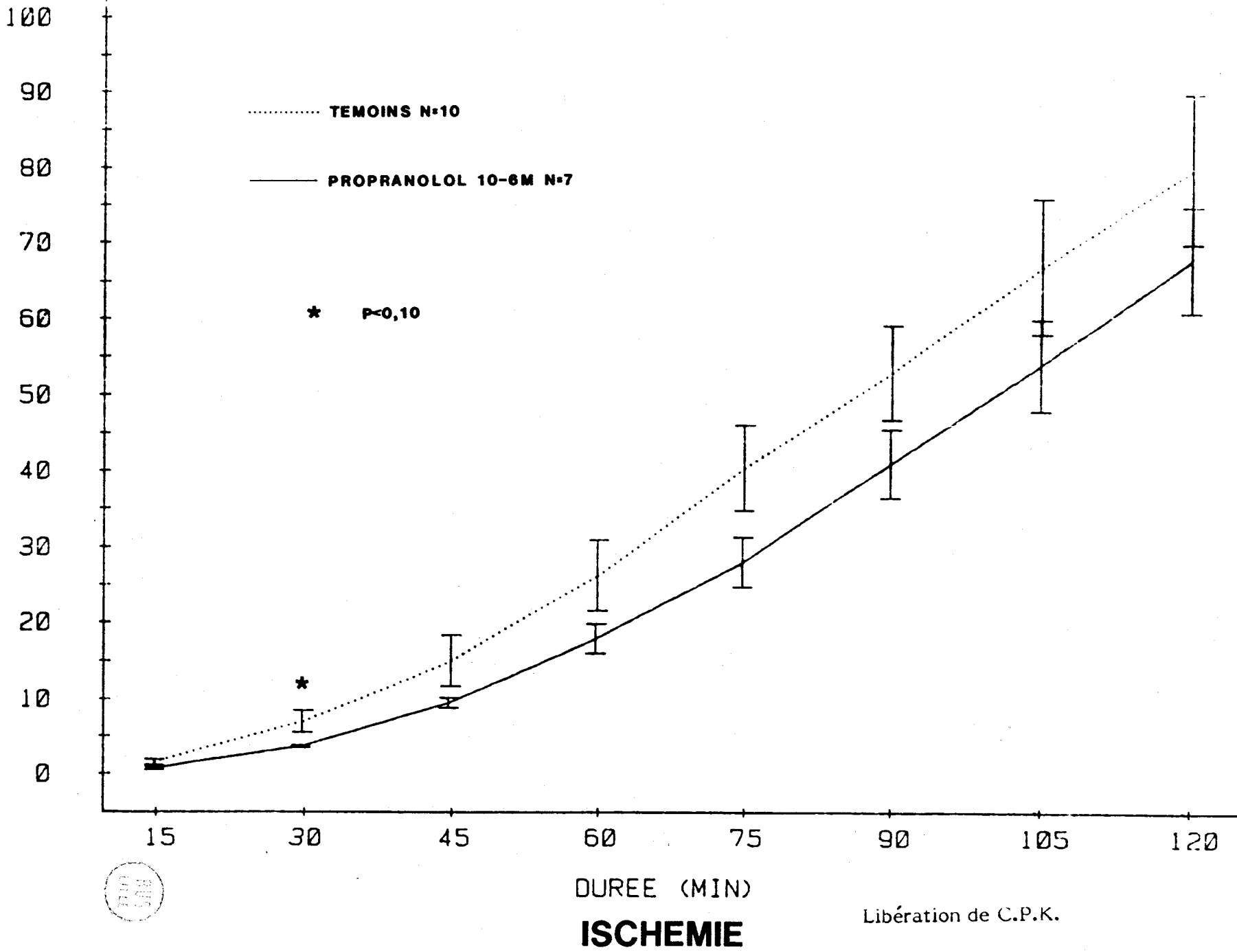
Libération de CPK - Effectif cumulé

UI/gsec, n = nombre d'essais, m moyenne, sd = erreur standard à la moyenne

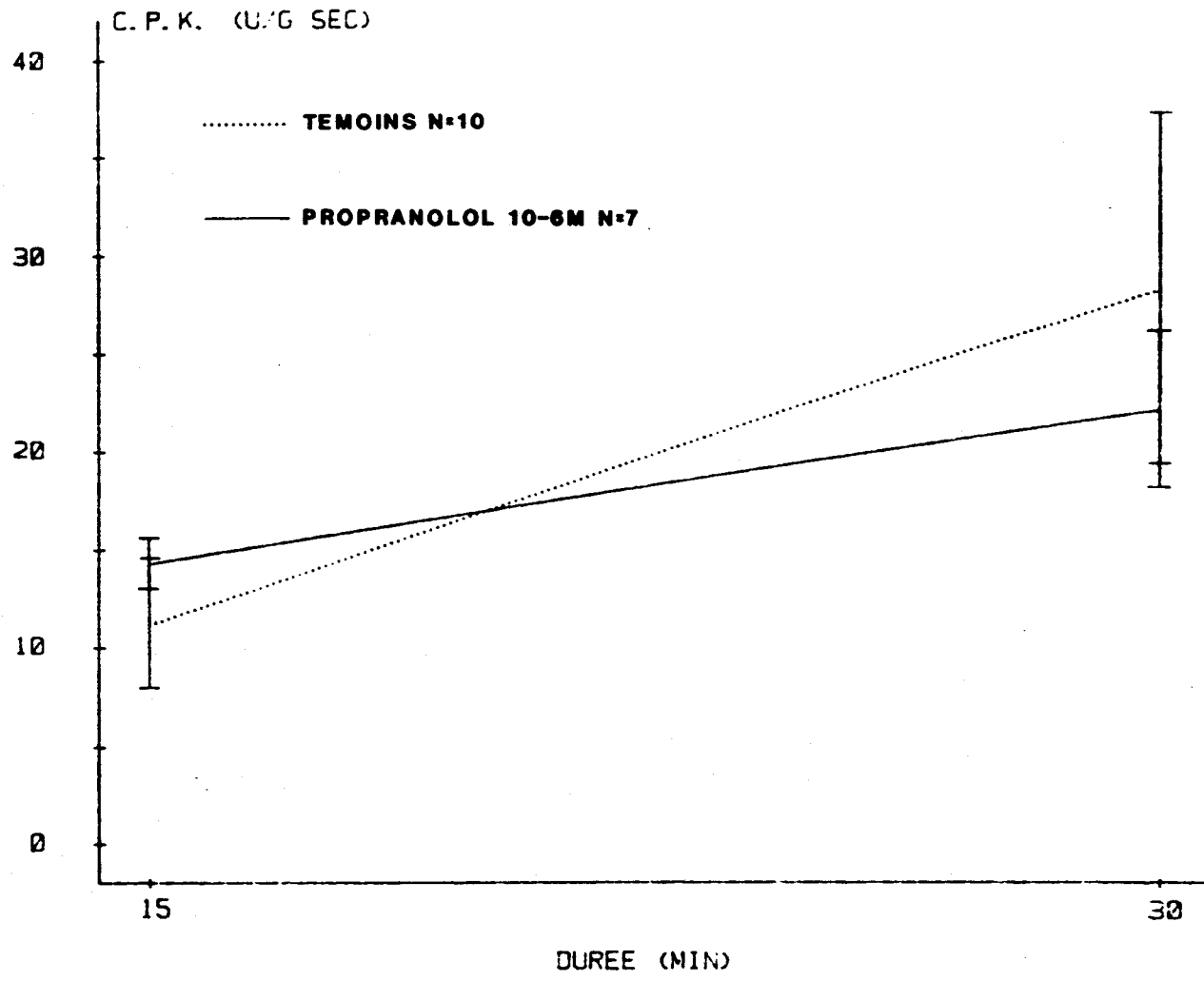
	SERIE TEMOIN (n = 10)		SERIE PROPRANOLOL 10 ⁻⁶ (n = 7)	
	m	sd	m	sd
<u>Contrôle</u> 150 mn 180 mn	2,61	0,48	2,24	0,39
<u>"Ischémie"</u>				
15 min	1,55	0,44	0,74	0,21
30 min	7,07	1,46	3,64	0,25 p < 0,10
45 min	15,13	3,29	9,55	0,69
60 min	26,21	4,74	17,86	1,85
75 min	40,40	5,73	28,49	3,33
90 min	53,07	6,25	40,64	4,54
105 min	68,68	8,74	54,30	5,94
120 min	79,84	10,30	67,73	6,99
<u>réperfusion</u>				
15 min	12,97	3,49	14,34	1,43
30 min	28,16	9,10	22,13	4,12

TABEAU 17





Libération de C.P.K.



REPERFUSION

Libération de C.P.K.
tableau 18bis



3.2. Mesure de la fuite de CPK : voir tableaux 17-18

3.2.1 Les 30 dernières minutes de stabilisation.

La fuite enzymatique est identique à celle de la série témoin "ischémie" 2,24 U/gramme de tissu sec, contre 2,61.

3.2.2 L'"ischémie"

L'activité cumulée en CPK est légèrement plus faible dans la série propranolol que dans la série témoin. La différence n'est jamais significative sauf à la 30ème minute d'ischémie où elle l'est faiblement ($p < 0,10$). Toutefois, la fuite enzymatique sous propranolol semble être retardée de 15 minutes par rapport à la série témoin.

3.2.3 La reperfusion

On n'observe aucune différence entre les deux séries après 15 et 30 minutes de reperfusion. Après 15 minutes de reperfusion, la libération de CPK est de 12,97 U/gramme de tissu sec dans la série témoin et de 14,34 U/gramme de tissu sec dans la série propranolol ; après 30 minutes, elle est de 28,16 U/gramme de tissu sec dans la série témoin et de 23,13 U/gramme de tissu sec dans la série propranolol.

3.3. Discussion partielle

3 éléments sont à retenir :

- 1) L'activité électrique disparaît beaucoup plus rapidement en ischémie sous propranolol.
- 2) Le propranolol ne réduit pas significativement la fuite de CPK pendant l'ischémie et la reperfusion.
- 3) La récupération de l'activité électrique est plus fréquente sous propranolol mais de mauvaise qualité (Potentiels d'action mal polarisés et courts).

Le propranolol déprime fortement en "ischémie" l'activité électrique myocardique ; la dose utilisée 10^{-6} M est théoriquement uniquement bêta-bloquante sans effet anesthésique local. (BARETT A.M. et CULLUM V.A., 1968). Ce résultat est identique à ceux que nous avons obtenus avec des antiarythmiques de classe I (lidocaïne, procaïnamide, et diphénylhydantoïne) (DURIEZ P., 1981). Ces substances qui ont le pouvoir de déprimer la conductance sodique rapide suppriment à des concentrations dix fois plus faibles que les concentrations plasmatiques thérapeutiques, l'activité électrique de cellules cardiaques "ischémiées" par les conditions de ce modèle.

MANNING A.S. et coll. (1981) ont montré que le propranolol, en adinistration aiguë ou chronique, ne protège des coeurs ischémiés isolés de rats à des doses bêta-bloquantes qu'en présence de catécholamines. Ils ont également montré (1980) que le propranolol et l'oxprenolol ne réduisent pas la fuite de CPK sur ces coeurs quand les battements de la préparation sont arrêtés par une solution hyperpotassique. Selon ces auteurs, le bêta-blocage de récepteurs adrénergiques serait efficace en diminuant l'inotropisme pendant l'ischémie.

Nos préparations ne sont pas soumises à une perfusion de catécholamines pendant l'ischémie ; le propranolol ne peut donc jouer parfaitement son rôle bêta-bloquant et limiter l'effet aggravant que pourrait avoir cette perfusion de catécholamine. (Nous avons réalisé une expérience d'"ischémie" sous Noradrenaline (sans propranolol) et n'avons pas observé une augmentation de la fuite de CPK ; cette expérience est unique et il est impossible d'en tenir compte). Il s'agit là d'un point important que nous pensons étudier ultérieurement. D'autre part, il est probable que le relargage de catécholamines endogènes soit limité pendant l'"ischémie" car la préparation est déjà perfusée et stimulée électriquement depuis 3 heures quand l'"ischémie" est établie et de plus le coeur de cobaye relargue peu de catécholamines endogènes (DIETZ R. et coll., 1981).

Nos conditions ne sont donc certainement pas favorables à la mise en évidence d'une "cardioprotection" par un bêta-bloquant ; pourtant d'autres auteurs ont observé cette protection sur des coeurs isolés sans les soumettre à une perfusion de catécholamines (BUSH L.R. et coll., 1980 ; CHONG M.A. et coll., 1980...) et NAYLER W.G. et coll. (1980) ont montré que les mitochondries de coeurs prétraités par du propranolol résistent mieux à l'ischémie.

Selon MANNING A.S. et coll. (1980), le blocage des récepteurs béta-adrénergiques est "protecteur" par la diminution de l'inotropisme qu'il provoque pendant l'ischémie. Nous n'avons pas mesuré l'activité contractile de la préparation mais l'activité électrique de celle-ci. On sait que l'activité électrique initialise la contraction et, même si en ischémie l'activité contractile disparaît avant l'activité électrique, on peut admettre que chaque potentiel d'action déclenché sans activité contractile, permet l'entrée de calcium dans la cellule par le canal calcico-sodique lent. On connaît l'effet néfaste de l'élévation du calcium intracellulaire sur les cellules ischémiées. Dans nos essais, l'activité électrique a disparu après 4,4 minutes d'ischémie sous propranolol et après 12,1 minutes d'ischémie dans la série témoin, c'est-à-dire, que pendant près de 7 minutes en moyenne, les préparations témoins ont déclenché des potentiels d'action à chaque stimulation, alors que les préparations propranolol étaient au repos.

Les préparations témoins ont donc peut-être manifesté une activité mécanique plus durable en ischémie que les préparations propranolol, ou tout au moins les préparations témoins ont maintenu l'activation de la conductance calcique plus longtemps, et on sait que l'ischémie ne facilite pas l'extrusion du calcium de la cellule. Sans être très significative, la fuite enzymatique est plus faible à la 30ème minute d'ischémie dans la série propranolol 3,64 U/gramme de tissu sec contre 7,07 U/gramme de tissu sec ($p < 0,10$) dans la série témoin "ischémie". Il est intéressant d'observer que c'est à cet instant qu'un seuil de signification (même imparfait) est atteint car c'est à cet instant que disparaît l'activité décrémenteille des préparations témoins (activité à forte composante calcique).

La perte rapide de l'excitabilité en ischémie expliquerait donc la plus faible libération de CPK non significative. Quoi qu'il en soit, le faible effet bénéfique du propranolol semble se perpétuer avec la même intensité tout au long de l'ischémie.

En effet, la différence de perte de CPK entre les 2 séries est à la 30ème minute de : $7,07 \text{ U/g sec} - 3,64 \text{ U/g sec} = 3,43 \text{ U/g sec}$. Si la fuite de CPK est limitée avec la même intensité dans la série propranolol pendant toute l'ischémie, la différence de perte doit être de $4 \times 3,43 = 13,72 \text{ U/gramme de tissu sec}$ après 120 minutes d'ischémie. Or, elle est de $79,84 \text{ U/g sec} - 67,73 \text{ U/g sec} = 12,11 \text{ U/g sec}$. Les deux chiffres sont donc très proches.

Deux explications sont envisageables :

- 1) - Le propranolol limite faiblement la fuite de CPK par un processus continu du temps 0 minute à 120 minutes d'ischémie.
- 2) - Nous avons vu que différents auteurs montrent que la perte enzymatique est liée à une déplétion de l'ATP intracellulaire. Comme les préparations sous propranolol sont devenues plus rapidement inexcitables, on peut admettre qu'elles ont cessé de se contracter plus précocement pendant "l'ischémie". On sait que la contraction consomme de grandes quantités d'ATP ; on peut donc supposer que l'arrêt rapide de la contraction en "ischémie" épargne un stock d'ATP et que ce stock limite la fuite enzymatique pendant la suite de "l'ischémie".

Quoi qu'il en soit, la fuite enzymatique sous propranolol n'est pas significativement réduite en "ischémie" et la perte d'excitabilité en début d'ischémie ne semble pas être un facteur important de protection.

Les résultats obtenus lors de la reperfusion sont contradictoires car d'une part, il n'y a pas de protection enzymatique et d'autre part, 6 préparations sur 7 récupèrent une activité électrique. La récupération est de mauvaise qualité mais la fréquence de récupération est nettement plus grande que pour les préparations "témoins" (1 récupération sur 10 essais).

Ce résultat laisse supposer que la fuite enzymatique peut être importante et peu différente de celle des préparations témoins sans que l'activité électrique soit définitivement perdue.

Les potentiels d'action récupérés sont courts ($DPA_{90} = 32$ msec ; le seul potentiel d'action récupéré dans la série témoin est également court). Ces potentiels ne présentent pas de plateau calcique et ont l'allure de "spike" (ils ne dépendent certainement que de la conductance sodique rapide) ; le propranolol n'empêche donc pas la perte de la conductance calcicosodique. On sait que le nombre de canaux Ca^{++}/Na^{+} du courant entrant lent est contrôlé par la phosphorylation de sites spécifiques de la membrane par l'AMP cyclique (SCHNEIDER J.A. et SPERELAKIS N., 1975 ; REUTER H. et SCHOLZ H., 1977). Le propranolol ne préserve probablement pas ces sites en "ischémie".

Les potentiels d'action récupérés pendant la reperfusion sont enregistrés à divers points de la préparation qui peuvent être éloignés de l'électrode de stimulation. L'onde d'excitation se propage de cellule à cellule. Les cellules ont donc maintenu leur jonction entre elles et/ou la résistance à la propagation de l'influx n'est pas devenue excessive pendant l'ischémie. Si on considère la fuite enzymatique comme un indice de lésions membranaires, on peut supposer que l'intensité des lésions est identique entre la série témoin "ischémie" et la série propranolol. La protection fonctionnelle que l'on observe sous propranolol (récupération d'une activité électrique à la reperfusion) n'est pas en corrélation avec le manque de protection de l'intégrité membranaire (que traduit théoriquement la fuite enzymatique). Nous n'avons aucune hypothèse sérieuse à émettre sur la nature de cette discordance.

Le résultat que nous avons obtenu est peu démonstratif d'une "cardioprotection". Nous avons vu dans la bibliographie, que les résultats des différents auteurs sont aussi très contradictoires. Le modèle dont nous disposons n'est donc certainement pas approprié dans l'état de son développement à la mise en évidence d'une cardioprotection par un bêta-bloquant.

4 - SERIE "INHIBITEURS DES MOUVEMENTS DU CALCIUM"

- diltiazem 10^{-6} M 5 essais,
- diltiazem 10^{-5} M 5 essais,
- vérapamil 10^{-5} M 7 essais.

4.1. Electrophysiologie cellulaire.

4.1.1 Action des inhibiteurs du canal lent sur les potentiels d'action témoins.

4.1.1.1 Diltiazem 10^{-6} M : tableaux 19-20

On n'observe pas de modification significative des caractéristiques des potentiels d'action.

4.1.1.2 Diltiazem 10^{-5} M : tableaux 19-20

On observe une diminution de la durée des potentiels d'action. La DPA_{50} diminue de 14,70 msec ($p > 0,05$) et la DPA_{90} de 10,3 msec ($p < 0,05$).

4.1.1.3 Vérapamil 10^{-5} M : tableaux 19-21

On observe également une diminution de la durée des potentiels d'action. La DPA_{50} diminue de 23,8 msec ($p > 0,05$) et la DPA_{90} de 18 msec ($p < 0,05$). La vitesse maximale de dépolarisation diminue de 17 V/sec.

4.1.1.4 Commentaires.

Ces résultats signent la classique triangulation des potentiels d'action sous inhibiteurs du canal lent.

	Em mV	APA mV	DPA 50 msec	DPA 90 msec	Vmax V/s	seuil mA
TEMOINS n=5	80,4 _{2,4}	108,2 _{3,6}	107,2 _{7,2}	149,2 _{11,7}	148,2 _{33,5}	0,2 _{0,0}
DILTIAZEM 10 ⁻⁶ M n=5	81,6 _{2,2}	111,6 _{3,0}	106,2 _{7,8}	141,6 _{11,0}	146,2 _{26,8}	0,2 _{0,0}
TEMOINS n=5	82,3 _{2,1}	105,0 _{2,9}	111,7 _{6,4}	151,0 _{5,9}	147,7 _{35,0}	0,4 _{0,0}
DILTIAZEM 10 ⁻⁵ M n=5	79,3 _{2,0}	98,3 _{3,3}	97,0 _{3,0}	140,7 _{3,8}	144,7 _{23,0}	0,4 _{0,0}
TEMOINS n=7	80,0 _{1,0}	102,0 _{1,2}	104,2 _{12,8}	148,0 _{15,1}	159,0 _{13,0}	0,6 _{0,1}
VERAPAMIL 10 ⁻⁵ M n=7	78,0 _{1,6}	99,5 _{2,3}	80,4 _{10,2}	130,0 _{15,1}	142,0 _{3,4}	0,6 _{0,1}

TABLEAU 19

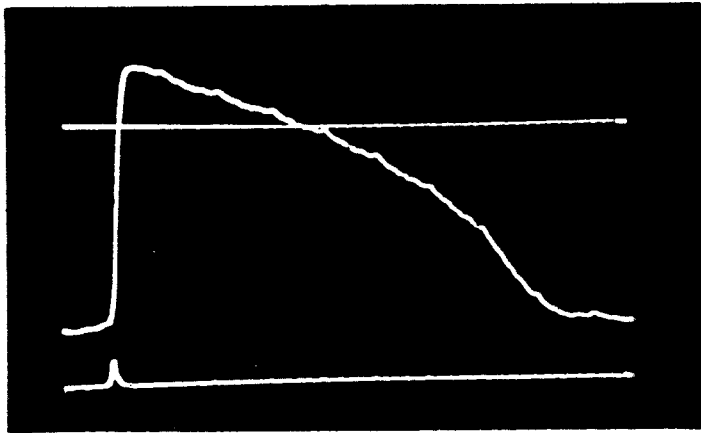
Moyenne

erreur
standard à
la moyenne

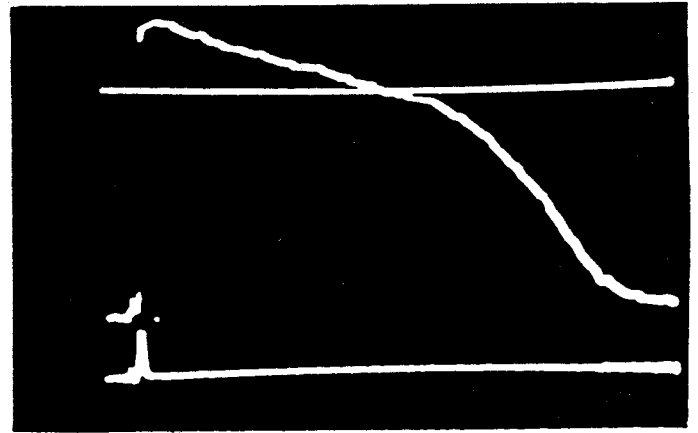
ACTION DES INHIBITEURS DU CANAL LENT SUR LES POTENTIELS D'ACTION TÊMOIN

20MV
20 MS

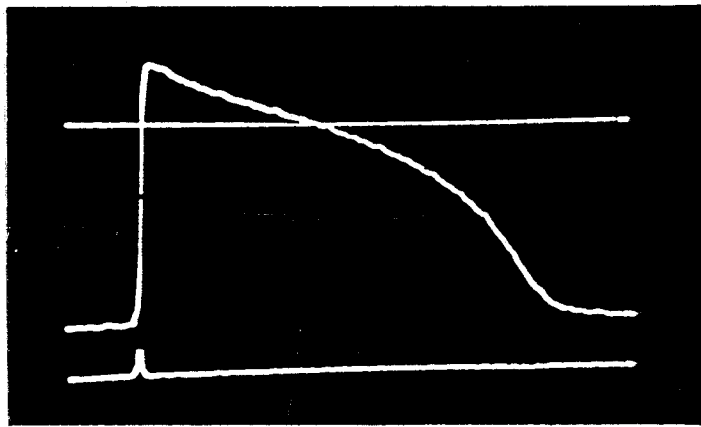
150 V/s



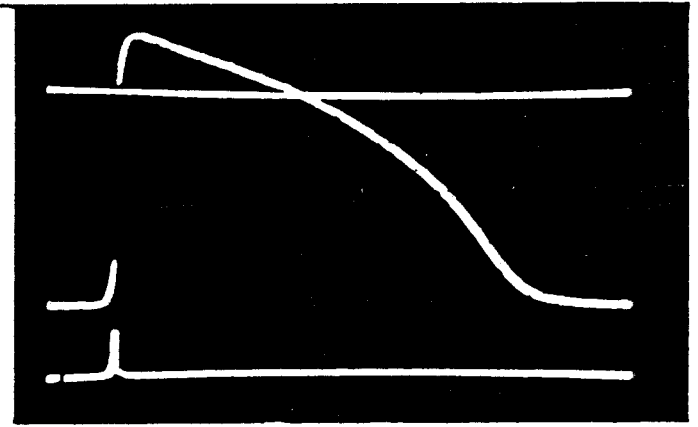
TEMOIN



TEMOIN

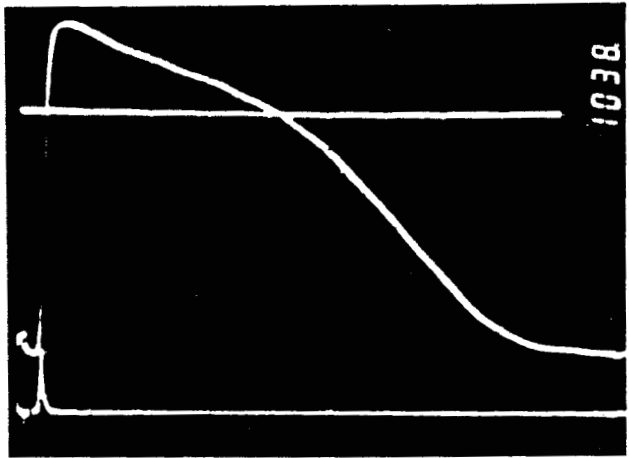


DILTIAZEM 10^{-6} M



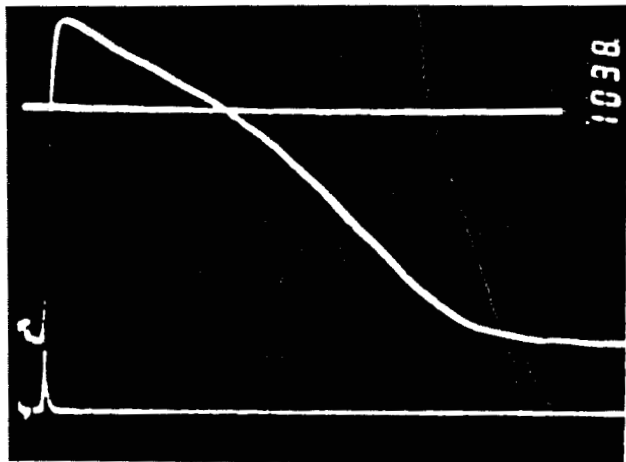
DILTIAZEM 10^{-5} M

ACTION DU DILTIAZEM EN SITUATION CONTROLE



POTENTIEL D'ACTION TEMOIN

20MV
20 MS
150 V/s



ACTION DU VERAPAMIL 10-5 M



Le vérapamil bloque le courant entrant calcique empruntant le canal lent des fibres ventriculaires de mammifères (TRITTHART H. et coll., 1972), il n'est pas inhibiteur spécifique de l'entrée de calcium, car il inhibe aussi l'entrée du sodium lent. Le vérapamil (10^{-6} et 10^{-5} M) diminue l'amplitude, la vitesse maximale de dépolarisation et l'amplitude du plateau du potentiel d'action des cellules de Purkinje de chien. La durée, déterminée à 80 % de la repolarisation est augmentée à 10^{-6} M (+ 10 %) ; cet effet est moins important avec une concentration supérieure (10^{-5} M) (+ 5 %) ; il s'inverse à $2 \cdot 10^{-5}$ M. (GAUTIER P., 1980). LATHROP D.A. et coll. (1982) observent sur la même préparation, un allongement de 30 % à 90 % de la repolarisation pour 10^{-6} M et de 20 % pour 10^{-5} M. A ces concentrations, le diltiazem diminue cette durée de 5 %. Sur ces préparations, le vérapamil à 10^{-6} M et 10^{-5} M diminue de 25 % la durée à 50 % de la repolarisation, le diltiazem à 10^{-6} M de 10 % et à 10^{-5} M de 25 % (LATHROP D.A. et coll., 1982).

Sur le potentiel d'action des cellules ventriculaires musculaires, le vérapamil (10^{-5} M) induit une diminution de l'amplitude du plateau (diminution de durée à 50 % de la repolarisation). La durée du potentiel d'action à 80 % de la repolarisation est augmentée ou diminuée (GAUTIER P., 1980).

GREENSPAN A.M. et MORAD M. (1980) n'observent pas de diminution de durée des potentiels d'action de muscle ventriculaire de grenouille soumis à une perfusion de diltiazem 10^{-8} M à 10^{-5} M. A des concentrations de 10^{-4} M et 10^{-3} M, le diltiazem réduit la durée (14 %) et l'overshoot (37 %) des potentiels d'action.

GAUTIER P. (1980) observe une diminution de 10 à 20 % de la vitesse maximale de dépolarisation des fibres de Purkinje soumises à une perfusion de vérapamil 10^{-5} M.

Nos résultats ne sont pas éloignés de ceux de ces différents auteurs : le diltiazem 10^{-6} M a peu d'effets électrophysiologiques ; à 10^{-5} M, il diminue les durées des potentiels d'action à 50 % et 90 % de repolarisation respectivement de 14,7 msec (- 13,1 %) et 10,3 msec (-6,8 %). A cette concentration, le vérapamil est plus incisif sur ces paramètres : - 23,8 msec (-22,8 %) à 50 % et - 18 msec (- 12 %) à 90 %. Le vérapamil 10^{-5} M diminue sans signification, la vitesse maximale de dépolarisation de 17 V/sec (-10,7 %).

4.1.2 Effets de l'ischémie : tableaux 22 à 28

On observe le même type de modification des caractéristiques électriques que dans la série témoin.

4.1.2.1 Diltiazem 10^{-6} M : tableaux 22-24-26

Une préparation sur 5 est devenue définitivement inexcitable dès la 5^{ème} minute d'ischémie.

Trois préparations ont maintenu une activité électrique jusqu'à la 45^{ème} minute.

Aucune réponse décrémenteielle n'a été détectée dans cette série.

4.1.2.2 Diltiazem 10^{-5} M : tableaux 22-24-27

La réponse électrique 1/1 a cessé pour 3 préparations avant la 10^{ème} minute, à la 25^{ème} et 32^{ème} minute pour les 2 autres.

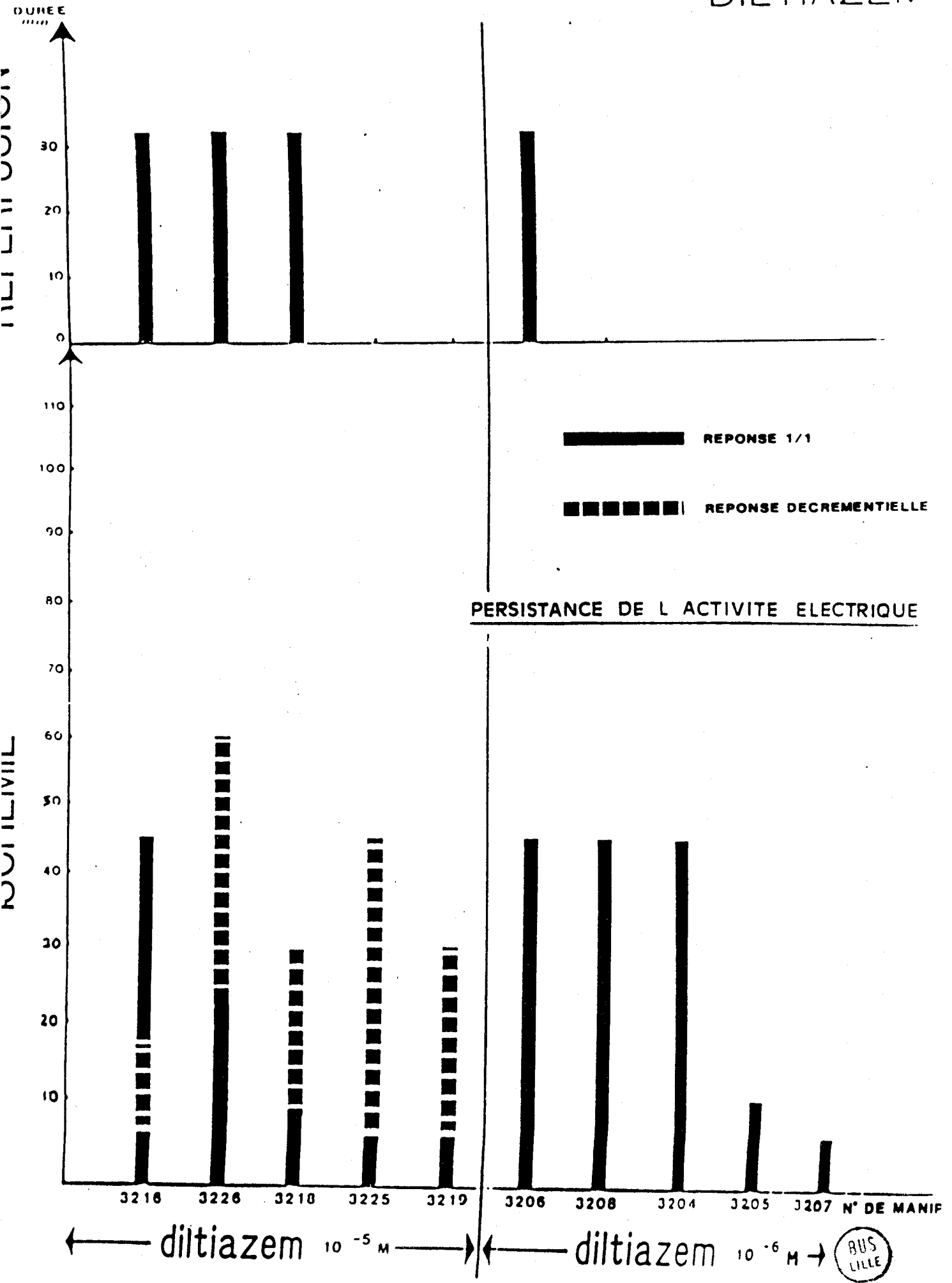
La réponse électrique décrémenteielle a cessé avant la 30^{ème} minute pour 3 préparations, à la 35^{ème} minute pour 1 préparation et la 40^{ème} minute pour une autre préparation.

4.1.2.3. Yérapamil 10^{-5} M : tableaux 23-24-28

La réponse électrique 1/1 a cessé avant la 7^{ème} minute pour toutes les préparations.

Deux préparations ont maintenu une activité décrémenteielle jusqu'à la 25^{ème} minute, 2 autres jusqu'à la 10^{ème} minute et 1 jusqu'à la 35^{ème} minute.

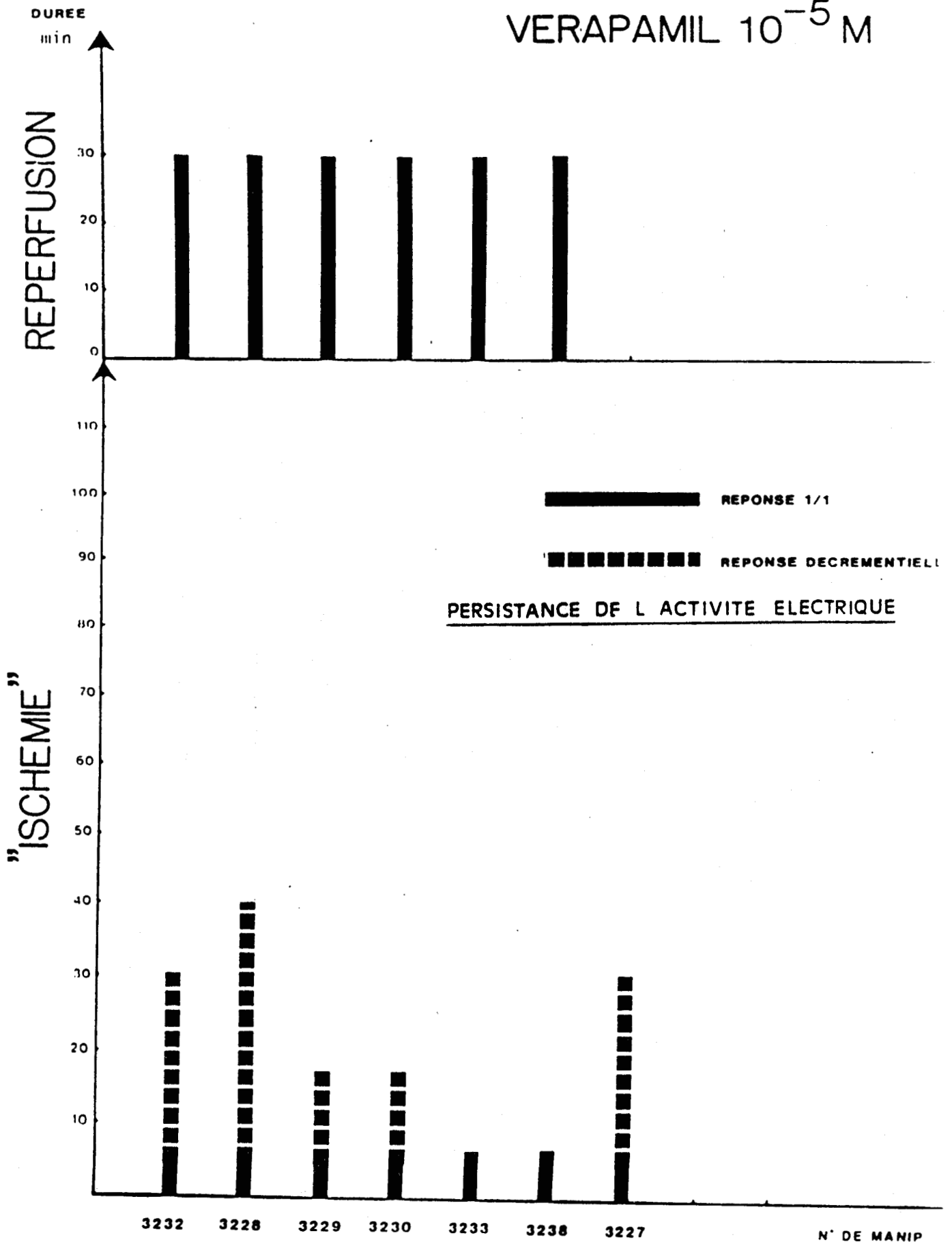
DILTIAZEM



TABEAU 22



VERAPAMIL 10^{-5} M



N° DE MANIP



TABLEAU 23

t= 5 min	"ISCHEMIE"	"ISCHEMIE" + DILTIAZEM 10^{-6} M	"ISCHEMIE" + DILTIAZEM 10^{-5} M	"ISCHEMIE" + VERAPAMIL 10^{-5} M
Em mV	54,8 10 1,6	59,4 5 1,3	56,7 5 0,3	55,8 6 1,3
APA mV	58,8 10 5,5	68,6 5 2,5	61,0 5 1,0	51,8 6 5,7
DPA 50 msec	47,7 10 8,3	43,6 5 2,6	46,5 5 9,5	46,8 6 5,5
DPA 90 msec	68,4 10 9,3	58,8 5 4,5	57,0 5 10,0	64,7 6 7,2
Vmax V/s	35,0 10 12,2	43,4 5 12,9	94,5 5 38,5	30,3 6 8,8
seuil mA	5,6 10 1,5	1,1 5 0,5	5,7 5 5,3	6,0 6 2,2

TABLEAU 24-1

Moyenne
 nombre de mesures | erreur standard à la moyenne



EFFETS DE L'ISCHEMIE SUR LES POTENTIELS D ACTION

t=15 min	"ISCHEMIE"	"ISCHEMIE" + DILTIAZEM 10 ⁻⁶ M	"ISCHEMIE" + DILTIAZEM 10 ⁻⁵ M	"ISCHEMIE" + VERAPAMIL 10 ⁻⁵ M
Em mV	54,8 5 2,8	60,0 4 2,0	55,0 5 3,0	48,5 5 1,5
APA mV	38,2 5 11,5	51,0 4 9,2	73,5 5 6,5	22,2 5 8,7
DPA 50 msec	52,0 5 19,7	45,2 4 6,5	75,5 5 16,5	33,2 5 4,6
DPA 90 msec	70,4 5 22,6	58,7 4 10	95,5 5 18,5	56,5 5 9,4
Vmax V/s	7,0 5 7,0	15,7 4 13,5	7,0 5 7,0	8,7 5 8,7
seuil mA	9,1 5 1,9	9,0 4 2,0	11,0 5 0,0	11,0 5 0,0

TABLEAU 24-2



t=30 min	"ISCHEMIE" + DILTIAZEM 10 ⁻⁶ M	"ISCHEMIE" + DILTIAZEM 10 ⁻⁵ M	"ISCHEMIE" + VERAPAMIL 10 ⁻⁵ M
Em mV	54,0 5 2,3	55,0 5 1,7	48,5 3 3,5
APA mV	41,6 5 13,7	71,0 5 8,5	56,5 3 11,5
DPA 50 msec	72,2 5 24,3	98,7 5 10,4	73,0 3 55,0
DPA 90 msec	84,8 5 26,7	118,7 5 10,6	100,0 3 70,0
Vmax V/s	2,8 5 1,7	23,3 5 16,8	< 2 3 -
seuil mA	11,0 5 0,0	11,0 5 0,0	11,0 3 0

TABLEAU 24-3



t=45 min	"ISCHEMIE"	"ISCHEMIE" + DILTIAZEM 10 ⁻⁶ M	"ISCHEMIE" + DILTIAZEM 10 ⁻⁵ M	"ISCHEMIE" + VERAPAMIL 10 ⁻⁵ M
Em mV	52,7 3 2,2	57,7 3 1,4	55,3 3 1,3	
APA mV	59,0 3 8,3	51,0 3 13,6	66,3 3 1,2	
DPA 50 msec	49,2 3 25,7	30,0 3 5,7	94,7 3 16,9	
DPA 90 msec	66,2 3 28,0	40,0 3 7,4	115,0 3 16,6	
Vmax V/s	1,7 3 1,7	16,3 3 12,7	2,3 3 2,3	
seuil mA	11,0 3 0,0	9,3 3 0,3	11,0 3 0,0	

TABLEAU 24-4



t= 60 min	"ISCHEMIE"	"ISCHEMIE" + DILTIAZEM 10 ⁻⁶ M	"ISCHEMIE" + DILTIAZEM 10 ⁻⁵ M	"ISCHEMIE" + VERAPAMIL 10 ⁻⁵ M
Em mV	57,0 3 1,5		54,0 1	
APA mV	37,0 3 13,9		46,0 1	
DPA 50 msec	29,0 3 9,5		85,0 1	
DPA 90 msec	61,7 3 18,6		130,0 1	
Vmax V/s	9,3 3 9,3		35,0 1	
seuil mA	11,0 3 0,0		11,0 1	

TABLEAU 24-5



t= 15 min	"ISCHEMIE"	"ISCHEMIE" + DILTIAZEM 10 ⁻⁶ M	"ISCHEMIE" + DILTIAZEM 10 ⁻⁵ M	"ISCHEMIE" + VERAPAMIL 10 ⁻⁵ M
Em mV	74,0 1	70,0 1	74,0 3 6,0	63,3 6 1,6
APA mV	80,0 1	30,0 1	81,0 3 9,0	65,2 6 5,7
DPA 50 msec	19,0 1	14,0 1	34,5 3 4,5	16,6 6 2,5
DPA 90 msec	39,0 1	18,0 1	51,5 3 3,5	32,1 6 5,1
Vmax V/s	154,0 1	50,0 1	112,0 3 28,0	110,4 6 12,8
seuil mA	2,0 1	11,0 1	3,5 3 0,5	3,7 6 0,8

TABEAU 25



EFFETS DE LA REPERFUSION SUR LES POTENTIELS D' ACTION

t= 30 min	"ISCHEMIE" + DILTIAZEM 10 ⁻⁶ M	"ISCHEMIE" + DILTIAZEM 10 ⁻⁵ M	"ISCHEMIE" + DILTIAZEM 10 ⁻⁵ M + VERAPAMIL 10 ⁻⁵ M
Em mV	74,0 1	70,0 1	76,0 3
APA mV	80,0 1	65,0 1	83,0 3
DPA 50 msec	19,0 1	13,0 1	23,5 3
DPA 90 msec	39,0 1	22,0 1	34,5 3
Vmax V/s	154,0 1	98,0 1	126,0 3
seuil mA	2,0 1	2,0 1	2,1 3
			67,0 6
			63,7 6
			18,0 6
			37,5 6
			97,1 6
			19,9 6
			3,1 6
			1,2 6

TABLEAU 25-2



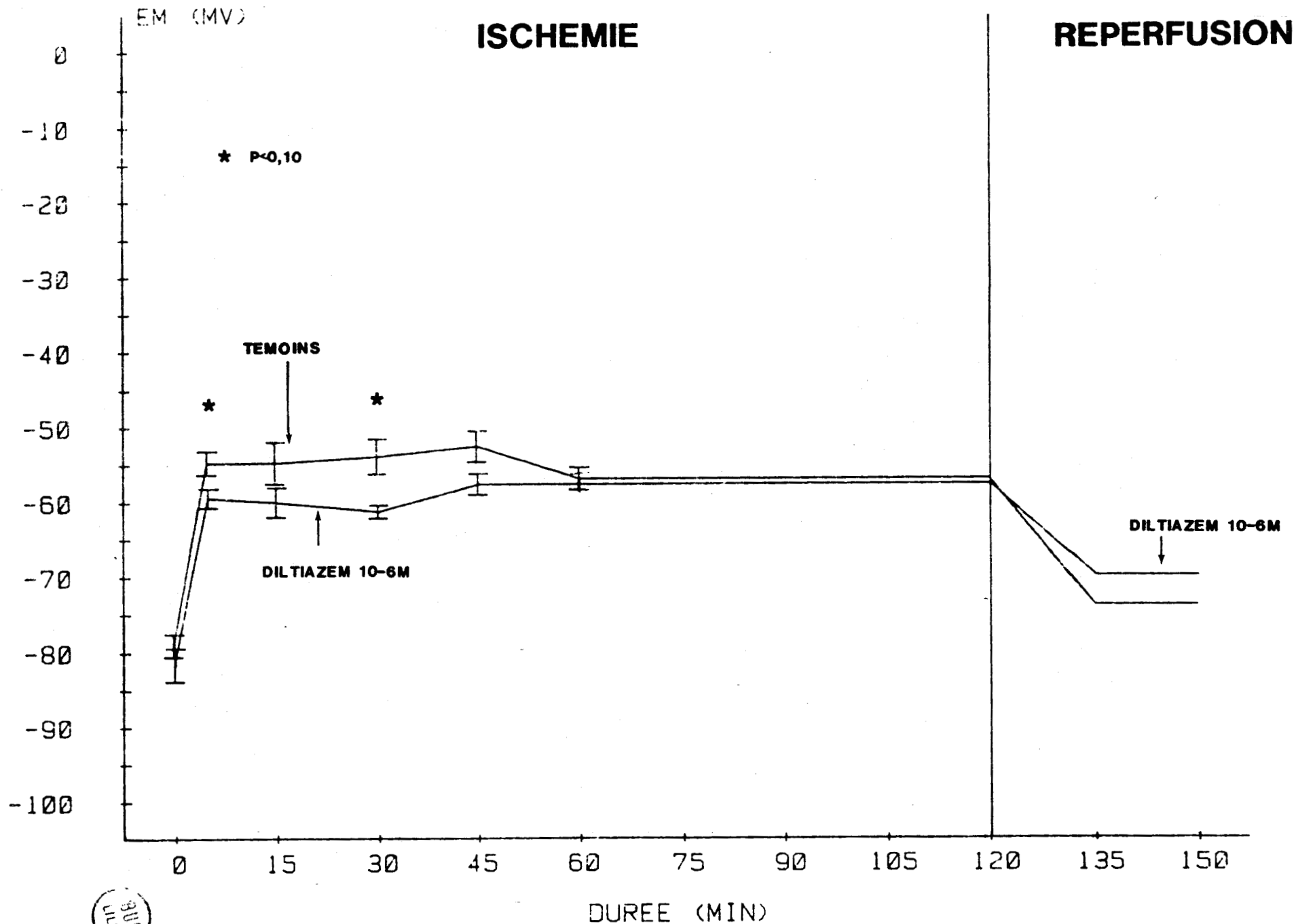
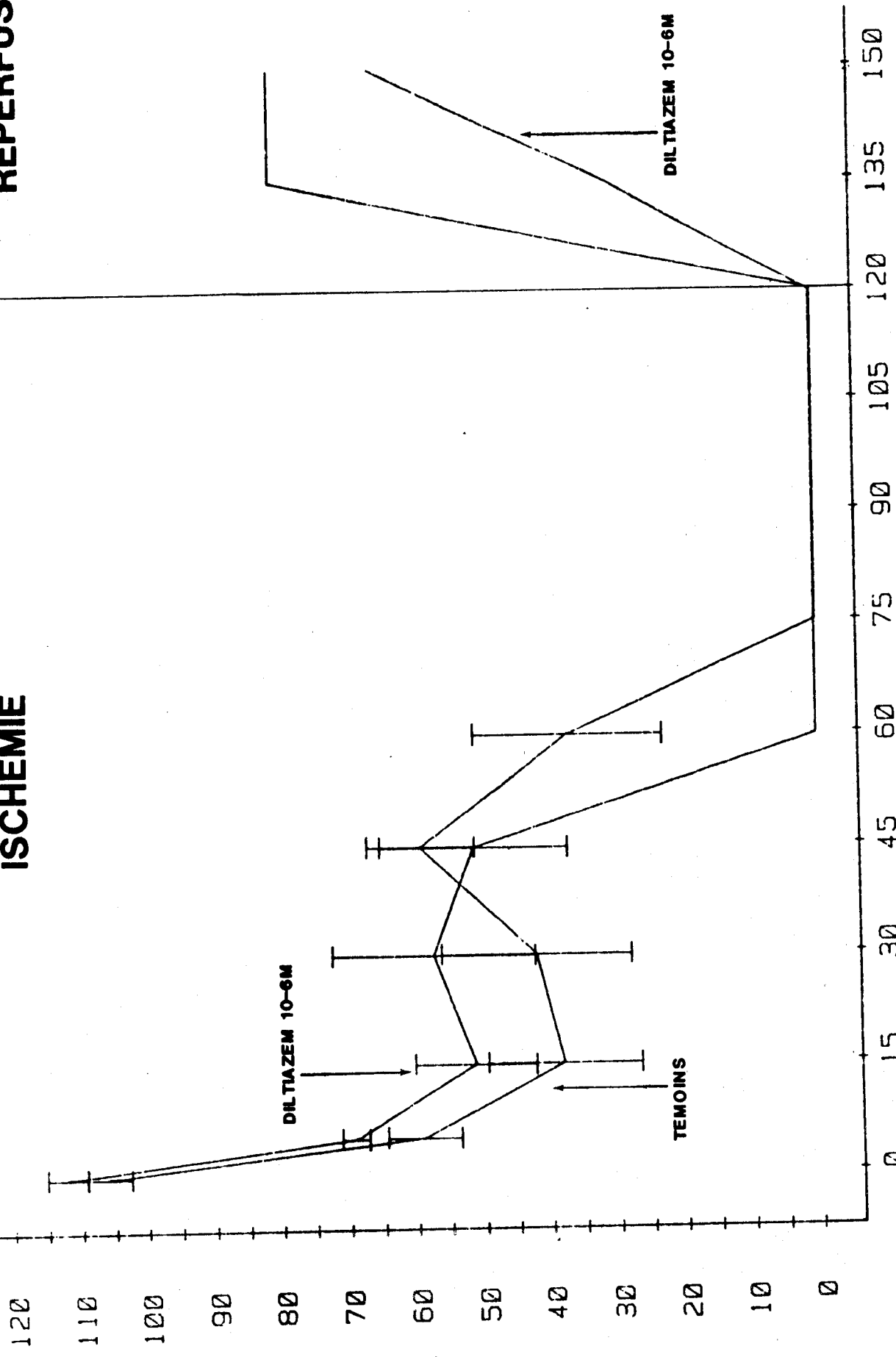


tableau 26-1-
Effets de "l'ischémie" et de la reperfusion sur les potentiels d'action

A. P. A. (MV)

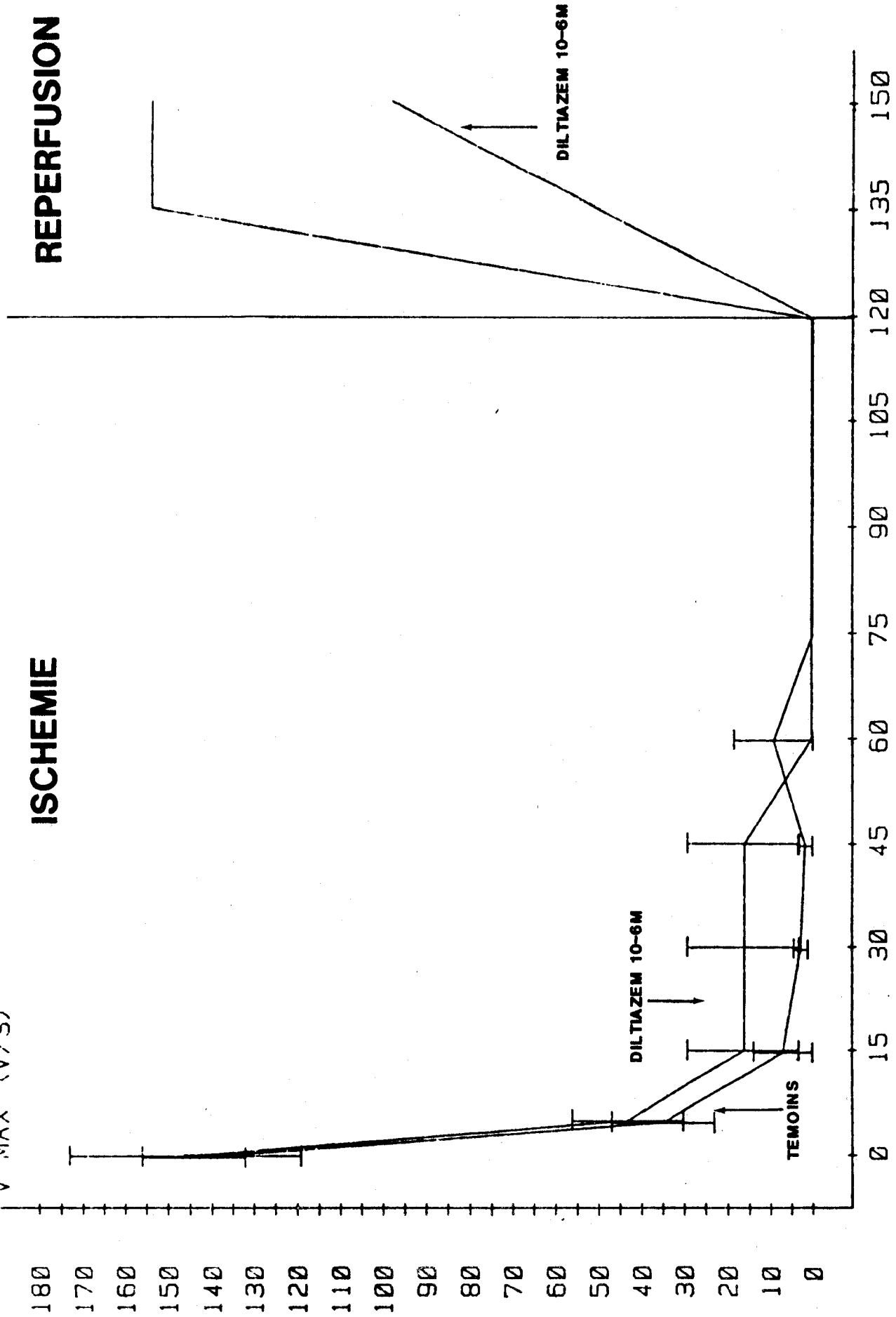
ISCHEMIE

REPERFUSION



DUREE (MIN)
tableau 26-2-

Effets de "l'ischémie" et de la reperfusion sur les potentiels d'action



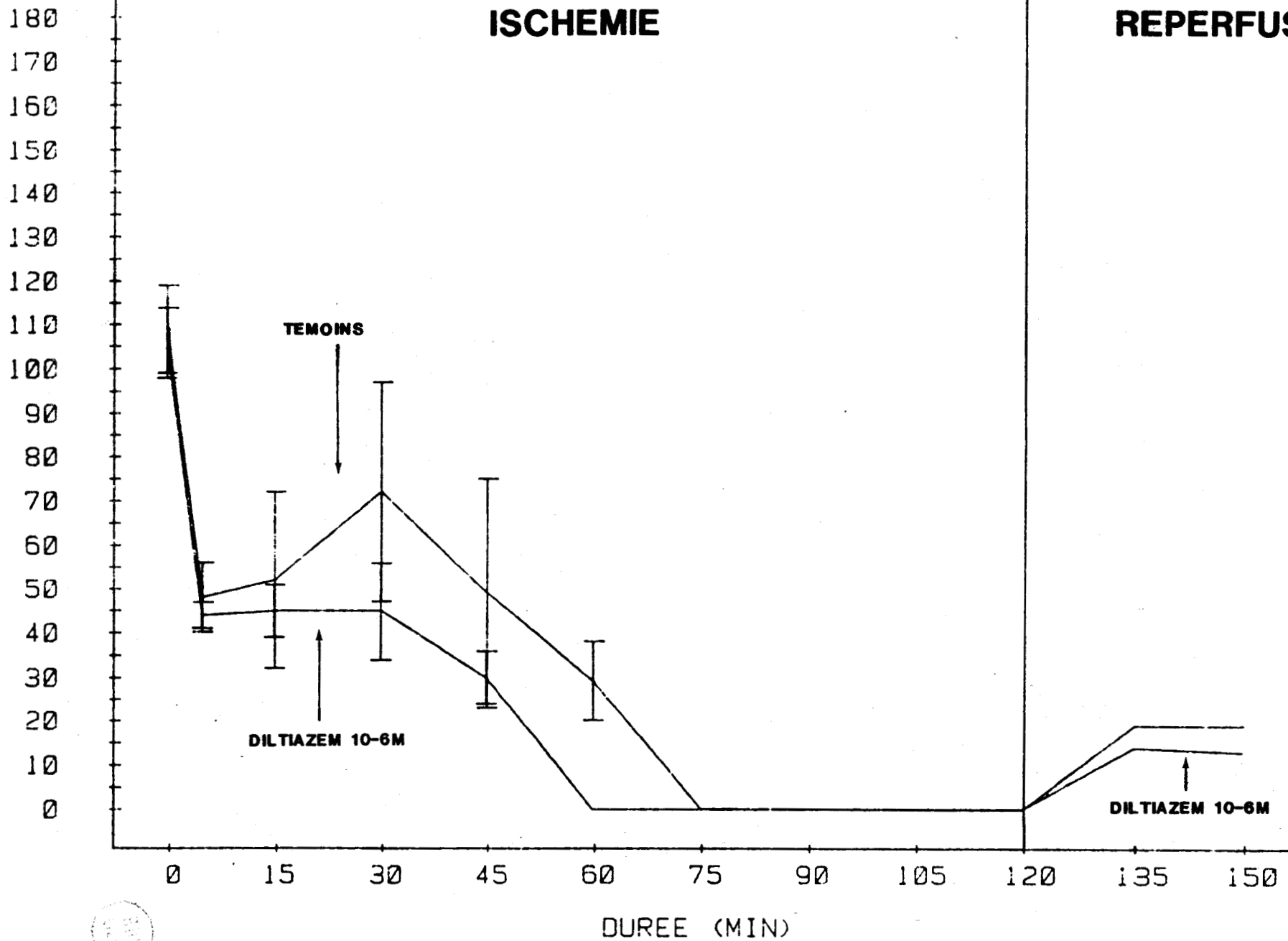
BUS LILLE

tableau 26-3- Effets de "l'ischémie" et de la reperfusion sur les potentiels d'action

D. P. A. 50 (MSEC)

ISCHEMIE

REPERFUSION



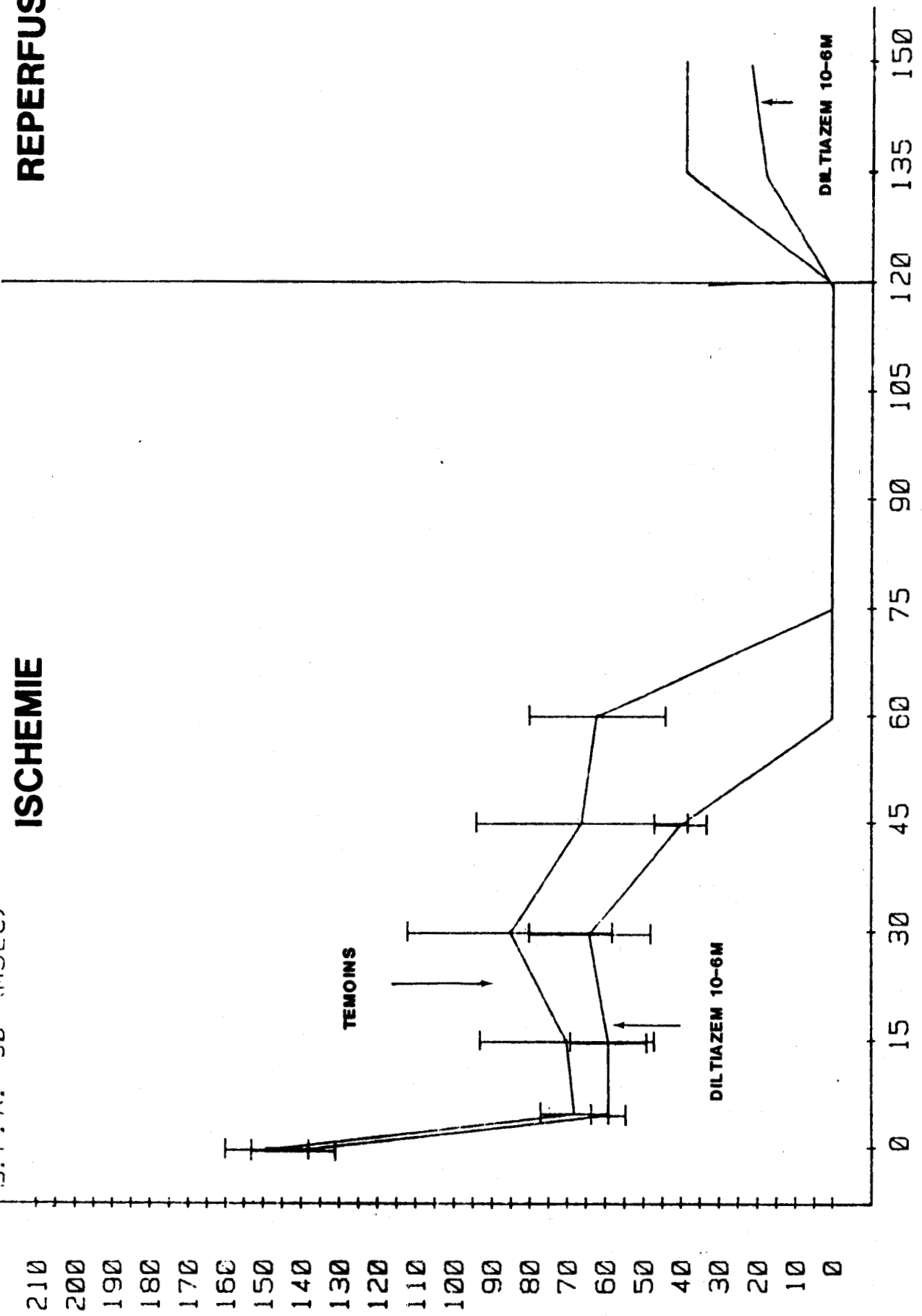
DUREE (MIN)

tableau 26-4-

Effets de "l'ischémie" et de la reperfusion sur les potentiels d'action

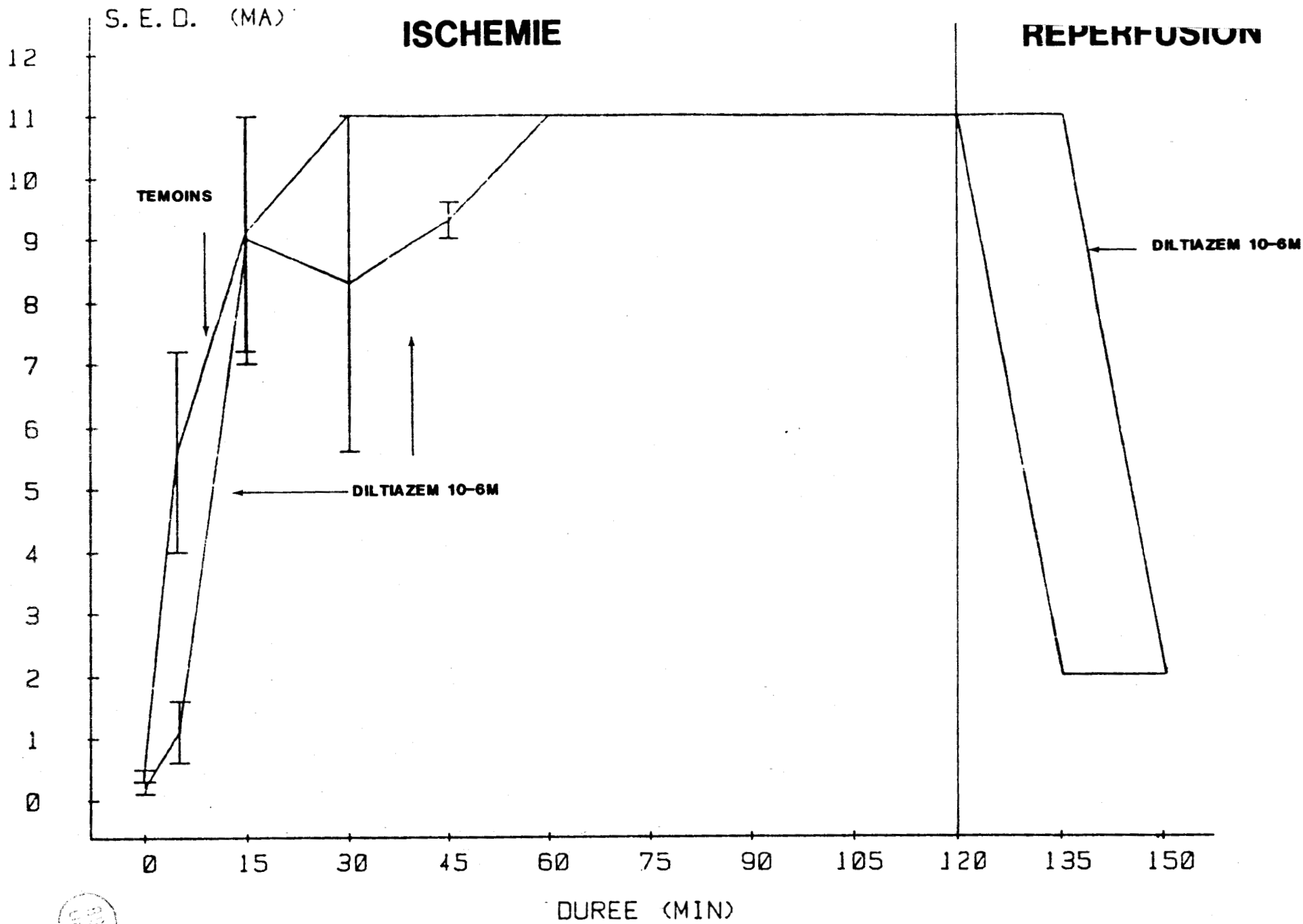
REPERFUSION

ISCHEMIE

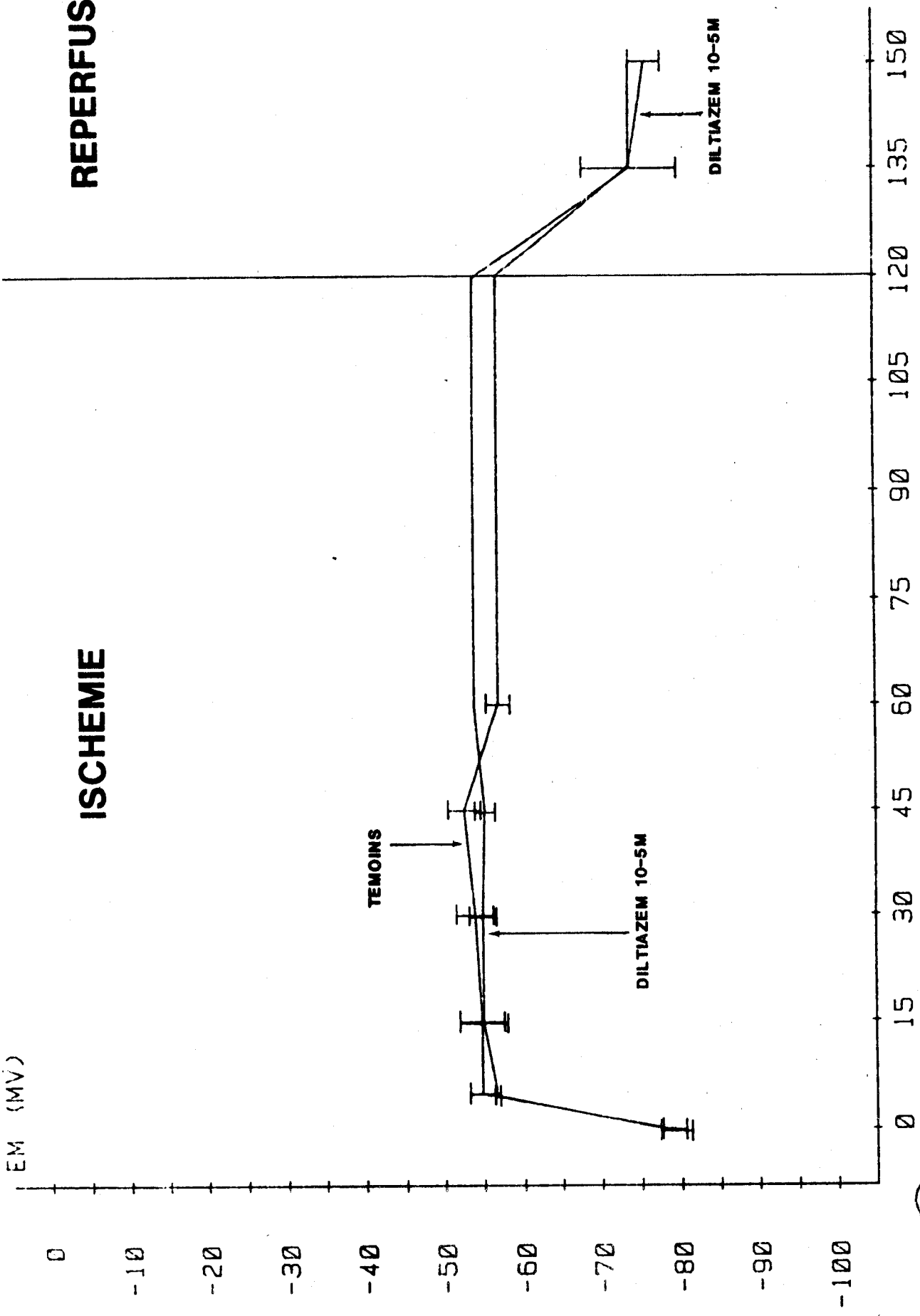


DUREE (MIN)

Effets de "l'ischémie" et de la reperfusion sur les potentiels d'action
 tableau 26-5-



Effets de "l'ischémie" et de la reperfusion sur les potentiels d'action



REPERFUSION

ISCHEMIE

DUREE (MIN)

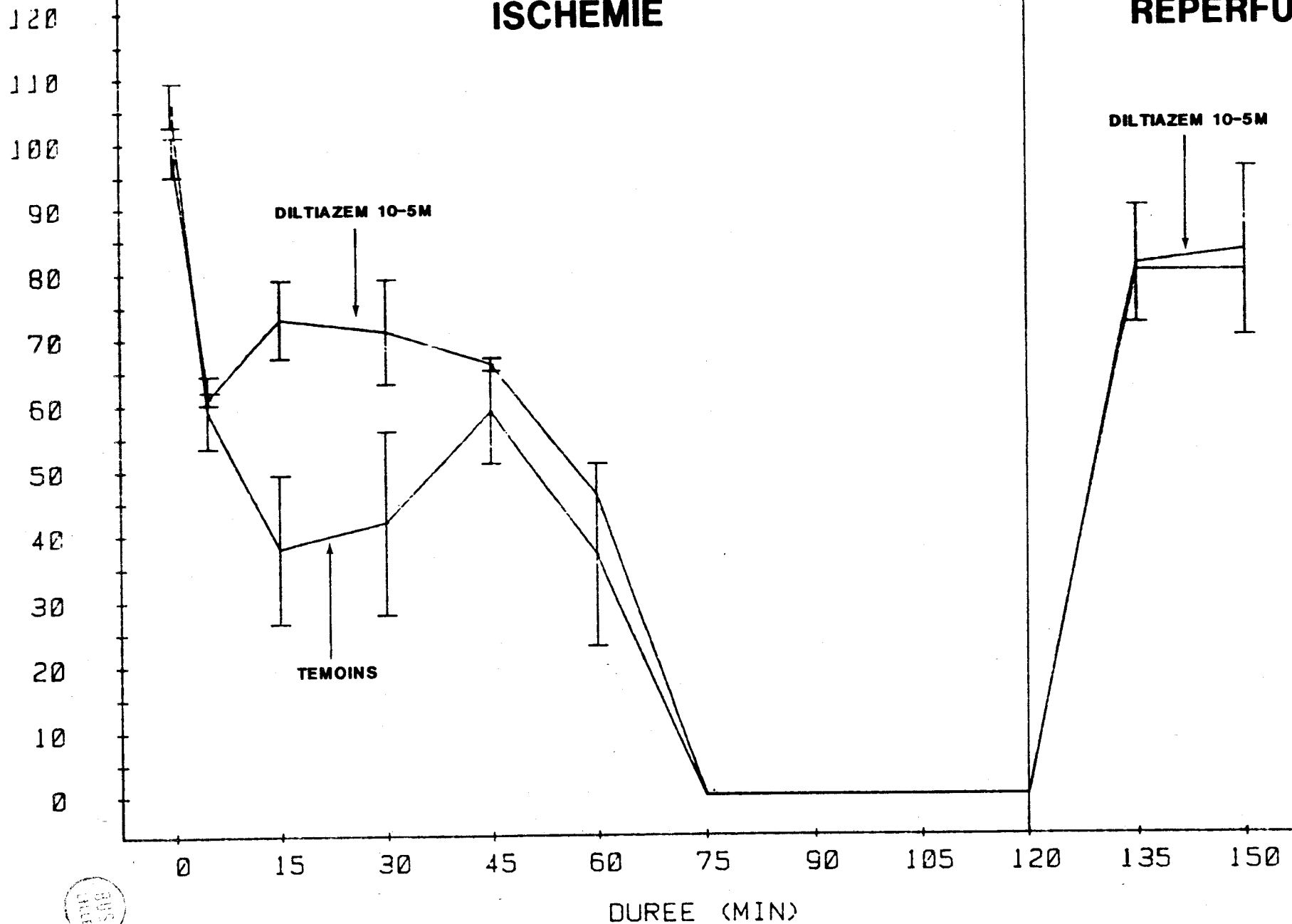
tableau 27-1- Effets de "l'ischémie" et de la reperfusion sur les potentiels d'action



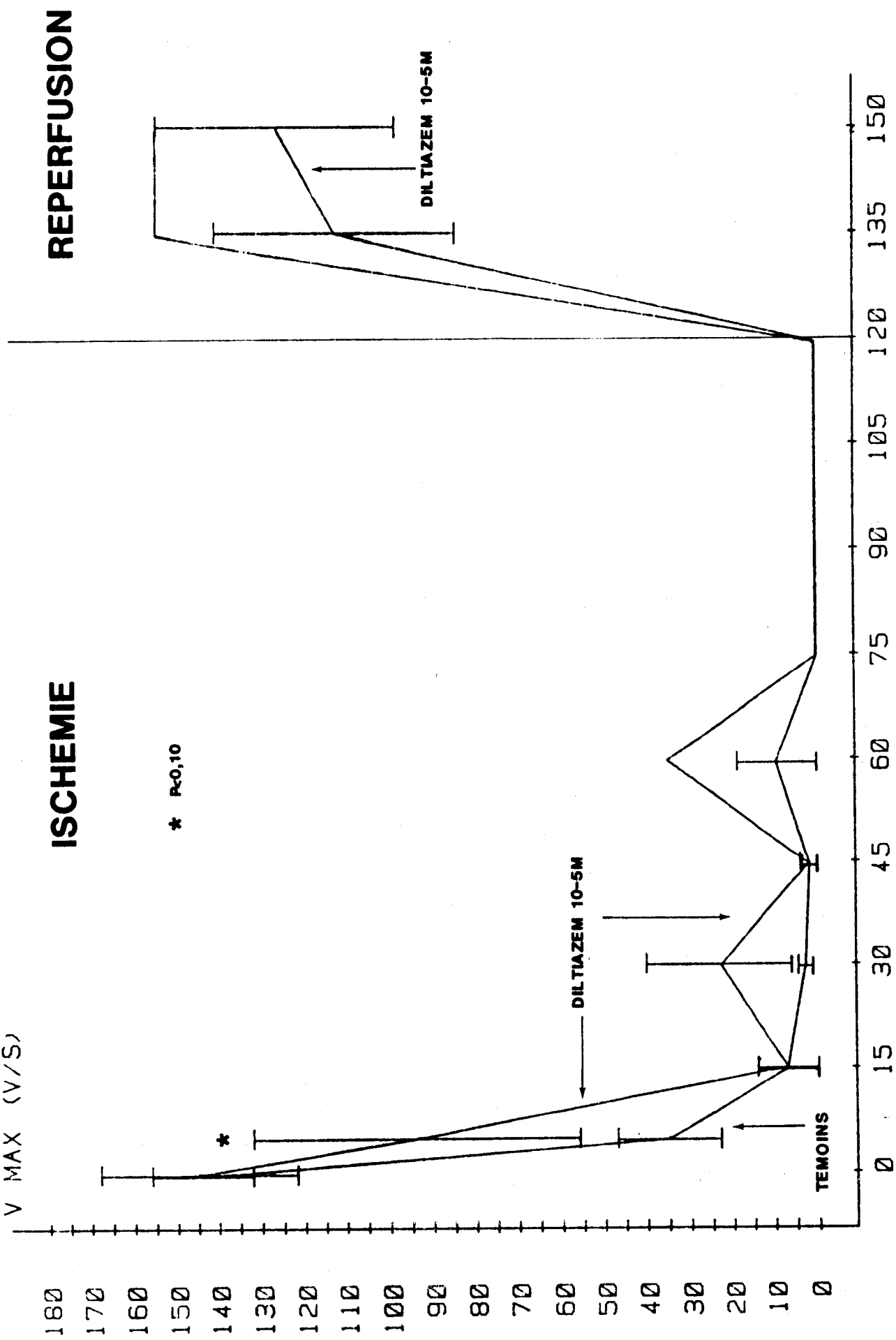
A. P. A. (MV)

ISCHEMIE

REPERFUSION



Effets de "l'ischémie" et de la reperfusion sur les potentiels d'action
tableau 27-2-



Effets de "l'ischémie" et de la reperfusion sur les potentiels d'action

tableau 27-3-



D.P.A. 50 (MSEC)

ISCHÉMIE

REPERFUSION

180
170
160
150
140
130
120
110
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0

0 15 30 45 60 75 90 105 120 135 150

DILTIAZEM 10-5M

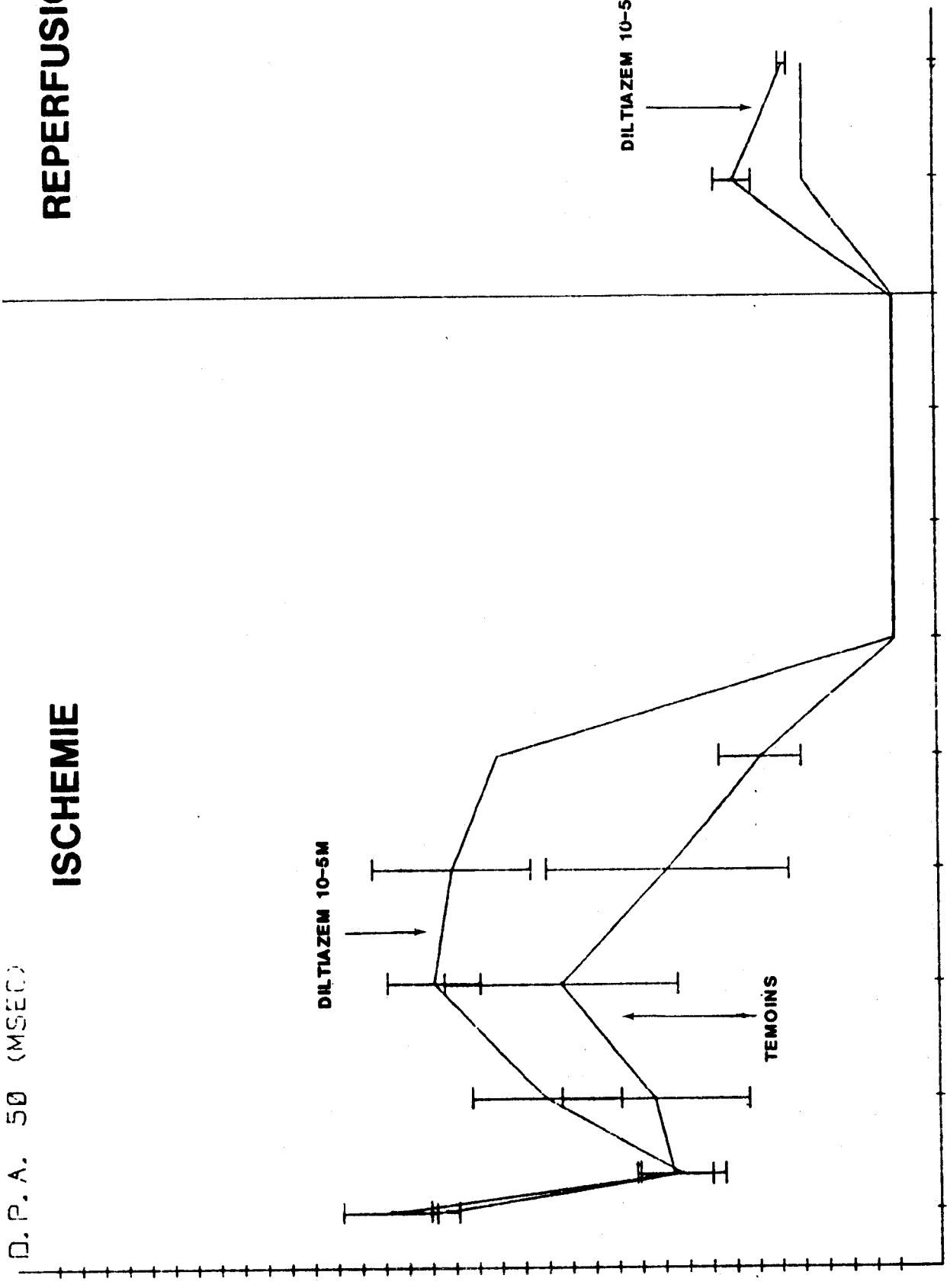
DILTIAZEM 10-5M

TEMOINS

DUREE (MIN)

Effets de "l'ischémie" et de la reperfusion sur les potentiels d'action

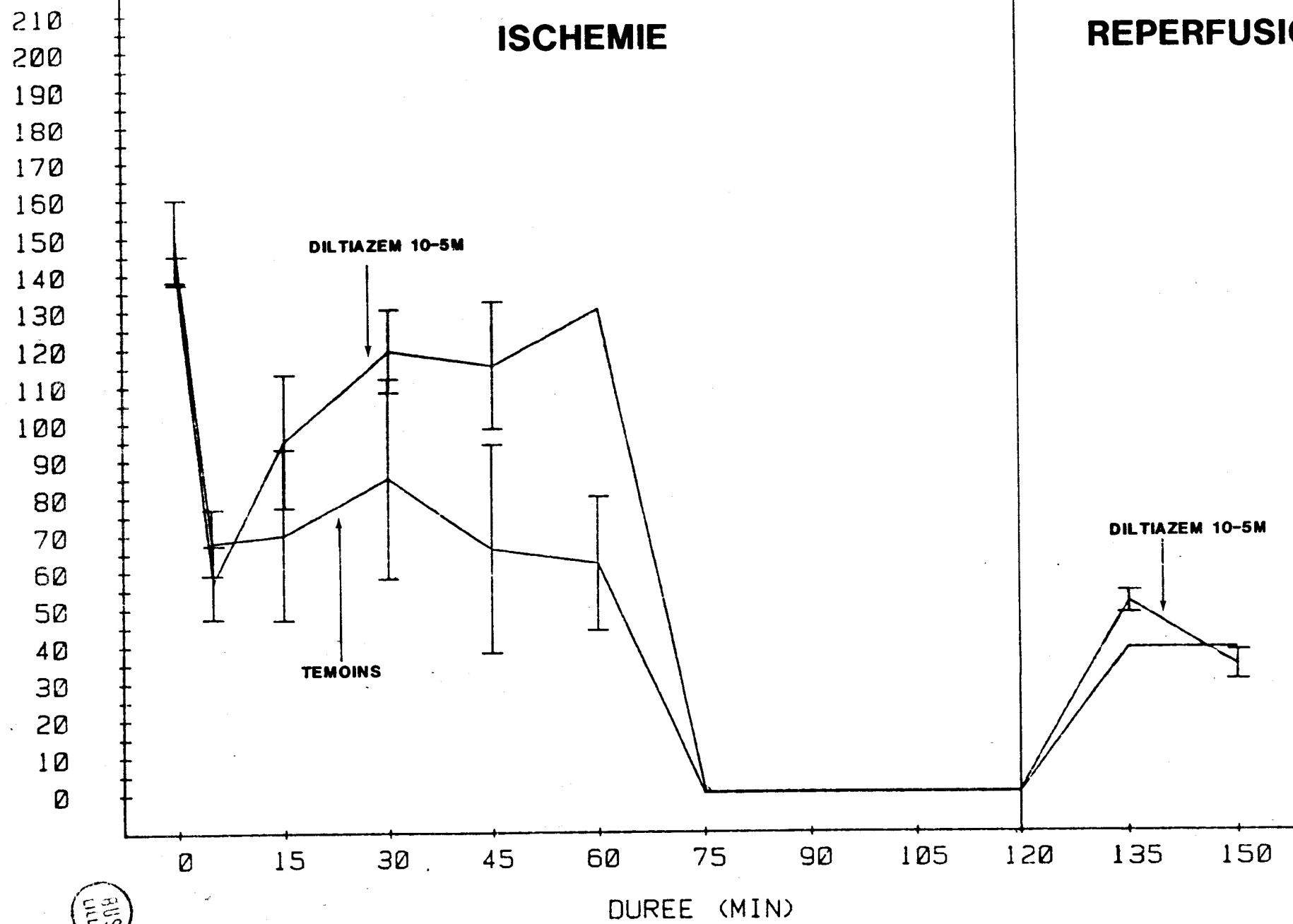
tableau 27-4-



D. P. A. 90 (MSEC)

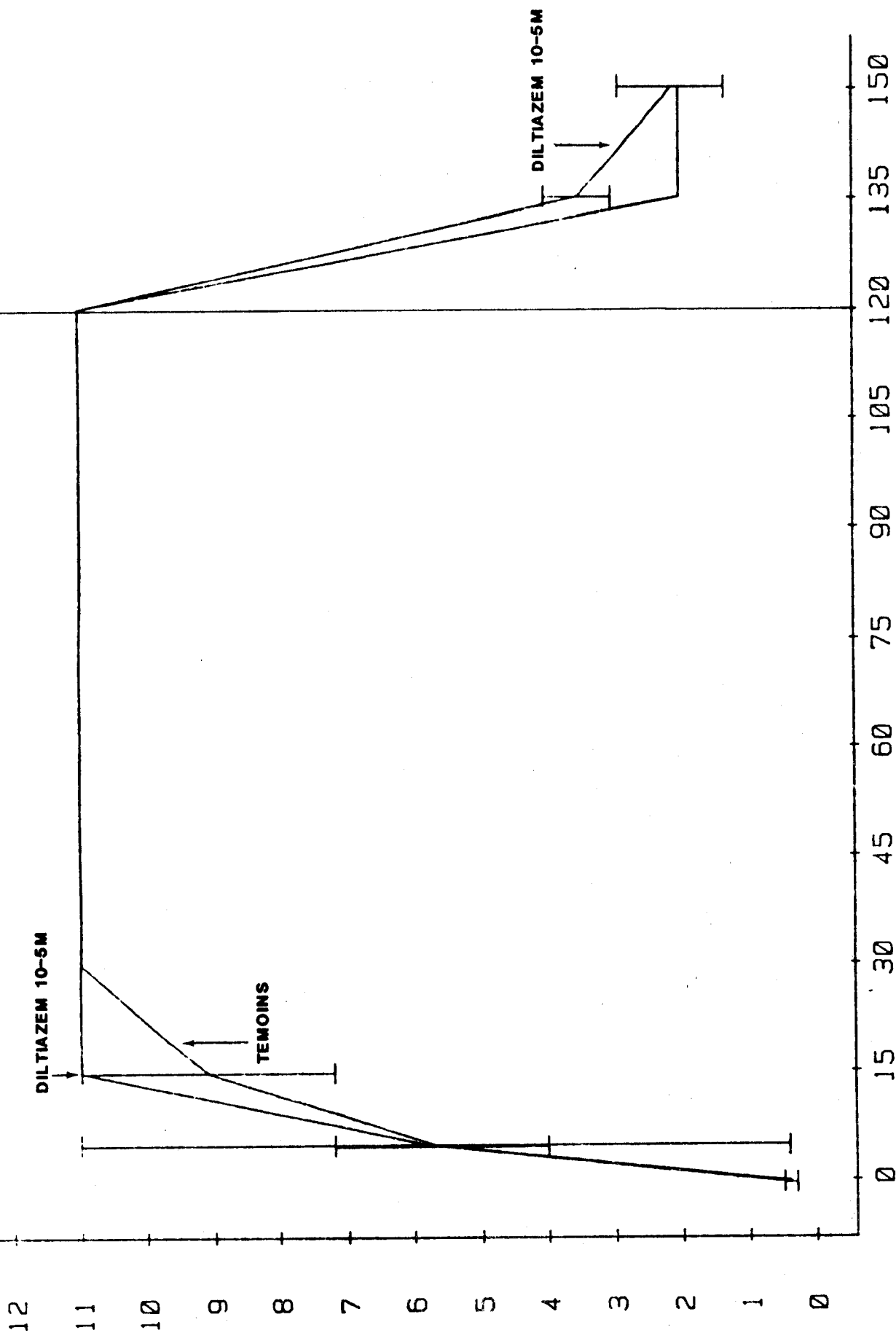
ISCHEMIE

REPERFUSION



Effets de "l'ischémie" et de la reperfusion sur les potentiels d'action
tableau 27-5-

S. E. D. (MA)



DUREE (MIN)

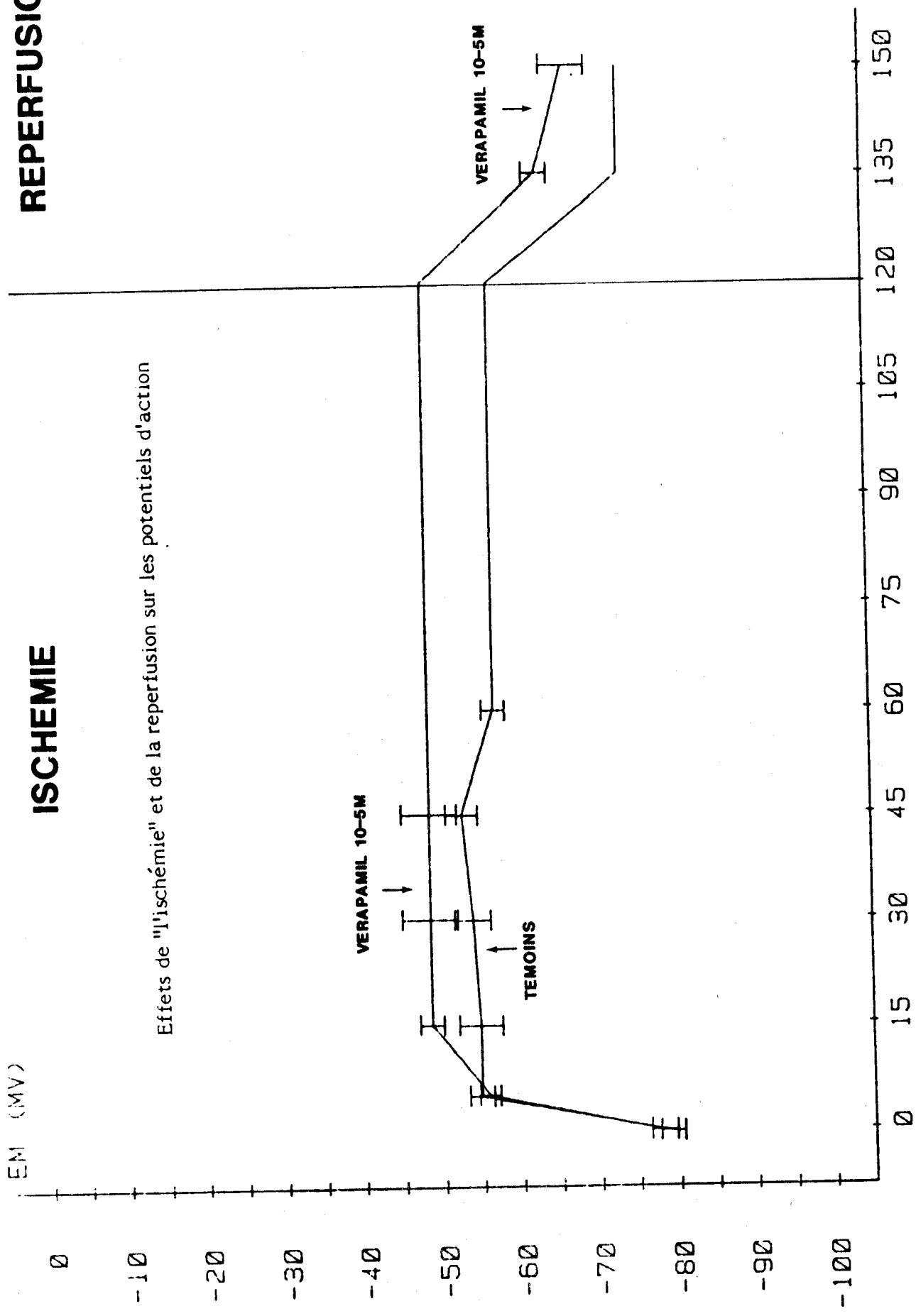
Effets de "l'ischémie" et de la reperfusion sur les potentiels d'action
tableau 27-6-



REPERFUSION

ISCHEMIE

Effets de "l'ischémie" et de la reperfusion sur les potentiels d'action



DUREE (MIN)

tableau 28-1-



A. I. A. (M.V.)

REPERFUSION

ISCHEMIE

Effets de "l'ischémie" et de la reperfusion sur les potentiels d'action

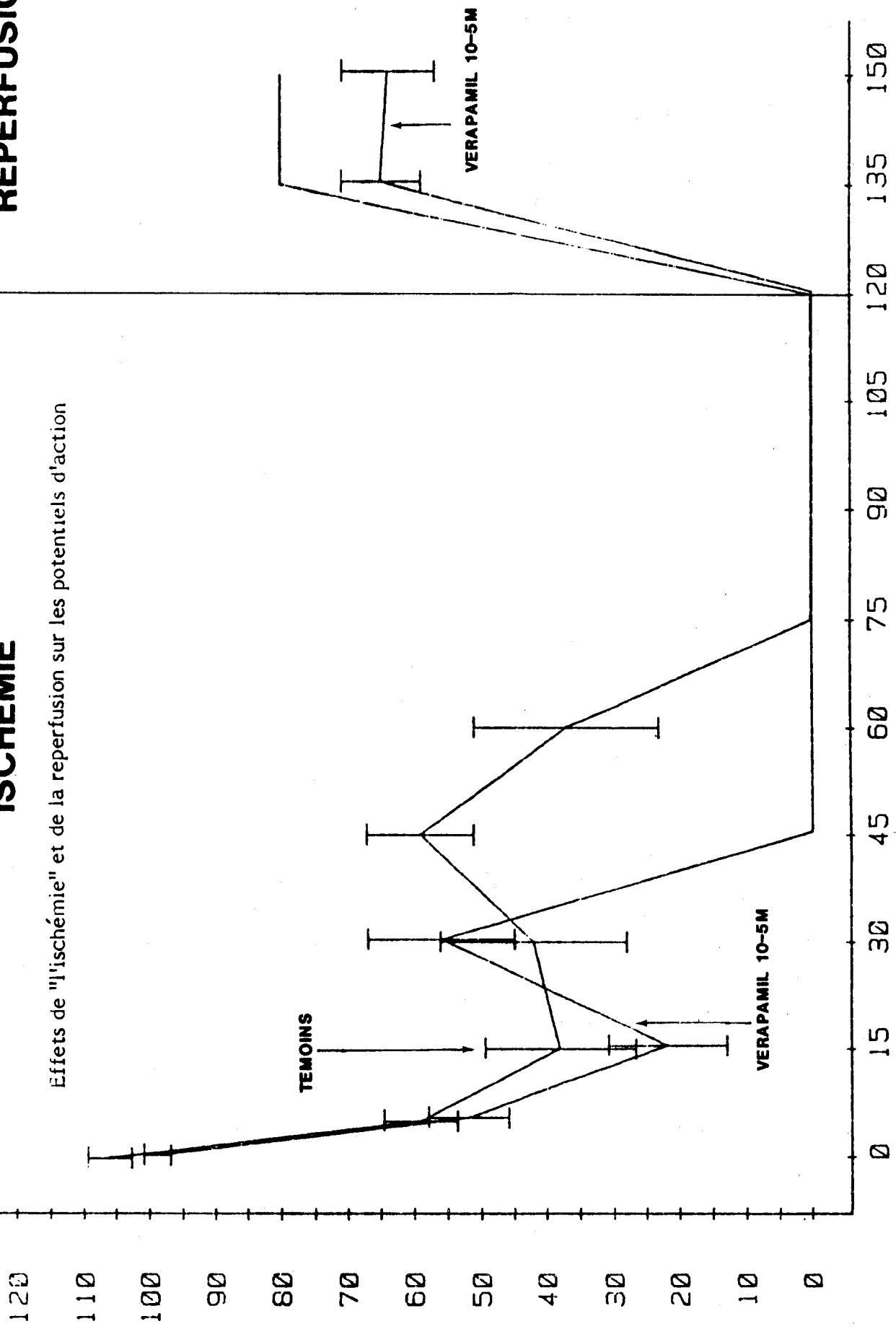
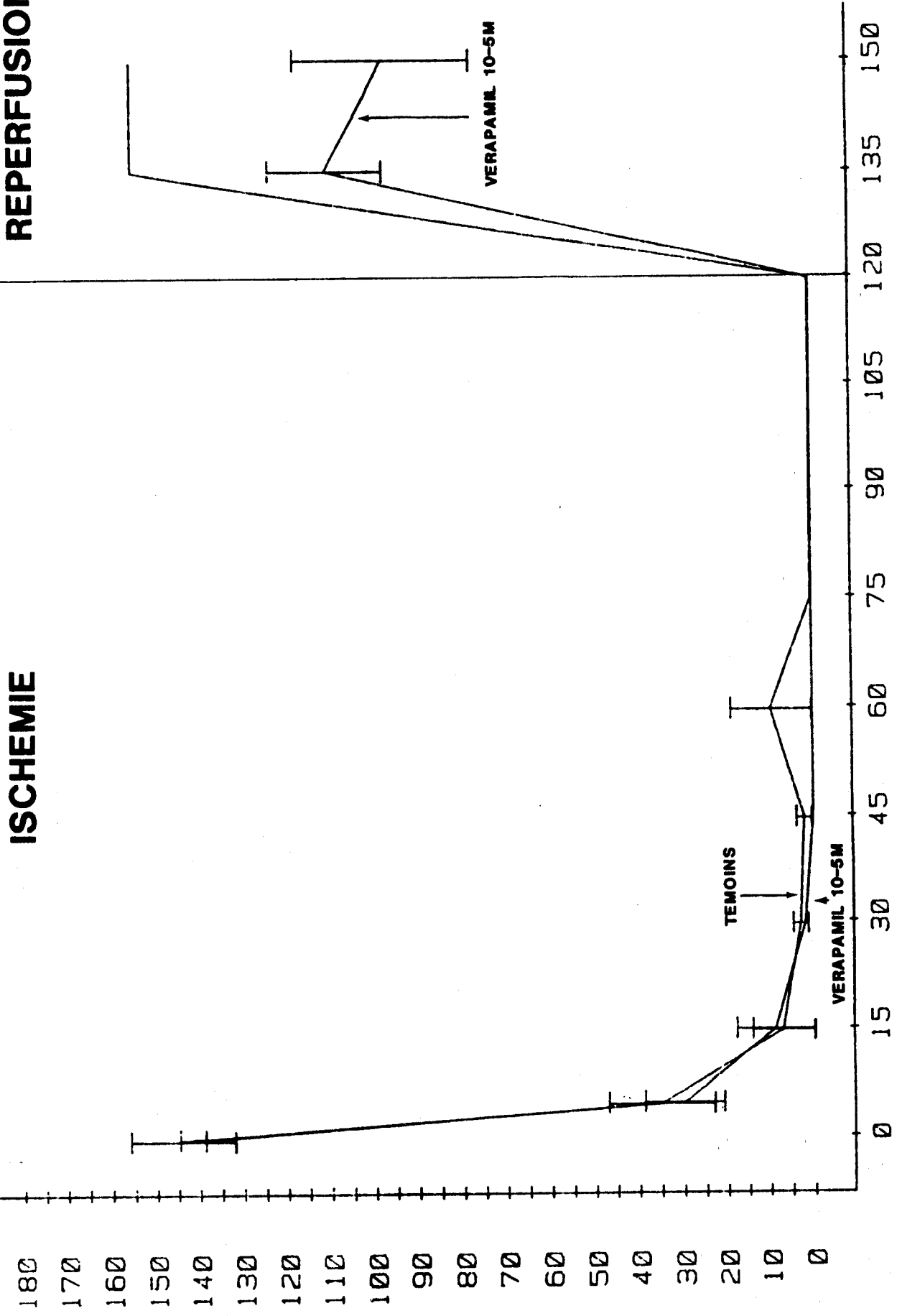


tableau 28-2



ISCHEMIE

REPERFUSION



DUREE (MIN)

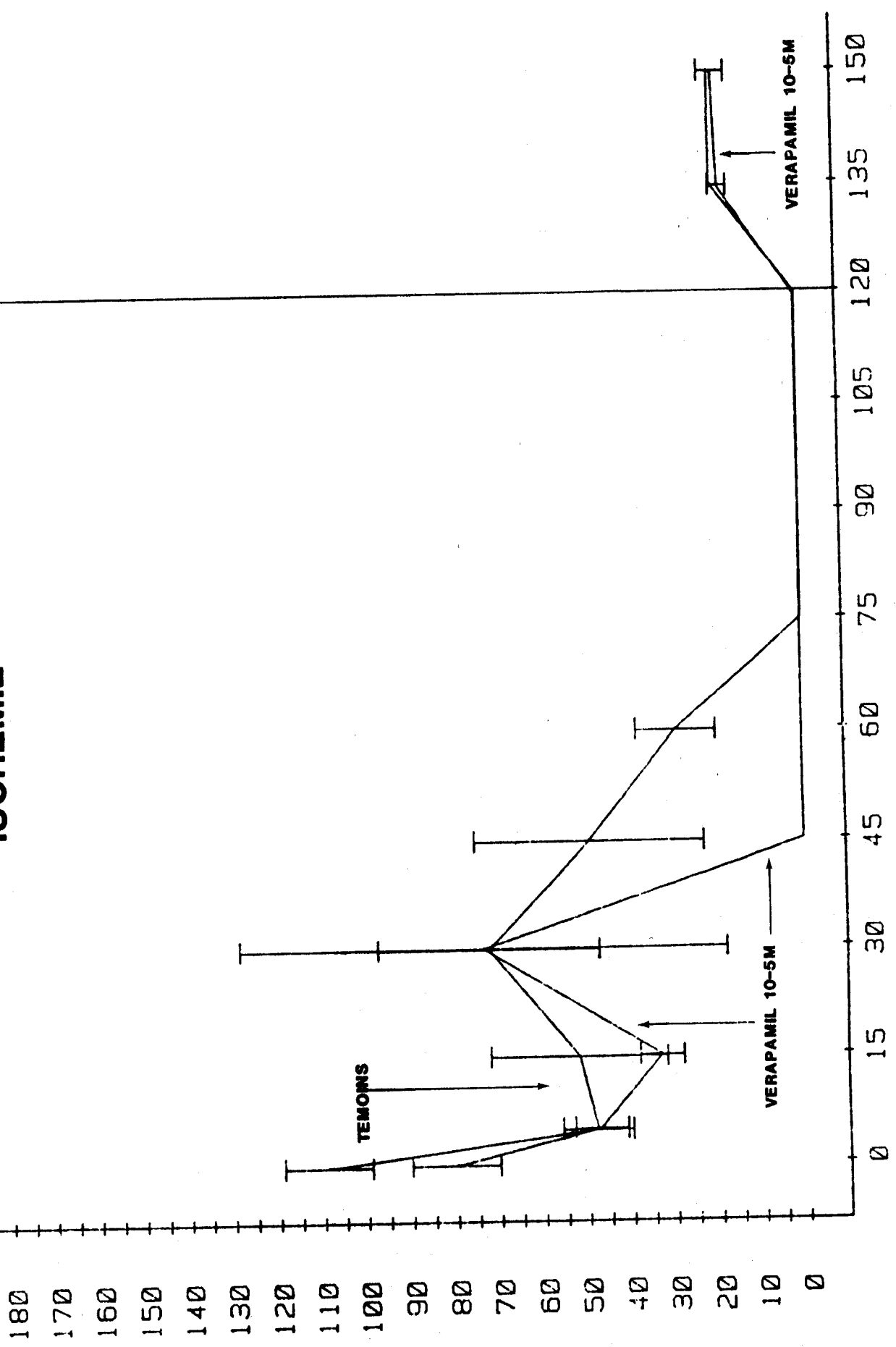
tableau 28-3-

Effets de "l'ischémie" et de la reperfusion sur les potentiels d'action



ISCHEMIE

REPERFUSION



DUREE (MIN)

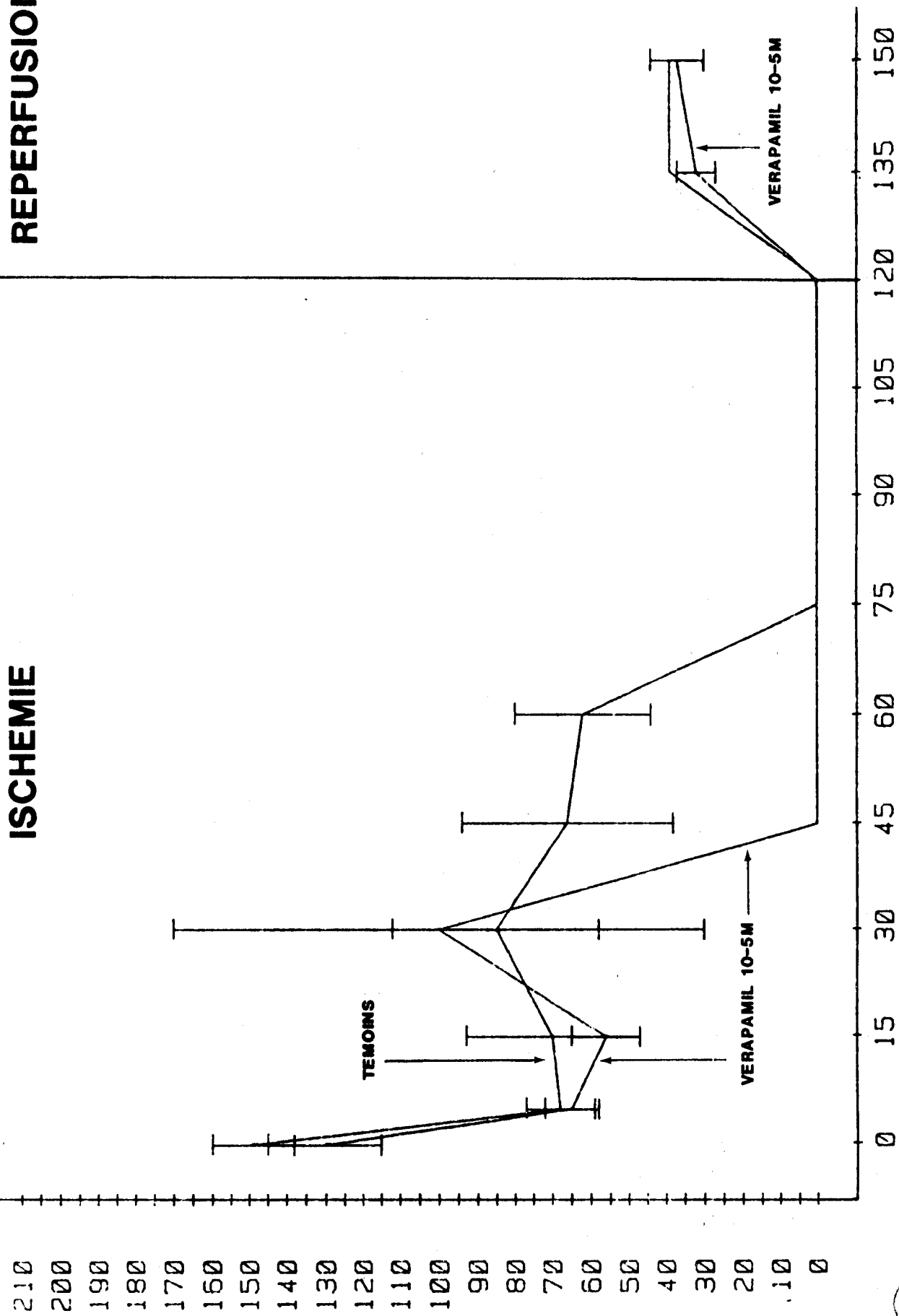
Effets de "l'ischémie" et de la reperfusion sur les potentiels d'action
tableau 28-4-



D. P. A. 90 (MSEC)

ISCHEMIE

REPERFUSION



DUREE (MIN)

tableau 28-5-

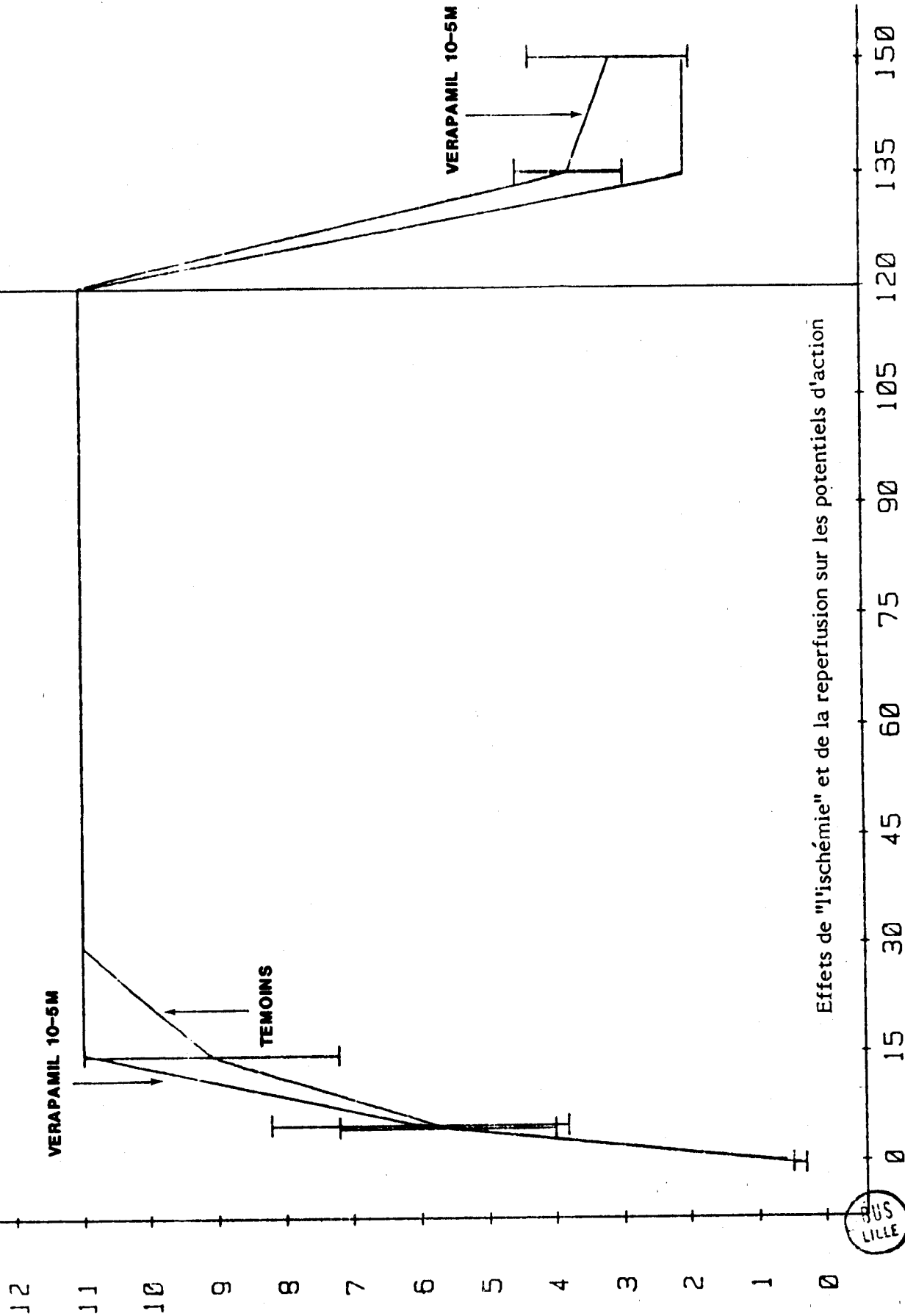
Effets de "l'ischémie" et de la reperfusion sur les potentiels d'action



REPERFUSION

ISCHEMIE

S. E. D. (MA)



Effets de "l'ischémie" et de la reperfusion sur les potentiels d'action

DUREE (MIN)

tableau 28-6

BUS LILLE

4.1.2.4. Comparaison de ces trois séries par rapport à la série témoin
"ischémie"
Persistance de l'activité électrique.

	SERIE TEMOIN	DILTIAZEM		VERAPAMIL
		10 ⁻⁶ M	10 ⁻⁵ M	10 ⁻⁵ M
Persistance de la réponse 1/1	M	M	M	M
moyenne	12,1 minutes	30 minutes	15,4 minutes	5,57 minutes
erreur standard	\bar{s}	\bar{s}	\bar{s}	\bar{s}
signification	2,56 minutes	9,22 minutes P < 0,05	5,54 minutes NS	0,37 minutes P < 0,05
Persistance de la réponse décrementielle	M	M	M	M
moyenne	20 minutes	0 minute	26,6 minutes	15 minutes
erreur standard	\bar{s}	\bar{s}	\bar{s}	\bar{s}
signification	7,34 minutes	0 minute P < 0,05	4,91 minutes NS	5,12 minutes NS
Persistance de la réponse électrique (réponse 1/1 + décrementielle)	M	M	M	M
moyenne	32,1 minutes	30 minutes	42 minutes	20,57 minutes
erreur standard	\bar{s}	\bar{s}	\bar{s}	\bar{s}
signification	7,53 minutes	9,22 minutes NS	5,61 minutes NS	5,04 minutes NS

BUS
LILLE

Le diltiazem 10⁻⁶ M ne prolonge pas la persistance de la réponse électrique (réponse 1/1 + réponse décrementielle) mais allonge la durée de la réponse 1/1 de 20 minutes (p < 0,05). La polarisation membranaire (Em) est plus grande sous l'influence du diltiazem 10⁻⁶ M à la 15ème et à la 30ème minute de l'ischémie (p < 0,10).

Le diltiazem 10^{-5} M prolonge la persistance de la réponse électrique (réponse 1/1 + réponse décroissante) de 10 minutes en allongeant (sans signification) la durée de la réponse décroissante. La réponse 1/1 n'est pratiquement pas touchée et a cessé avant la 10ème minute pour 3 préparations sur 5. La vitesse maximale de dépolarisation est augmentée pendant les 5 premières minutes de "l'ischémie" ($p < 0,10$).

La vérapamil 10^{-5} M diminue la persistance de la réponse électrique en diminuant la durée de la réponse 1/1 de 6 minutes ($p < 0,05$), il diminue sans signification la durée de la réponse décroissante.

4.1.3 Effets de la reperfusion : tableaux 22-23-25-26-27-28-29

4.1.3.1. Diltiazem 10^{-6} M : tableaux 22-25-26-29

1 préparation sur 5 a récupéré une activité électrique après reprise de la perfusion de Tyrode normal oxygéné. Cette activité n'était pas généralisée à toute la préparation et le potentiel d'action enregistré à l'allure d'un "spike". ($DPA_{90} = 22$ msec).

4.1.3.2. Diltiazem 10^{-5} M : tableaux 22-25-27-29

3 préparations sur 5 ont récupéré une activité électrique après reprise de la perfusion de Tyrode normal oxygéné. Cette activité n'était pas généralisée à toute la préparation et les potentiels d'action sont demeurés courts. ($DPA_{90} = 34$ msec).

4.1.3.3. Vérapamil 10^{-5} M : tableaux 23-25-28-30

6 préparations sur 7 ont récupéré une activité électrique. Cette activité était généralisée à toute la préparation dans 2 expériences. Les potentiels d'action sont demeurés courts ($DPA_{90} = 37$ msec).

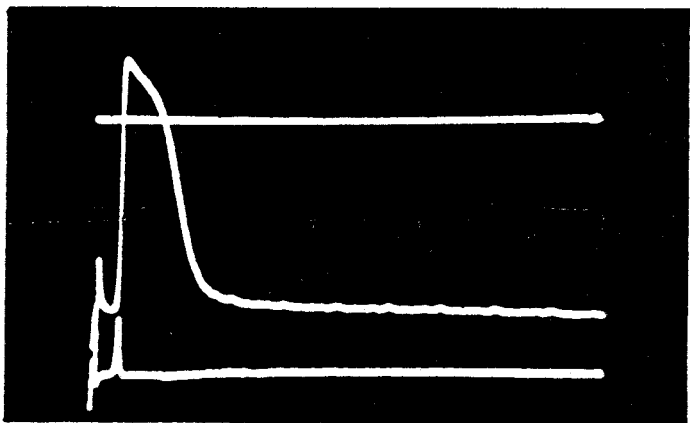
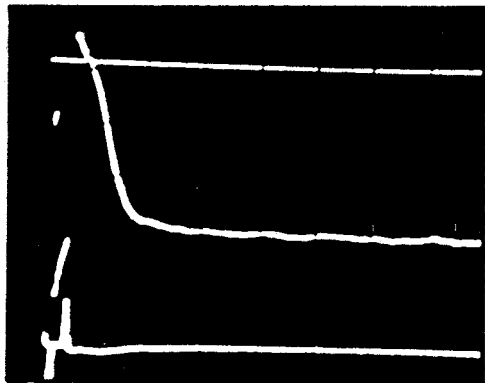
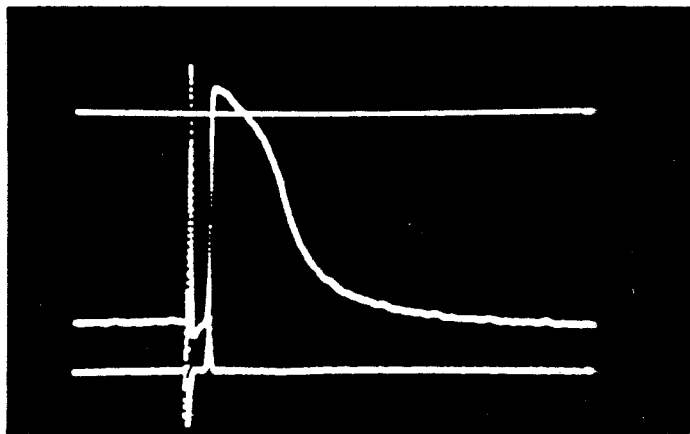
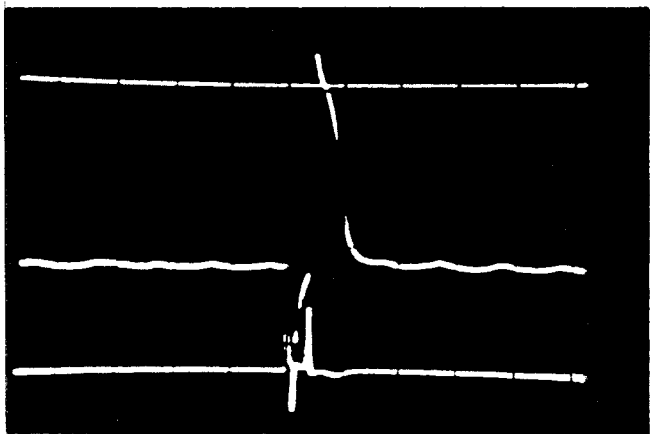
4.1.3.4. Comparaison de ces 3 séries par rapport à la série témoin.

1 préparation sur 10 a récupéré une activité électrique dans la série

20MV

20 MS

150 V/S



DILTIAZEM 10^{-6} M
(MANIP. N°3206)

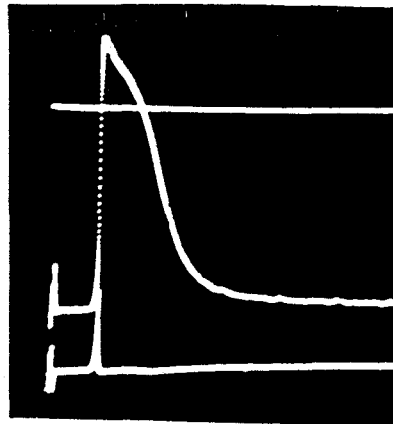
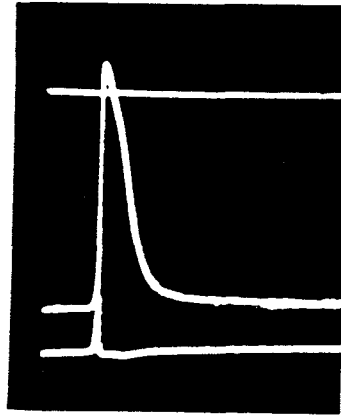
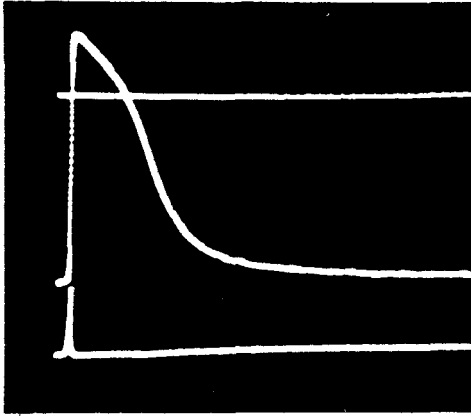
DILTIAZEM 10^{-5} M
(MANIP. N°3226)

RECUPERATION D'UNE ACTIVITE ELECTRIQUE APRES REPERFUSION

BUS
LILLE

20MV
└── 20 MS

150 V/S
└──



RECUPERATION D'UNE ACTIVITE ELECTRIQUE PENDANT LA REPERFUSION

SERIE VERAPAMIL 10-5 M

TABLEAU 30



témoin. Le diltiazem 10^{-6} M ne semble pas faciliter le retour de cette activité ; par contre le diltiazem 10^{-5} M et surtout le vérapamil 10^{-5} M rendent cette récupération plus fréquente. Mais les potentiels d'action sont de mauvaise qualité, restent courts et ne récupèrent pas de phase en plateau.

4.2. Libération de CPK : tableaux 31 à 35

4.2.1 Les 30 dernières minutes de stabilisation

4.2.1.1. Diltiazem 10^{-6} M : tableau 31

La libération est de 2,35 UI/g sec, cette libération n'est pas différente de celle de la série témoin (2,61 UI/g sec).

4.2.1.2. Diltiazem 10^{-5} M : tableau 31

La libération est de 2,95 UI/g sec, cette libération n'est pas différente de celle de la série témoin.

4.2.1.3. Vérapamil 10^{-5} M : tableau 31

La libération est de 1,97 UI/g sec et non différente de celle de la série témoin.

4.2.2. L'"ischémie"

4.2.2.1. Diltiazem 10^{-6} M : tableaux 31-32

Dès la 30ème minute d'ischémie, la libération de CPK est plus faible que dans la série témoin, mais le seuil de signification n'est jamais atteint, si ce n'est qu'à la 75ème minute ($p < 0,10$).

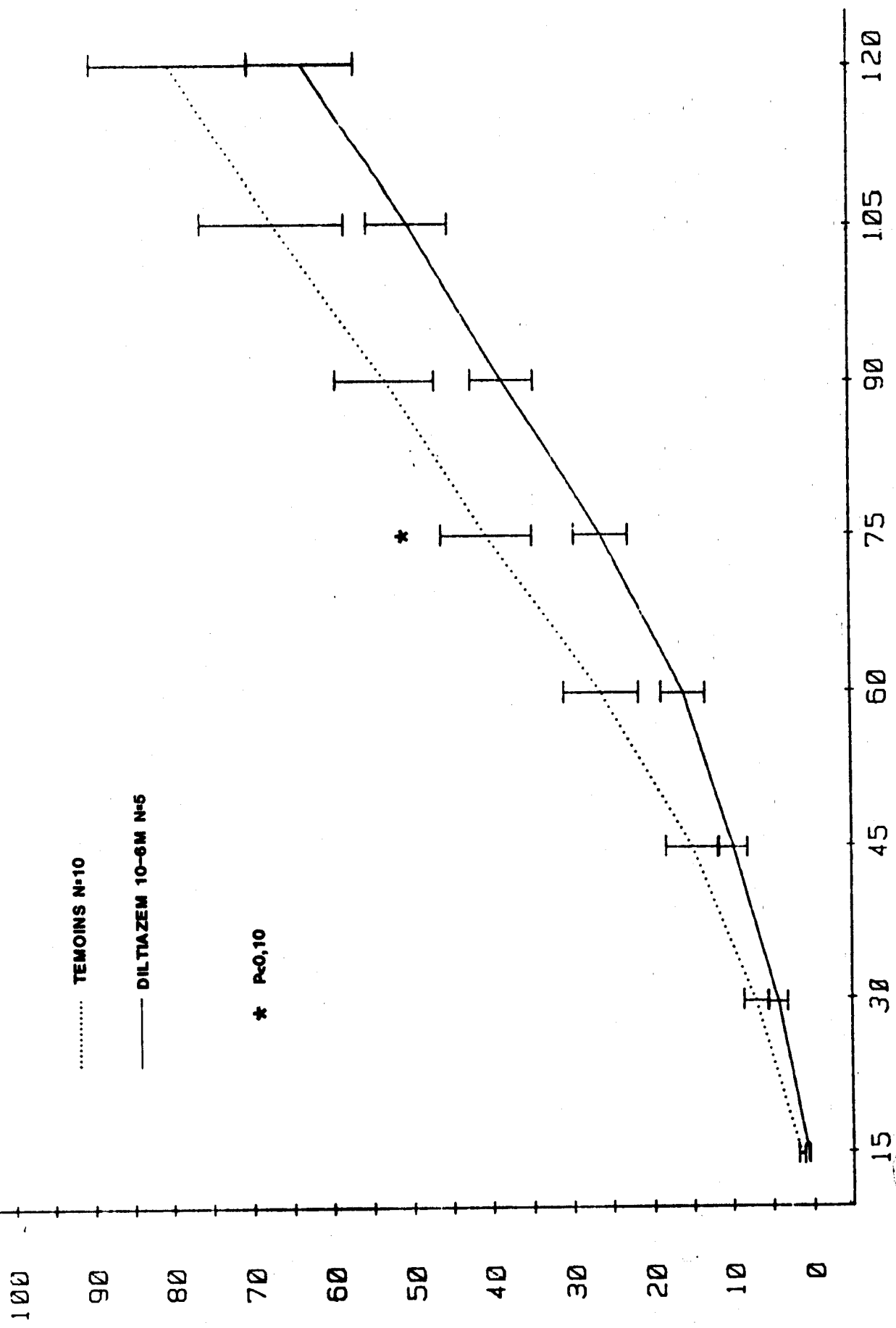
A l'issue de l'ischémie, la libération de CPK est de $63,51 + 6,70$ UI/g sec (témoin = $79,86 + 10,30$ UI/g sec).

4.2.2.2. Diltiazem 10^{-5} M : tableaux 31-33

	CONDITIONS STANDARD	"ISCHEMIE" 10	"ISCHEMIE" + DILTIAZEM 10 ⁻⁶ M	"ISCHEMIE" + DILTIAZEM 10 ⁻⁵ M	"ISCHEMIE" + VERAPAMIL 10 ⁻⁵ M
n:	5	10	5	5	7
15 min	0,7 0,3	1,5 0,4	0,7 0,1	0,6 0,1	0,6 0,1
30	1,9 0,7	7,1 1,5	4,3 1,2	2,9 1,1	3,4 0,4
45	4,7 0,9	15,1 3,3	9,8 1,8	7,3 2,4	7,2 0,9
60	6,2 1,3	26,2 4,7	16,1 2,8	12,4 4,3	12,8 1,6
75	8,0 1,9	40,4 5,7	26,2 3,4	19,4 6,3	18,8 2,9
90	10,3 2,8	53,0 6,2	38,4 3,9	29,3 7,8	26,0 4,2
105	12,3 3,3	66,7 8,7	50,2 5,1	37,8 9,9	33,1 5,1
120	14,0 3,9	79,8 10,3	63,5 6,7	47,5 12,7	40,7 5,9
	REPERFUSION				
15	1,4 0,4	11,1 3,4	13,2 4,2	18,2 3,9	2,8 0,5
30	3,8 1,4	28,2 9,1	22,3 6,2	25,9 3,9	5,2 1,1
			Libération de C.P.K.		
			<u>TABLEAU 31</u>		



C.P.K. (U/G SEC)



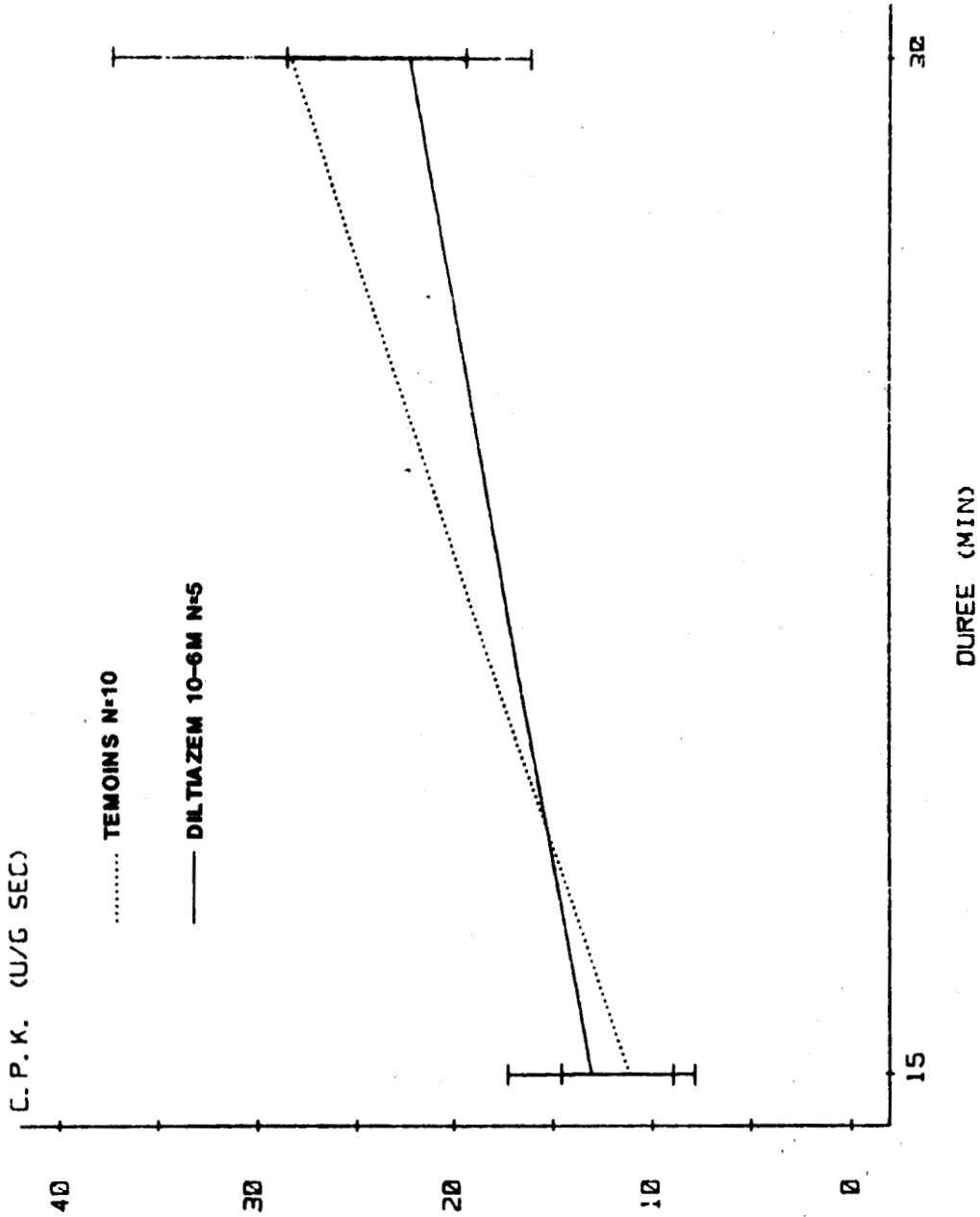
DUREE (MIN)

ISCHEMIE



Libération de C.P.K.

tableau 32

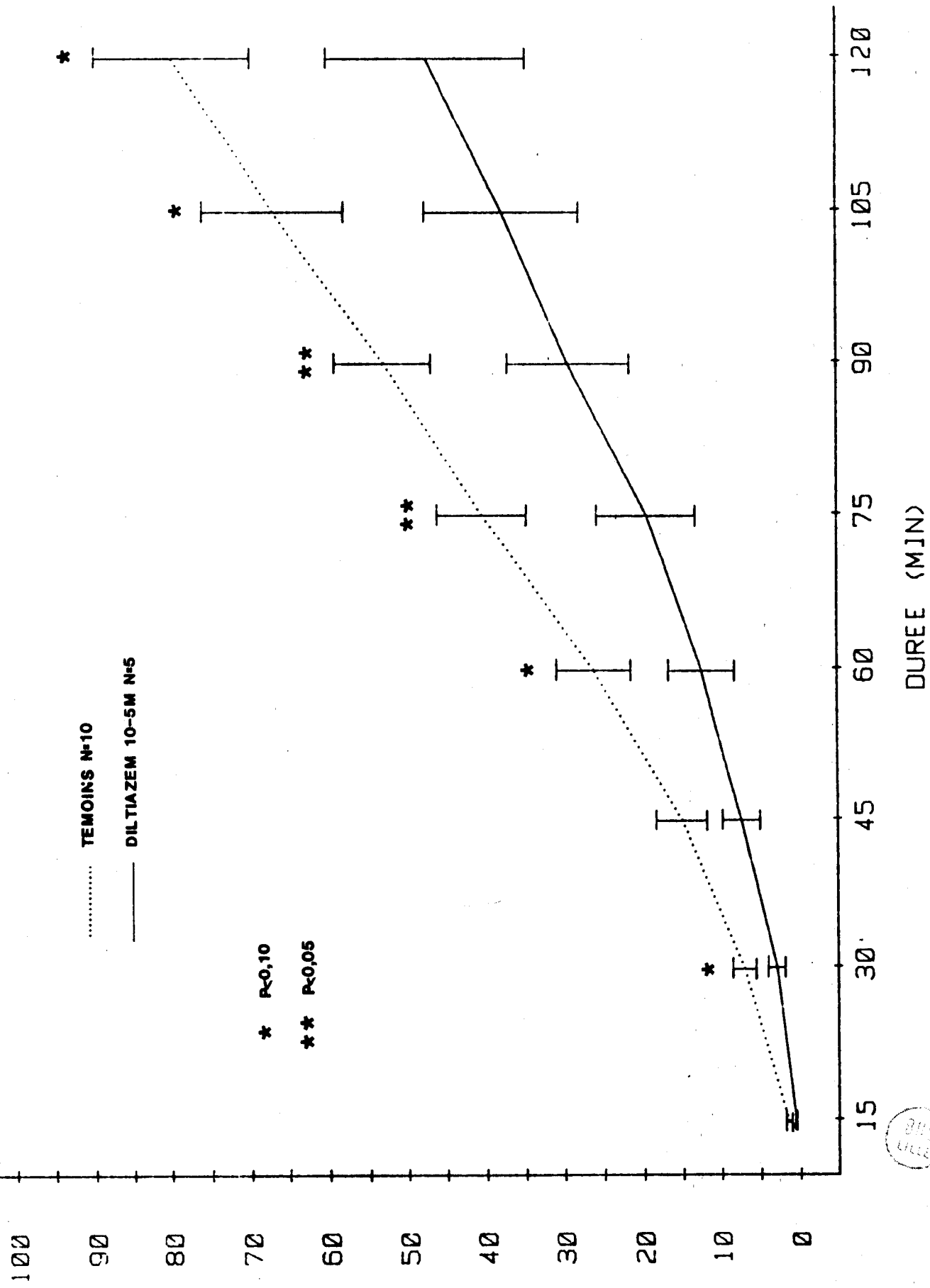


REPERFUSION

Libération de C.P.K.
 tableau 32bis



C.P.K. (U/G SEC)

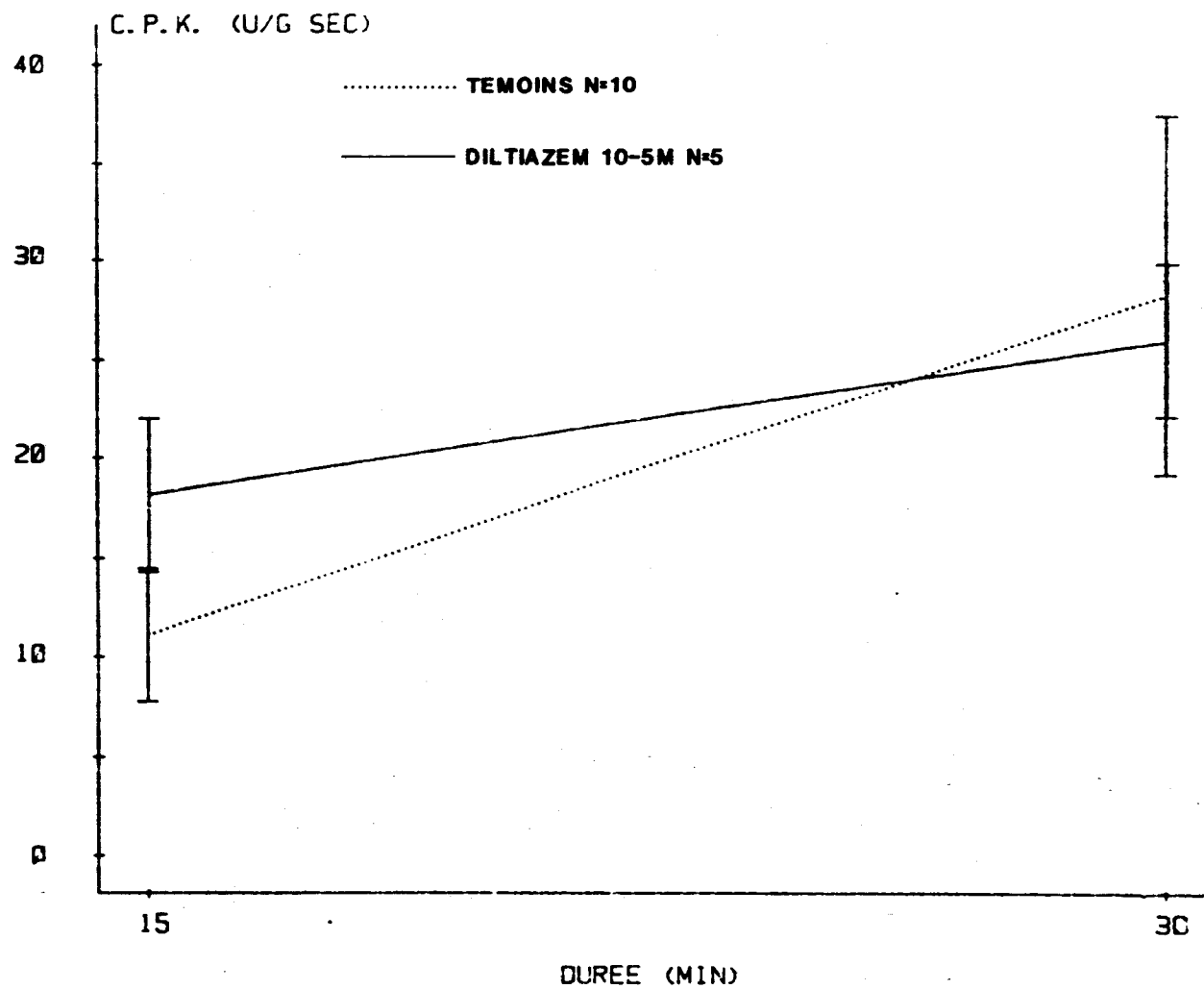


DUREE (MJN)

ISCHEMIE

Libération de C.P.K.

tableau 33

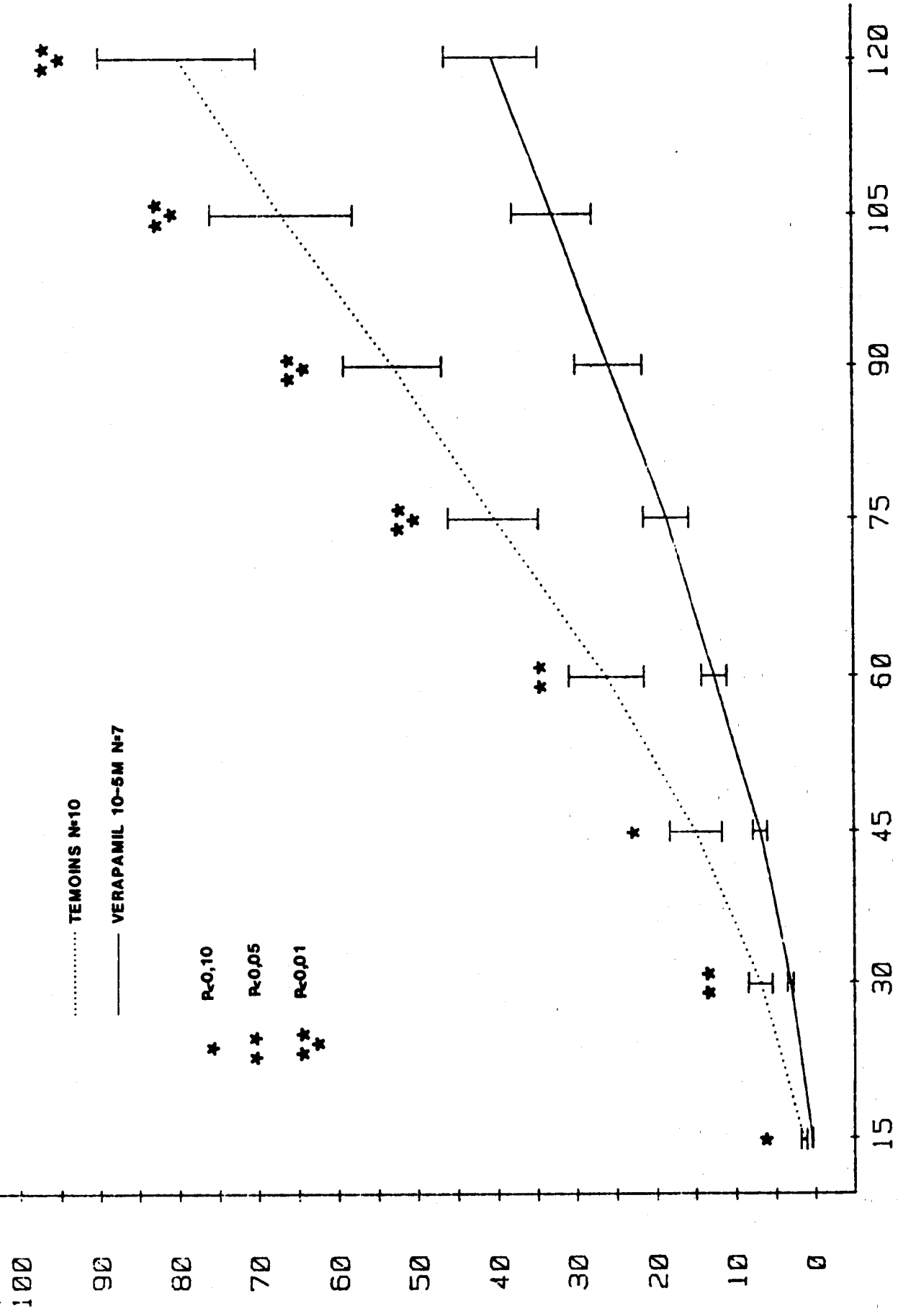


REPERFUSION

Libération de C.P.K.
tableau 33bis

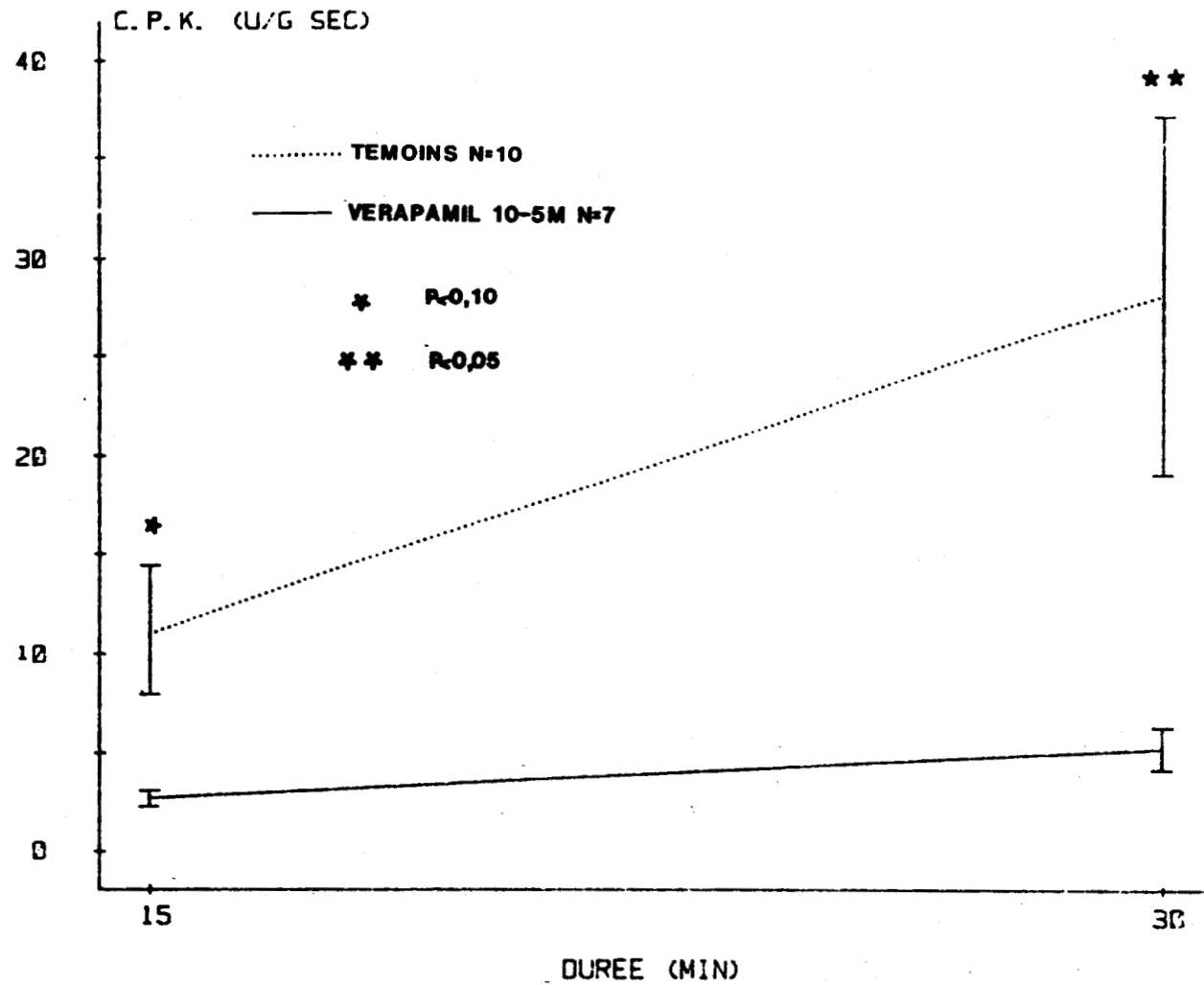


C.P.K. (U/G SEC)



ISCHEMIE

Libération de C.P.K.
tableau 34



REPERFUSION

Libération de C.P.K.

tableau 34bis



Dès la 30ème minute d'ischémie, la libération de CPK est plus faible que dans la série témoin ($p < 0,10$).

A la 45ème minute, cette différence n'est plus significative, mais le redevient à la 60ème minute ($p < 0,10$). A la 75ème et 90ème minute, p est inférieur à 0,05.

A l'issue de l'ischémie, la libération de CPK est de 47,51 UI/g sec.

4.2.2.3. Verapamil 10^{-5} M : tableaux 31-34

Dès la 15ème minute d'ischémie, la libération de CPK est plus faible que dans la série témoin ($p < 0,10$). p est inférieur à 0,05 à la 30ème minute ; à 0,10 à la 45ème minute et à 0,05 à la 60ème minute. A partir de la 75ème minute et jusqu'à la fin de l'ischémie p est inférieur à 0,01.

A l'issue de l'ischémie, la libération de CPK est de 40,71 UI/g sec.

4.2.2.4. Comparaison de ces 3 séries par rapport à la série témoin.

Le diltiazem 10^{-6} M ne limite pas significativement la fuite de CPK pendant l'ischémie ; à 10^{-5} M il diminue cette fuite ($p < 0,10$ et $< 0,05$). Le verapamil 10^{-5} M diminue significativement la libération de CPK ($p < 0,01$).

4.2.3 La reperfusion.

4.2.3.1. Diltiazem 10^{-6} M : tableaux 31-32bis

Après 30 minutes de reperfusion, la libération de CPK est légèrement inférieure, mais sans signification (22,27 UI/g sec contre 28,60 UI/g sec dans la série témoin).

4.2.3.2. Diltiazem 10^{-5} M : tableaux 31-33bis

La libération de CPK est voisine de celle de la série témoin (25,87 UI/g sec).

4.2.3.3. Vérapamil 10^{-5} M : tableaux 31-34 bis

La libération de CPK est plus faible que dans la série témoin : p est inférieur à 0,10 dès la 15ème minute et à 0,05 à la 30ème minute. A l'issue de la reperfusion, la fuite de CPK est de 5,19 UI/g sec.

4.2.3.4. Comparaison de ces 3 séries par rapport à la série témoin

Le diltiazem (10^{-6} M et 10^{-5} M) ne limite pas la fuite enzymatique lors de la reperfusion alors que le vérapamil 10^{-5} M la diminue.

4.3. Discussion partielle.

	ISCHEMIE				REPERFUSION		
	FUITE DE CPK	PERSISTANCE DE L'ACTIVITE ELECTRIQUE			FUITE DE CPK	RECUPERATION ELECTRIQUE	
		REPONSE 1/1	REPONSE DECREMEN- TIELLE	TOTAL		FREQUENCE DE LA RECUPERA- TION	QUALITE DE LA RECUPE- RATION
DILTIAZEM 10 ⁻⁶	↘ (NS)	↗ P < 0,05	↘ (supprimé p < 0,05)	NS	↗ NS	1/5	Mauvaise
10 ⁻⁵	p < 0,10 ↘ et p < 0,05	0 à ↗ NS	↗ NS	↗ NS	↗ NS	↗ 3/5	Mauvaise
VERAPAMIL 10 ⁻⁵	↘ p < 0,01	↘ p < 0,05	↘ NS	↘ NS	↘ p < 0,10	↗ 6/7	Mauvaise

Modification des paramètres mesurés par rapport à la série témoin.

Quelques éléments essentiels sont à retenir de ce tableau :

- Les inhibiteurs du canal lent (diltiazem, vérapamil) diminuent de façon dose-dépendante la fuite enzymatique pendant "l'ischémie". Le pouvoir protecteur du diltiazem 10⁻⁵M semble identique à celui du vérapamil 10⁻⁵M, mais la plus grande dispersion des résultats minimise le seuil de signification.
- Seul le vérapamil limite la fuite enzymatique pendant la reperfusion.



- La Récupération de l'activité électrique est plus fréquente sous vérapamil 10^{-5} M et diltiazem 10^{-5} M mais les potentiels d'action sont de mauvaise qualité (spike) et ne récupèrent pas de plateau calcique.

Ces résultats mettent en évidence une cardioprotection et corroborent ceux que nous avons rapportés dans le chapitre réservé à la description des propriétés cardioprotectrices des inhibiteurs du canal lent sur le myocarde ischémié ; malheureusement nos résultats ne sont que des descriptions phénoménologiques qui ne nous permettent pas d'appréhender le ou les mécanismes cellulaires qui conduisent à la protection observée.

A partir de ces résultats et des données de la littérature, nous pouvons essayer d'interpréter les phénomènes que nous observons.

Nous rappelons que les auteurs n'ont pas encore défini parfaitement quels étaient le ou les mécanismes responsables de la cardioprotection observée sous inhibiteurs du canal lent ; diverses hypothèses sont proposées.

- diminution de la surcharge calcique pendant l'ischémie,
- diminution de l'inotropisme et épargne des réserves énergétiques,
- modifications de la vascularisation cardiaque,
- etc...

Il est possible que toutes ces modifications soient en relations étroites (diminution de la surcharge calcique, diminution de l'inotropisme, épargne des réserves énergétiques...) et représentent un ensemble d'épiphénomènes qui traduit une modification des régulations des processus métaboliques qui échappe encore aux méthodes d'analyse des différents auteurs.

Nous disposons d'informations directes concernant l'électrogénèse cellulaire (donc le fonctionnement de la membrane) et indirects concernant la perméabilité membranaire (donc le maintien de la structure de la membrane). Nous savons

que l'électrogénèse cellulaire est liée à un "pool" d'ATP d'origine glycolytique (MC DONALD T.F. et coll., 1971) et que le maintien de la structure membranaire dépend également du taux d'ATP intracellulaire (BRICKNELL O.L. et OPIE L.H. ; 1978) ; il a été démontré que le maintien des réserves d'ATP protège les cellules ischémiées.

Nous savons que la contraction consomme de grandes quantités d'ATP et il est possible que l'accélération de la perte de la force de contraction sous inhibiteur du canal lent pendant l'ischémie protège les cellules atteintes (BOURDILLON P.D. et POOLE-WILSON P.A., 1982 ; HIGGINS T.J.C., 1980-1981). Nous n'avons pas mesuré la contractilité, mais il est admis qu'en ischémie, l'activité mécanique disparaît bien avant l'activité électrique. L'activité électrique a disparu plus précocément dans la série vérapamil 10^{-5} M que dans la série témoin et diltiazem 10^{-5} M ; cela est certainement lié au pouvoir inhibiteur du canal sodique rapide que manifeste le vérapamil (GAUTIER P., 1980) et on connaît l'extrême sensibilité des potentiels d'action rapides déprimés vis à vis de cette propriété (DURIEZ P., 1981). En comparant la série vérapamil à la série témoin, on pourrait imaginer que la perte rapide de l'excitabilité en ischémie, et a fortiori de l'activité contractile limite la fuite de CPK (et donc protège les cellules ischémiées) mais cette hypothèse n'est plus soutenable quand on compare la série vérapamil 10^{-5} M à la série diltiazem 10^{-5} M : en effet, la protection enzymatique est quasi identique dans les deux séries et la persistance de l'excitabilité électrique n'est pas modifiée (ou serait plutôt allongée) dans la série diltiazem 10^{-5} M. Cette hypothèse devient caduque si l'on considère la série propranolol, car alors l'inexcitabilité électrique est atteinte beaucoup plus rapidement (5 minutes) et aucune protection enzymatique n'est observée. La précocité de la disparition de l'activité électrique en ischémie ne semble pas être un facteur intervenant dans l'effet protecteur et il est probable que le vérapamil ne permet pas l'expression fonctionnelle (activité électrique) de la protection membranaire qu'il entraîne, car il manifeste un effet inhibiteur du canal sodique rapide.

Les résultats obtenus avec le diltiazem 10^{-6} M sont décevants si l'on considère la fuite enzymatique pendant l'ischémie (aucune protection) et la fréquence de la récupération d'une activité électrique à la reperfusion (aucune amélioration), mais ils sont intéressants si l'on considère la persistance et la nature de la réponse électrique pendant "l'ischémie" ; en effet, le diltiazem 10^{-6} M augmente la persistance de la réponse

électrique 1/1 qui atteint 30 minutes et se confond alors avec la persistance totale de l'activité électrique. Le diltiazem 10^{-6} M protège donc d'un point de vue fonctionnel les membranes ischémiées. Si nous admettons que les inhibiteurs du canal lent protègent les cellules ischémiées en épargnant des réserves énergétiques (ATP) (en diminuant l'inotropisme, l'entrée de calcium, etc...) nous pouvons imaginer que les quantités d'ATP sauvées par le diltiazem 10^{-6} M sont suffisantes pour déclencher un potentiel d'action à chaque stimulation pendant un temps assez long mais insuffisantes pour maintenir longtemps l'intégrité membranaire et limiter la fuite de C.P.K.

La différence essentielle que nous notons entre les séries diltiazem 10^{-5} M et vérapamil 10^{-5} M se produit au moment de la reperfusion ; en effet, le vérapamil limite à la différence du diltiazem la fuite de C.P.K.. D'autres auteurs (WEISHAAR R.E. et BING R.J., 1980) ont observé un effet protecteur du diltiazem lors de cette phase expérimentale. Nous ne disposons d'aucun élément nous permettant d'expliquer ce phénomène car s'il est admis que l'intensité des dégâts liés à la reperfusion est fonction de l'intensité de la souffrance subie pendant l'ischémie (JENNINGS R.B. et coll, 1975), nous ne pouvons affirmer que les cellules sous vérapamil ont moins souffert que les cellules sous diltiazem car la fuite enzymatique est identique.

En conclusion, nous pouvons dire que les inhibiteurs du canal lent exercent un effet "cardioprotecteur" ou plus exactement "cytoprotecteur".

5 - SERIE PIRIDOXILATE

- 1 essai piridoxilate 10^{-4} M.
- 9 essais piridoxilate 10^{-3} M.

5.1. Electrophysiologie cellulaire (piridoxilate 10^{-3} M)

5.1.1 Action du piridoxilate (10^{-3} M) sur les potentiels d'action témoins : tableaux 36-37

On observe un allongement très significatif des potentiels d'action. La DPA_{50} augmente de 42,60 msec (p 1 %) et la DPA_{90} de 29 msec (p < 1 %), la vitesse maximale de dépolarisation diminue de 25,20 V/sec (p < 10 %).

5.1.2.1. Effets de l'ischémie : tableaux 38-39-40-41

On observe le même type de modification des caractères électriques que dans la série témoin.

- une préparation sur 9 est devenue définitivement inexcitable dès la 10ème minute d'ischémie.
- 5 préparations sur 9 n'ont pas maintenu une activité électrique au-delà de la 30ème minute.

Dès la 5ème minute d'ischémie, la réponse électrique peut être de type décroissant.

- Une réponse 1/1 s'est maintenue jusqu'à la 75ème minute pour une préparation.
- Il a été possible d'enregistrer une réponse décroissante jusqu'à la 120ème minute d'ischémie pour 2 préparations.

	Em (ms)	APA (mV)	DPA 50 (ms)	DPA 90 (ms)	Vmax V/s	seuil (mA)	n
Témoins	82,50 (0,63)	106,38 (1,48)	103,43 (3,54)	145,50 (3,18)	145,00 (8,24)	0,36 (0,02)	n=9
Piridoxilate	83,75 (1,59)	104,00 (1,41)	146,00 (4,56)	174,50 (6,81)	119,88 (13,81)	0,36 (0,02)	n=9
	NS	NS	p 1°/s	p 1°/s	p 10°/s	NS	

TABEAU 36

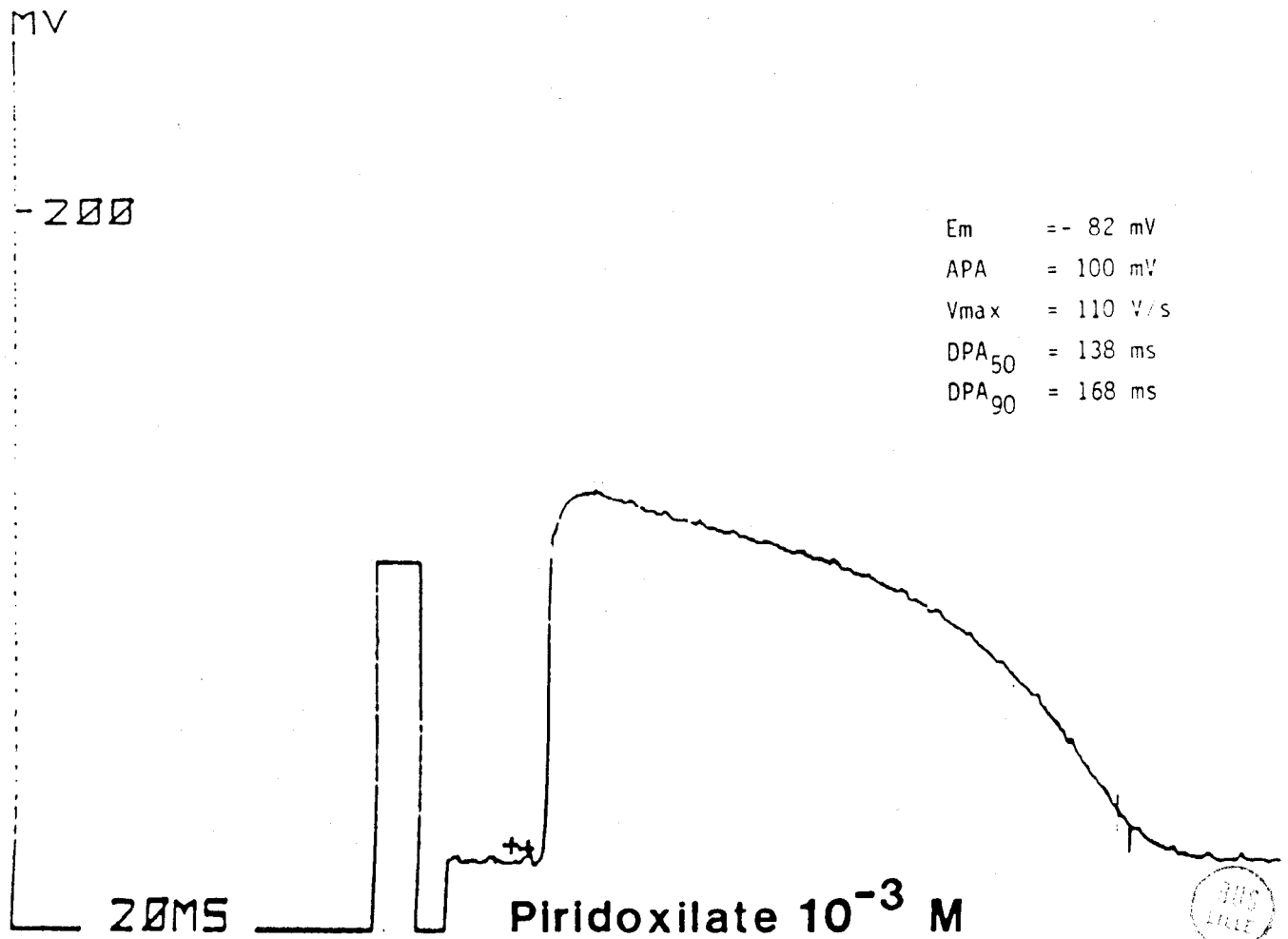
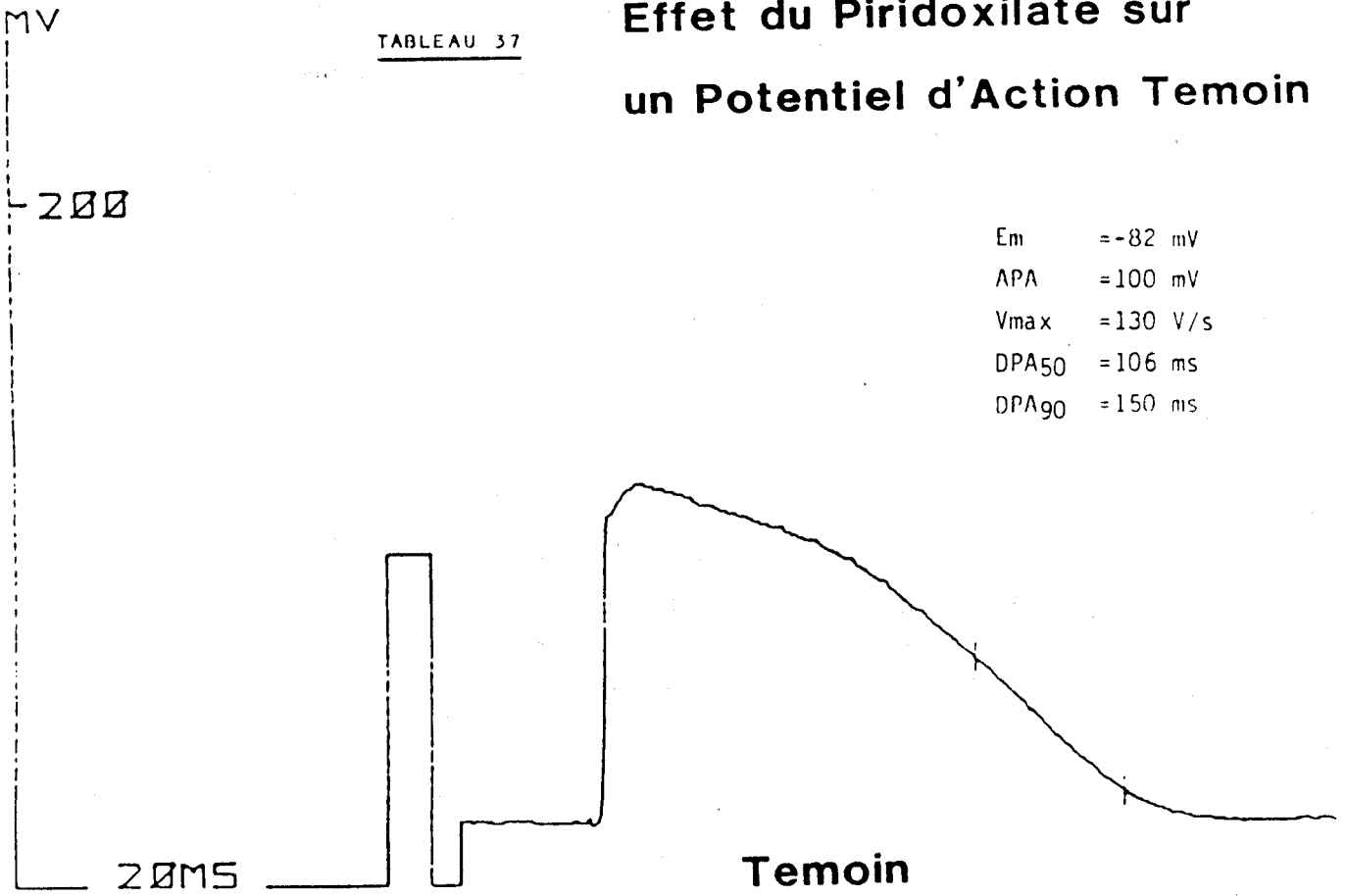
ACTION DU PIRIDOXILATE SUR LES POTENTIELS D'ACTION TEMOINS

m = moyenne

(-) = erreur standard à la moyenne

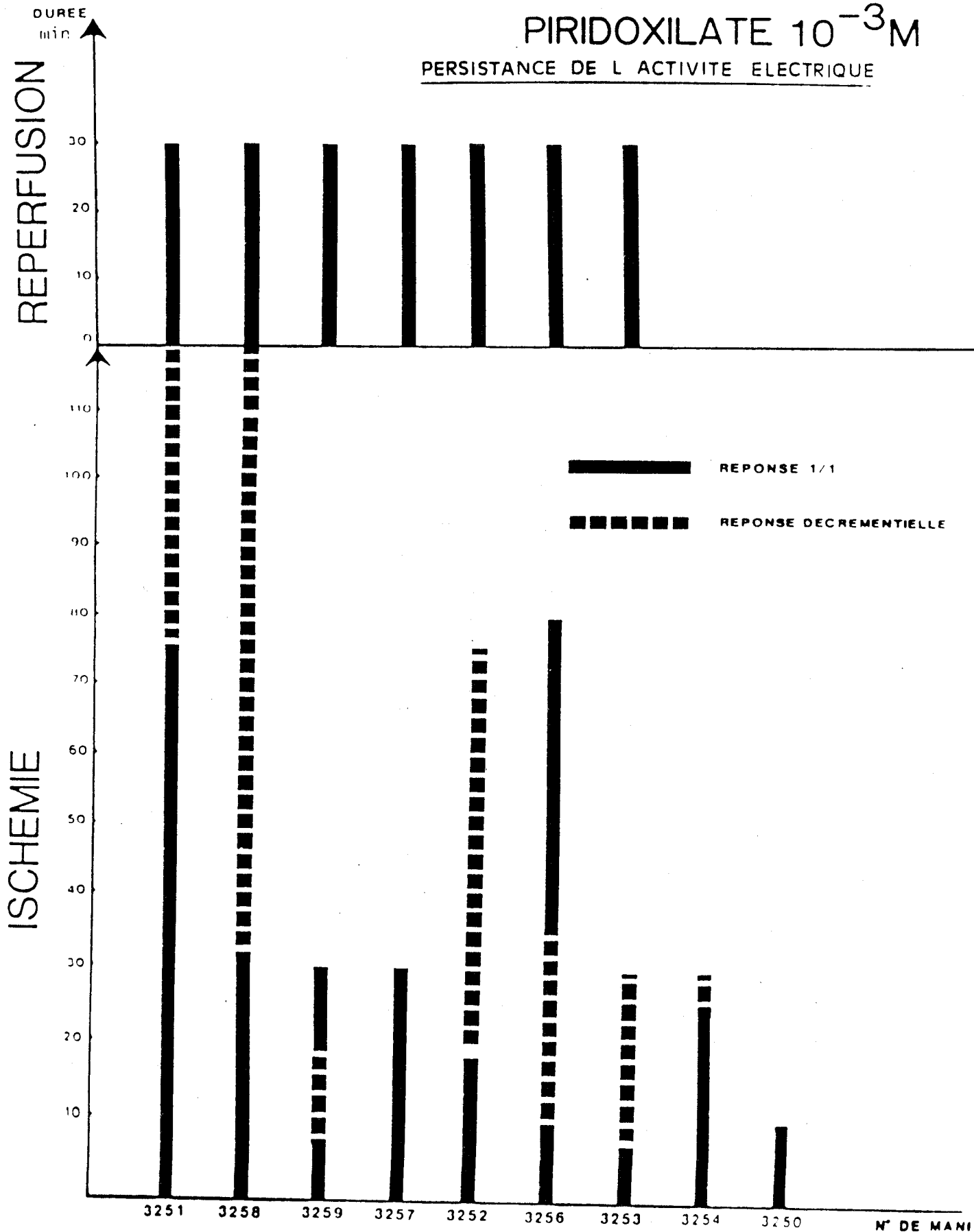
n = nombre d'essais

Effet du Piridoxilate sur un Potentiel d'Action Temoin



PIRIDOXILATE $10^{-3}M$

PERSISTANCE DE L'ACTIVITE ELECTRIQUE



TABEAU 38



	Em (mV)		APA (mV)		DPA 50 (ms)		DPA 90 (ms)		max V/s		seuil mA	
	Témoins	Piridox. 10 ⁻³ M	Témoins	Piridox. 10 ⁻³ M	Témoins	Piridox. 10 ⁻³ M	Témoins	Piridox. 10 ⁻³ M	Témoins	Piridox. 10 ⁻³ M	Témoins	Piridox. 10 ⁻³ M
Ischémie 5 min	54,80	55,33	58,85	63,75	47,75	74,00	68,37	95,13	35,00	11,25	5,56	4,05
	10 1,57	9 2,13	10 5,53	9 3,70	10 8,29	9 11,33	10 9,27	9 12,55	10 12,19	9 4,79	10 1,55	9 1,17
15 min	54,80	59,44	38,20	63,56	52,00	81,22	70,40	107,11	7,00	11,11	9,14	7,33
	5 2,81	9 2,76	5 11,47	9 2,80	5 19,69	9 10,68	5 22,60	9 11,47	5 7,00	9 4,23	5 1,86	9 1,30
30 min	54	56,43	41,60	66,86	72,20	86,00	84,80	109,71	2,80	12,86	11,00	8,00
	5 2,34	7 2,53	5 13,74	7 8,83	5 24,70	7 10,12	5 26,72	7 9,08	5 1,71	7 2,86	5 0,00	7 1,48
45 min	52,75	56,25	59,00	73,67	49,25	75,33	66,25	102,00	1,75	23,33	11,00	7,83
	4 2,17	4 3,35	4 8,31	4 2,19	4 25,66	4 11,22	4 28,03	4 6,43	4 1,75	4 8,82	4 0,00	4 3,17
60 min	57,00	57,00	37,00	72,00	29,00	72,00	61,66	94,00	9,33	35,00	11,00	6,50
	3 1,52	4 0,58	3 13,89	4 11,00	3 9,50	4 22,00	3 18,55	4 18,00	3 9,33	4 5,00	3 0,00	4 4,50
75 min		55,67		54,67		59,33		81,33		10,00		8,67
		3 1,45		3 13,67		3 8,51		3 4,67		3 5,77		3 2,33
90 min		54,00		72,00		62,00		84,00		10,00		11,00
		2		2		2		2		2		2
105 min nombre de mesures 120 min	Moyenne	55,00		68,00		60,00		80,00		12,00		11,00
	erreur standard à la moyenne	2 4,12		2 13,10		2 10,15		2 15,00		2 7,00		2 0,00
		59,67		72,00		134,67		170,00		20,00		11
		2 7,22		2 11,15		2 38,11		2 35,57		2 10,00		2 0,00

COMPARAISON DES MODIFICATIONS DES POTENTIELS D'ACTION SERIE TEMOIN PAR RAPPORT AU PIRIDOXILATE TABLEAU 39

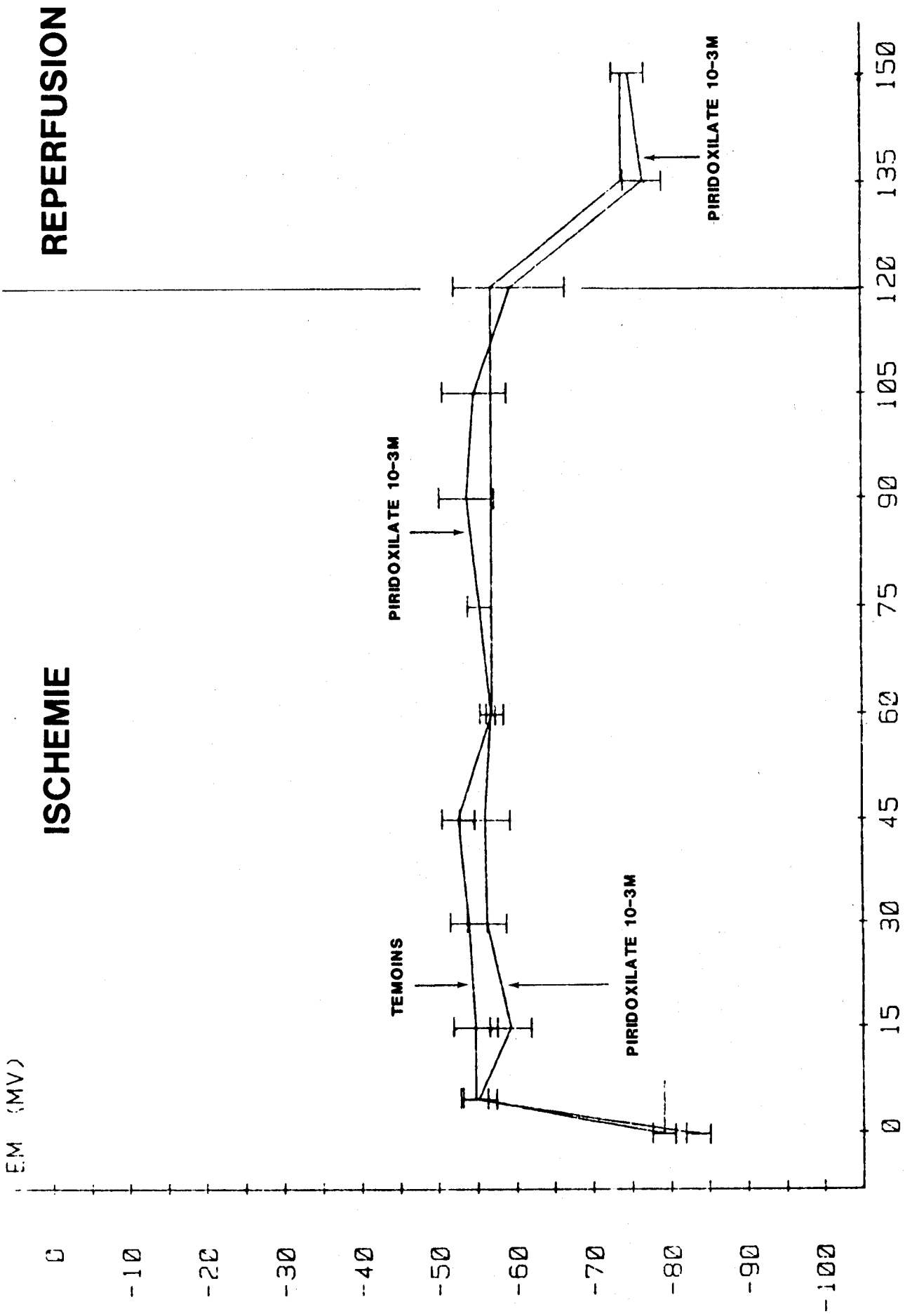


	Em (mV)		APA (mV)		DPA 50 (ms)		DPA 90 (ms)		Vmax V/s		seuil mA	
	Témoins	Piridox. $10^{-3}M$	Témoins	Piridox. $10^{-3}M$	Témoins	Piridox. $10^{-3}M$	Témoins	Piridox. $10^{-3}M$	Témoins	Piridox. $10^{-3}M$	Témoins	Piridox. $10^{-3}M$
Reperfusion												
15 min	74,00 1	76,80 7 2,46	80,00 1	91,60 7 4,34	19,00 1	70,00 7 13,47	39,00 1	92,20 7 14,43	154,00 1	134,29 7 16,88	2,00 1	6,43 7 1,6
30 min	74,00 1	74,75 7 2,10	80,00 1	84,77 7 6,10	19,00 1	68,15 7 15,25	39,00 1	93,23 7 16,55	154,00 1	124,35 7 11,86	2,00 1	4,31 7 1,2

TABLEAU 40

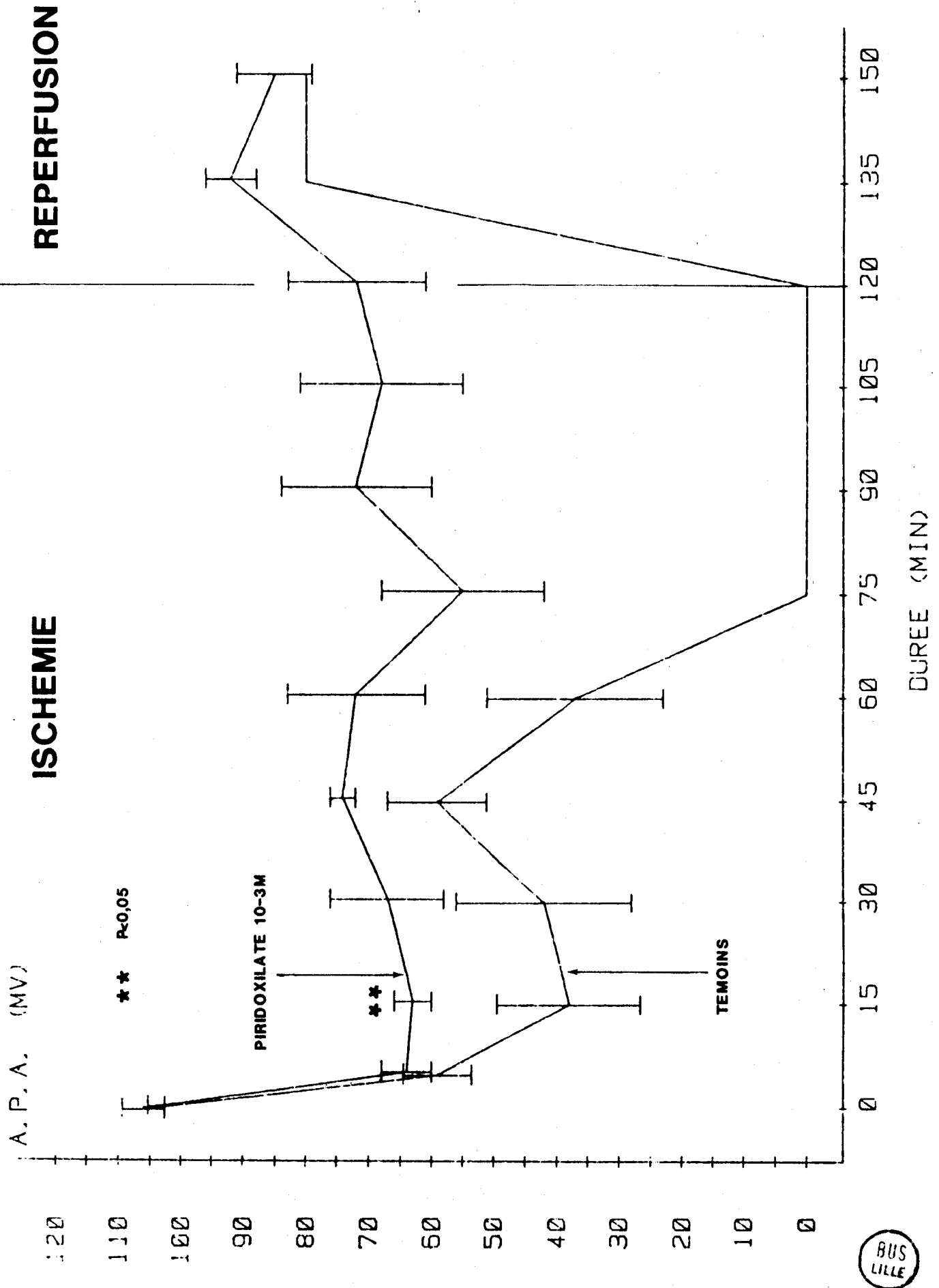
COMPARAISON : REPERFUSION TEMOIN PAR RAPPORT AU PIRIDOXILATE





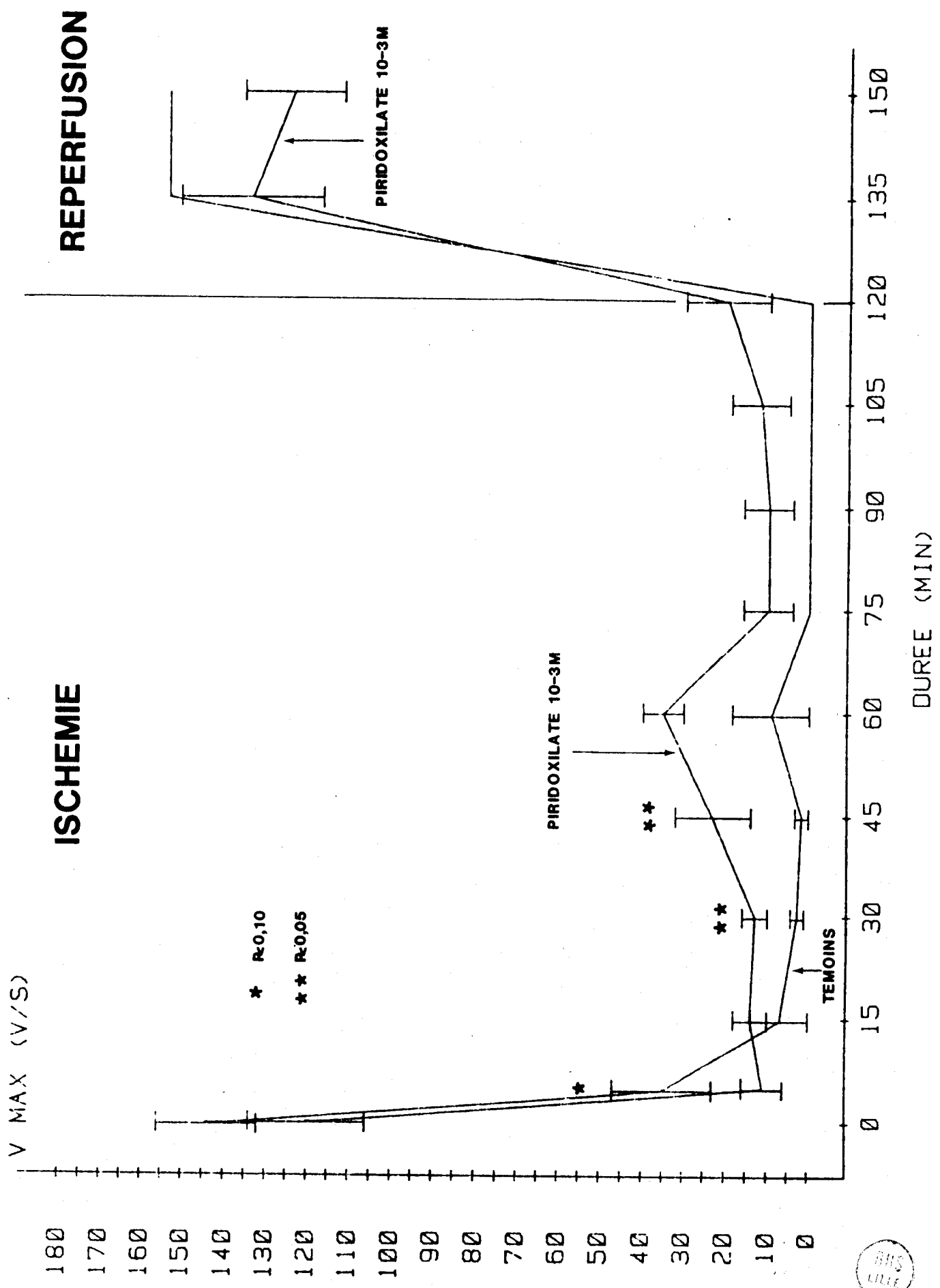
BUS
LILLE

Effets de "l'ischémie" et de la reperfusion sur les potentiels d'action
 tableau 41-1-



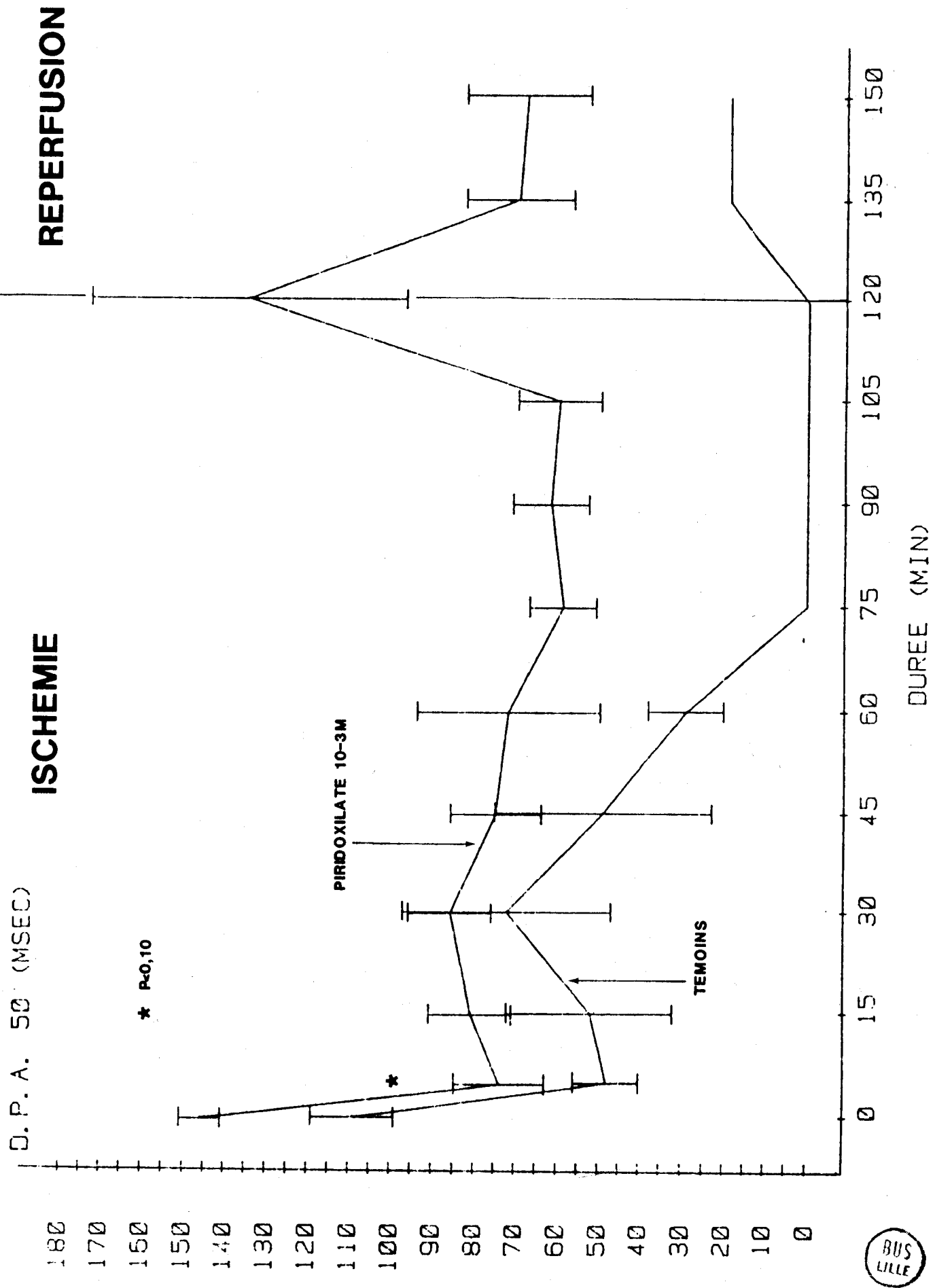
Effets de "l'ischémie" et de la reperfusion sur les potentiels d'action
 tableau 41-2-





Effets de "l'ischémie" et de la reperfusion sur les potentiels d'action
 tableau 41-3-





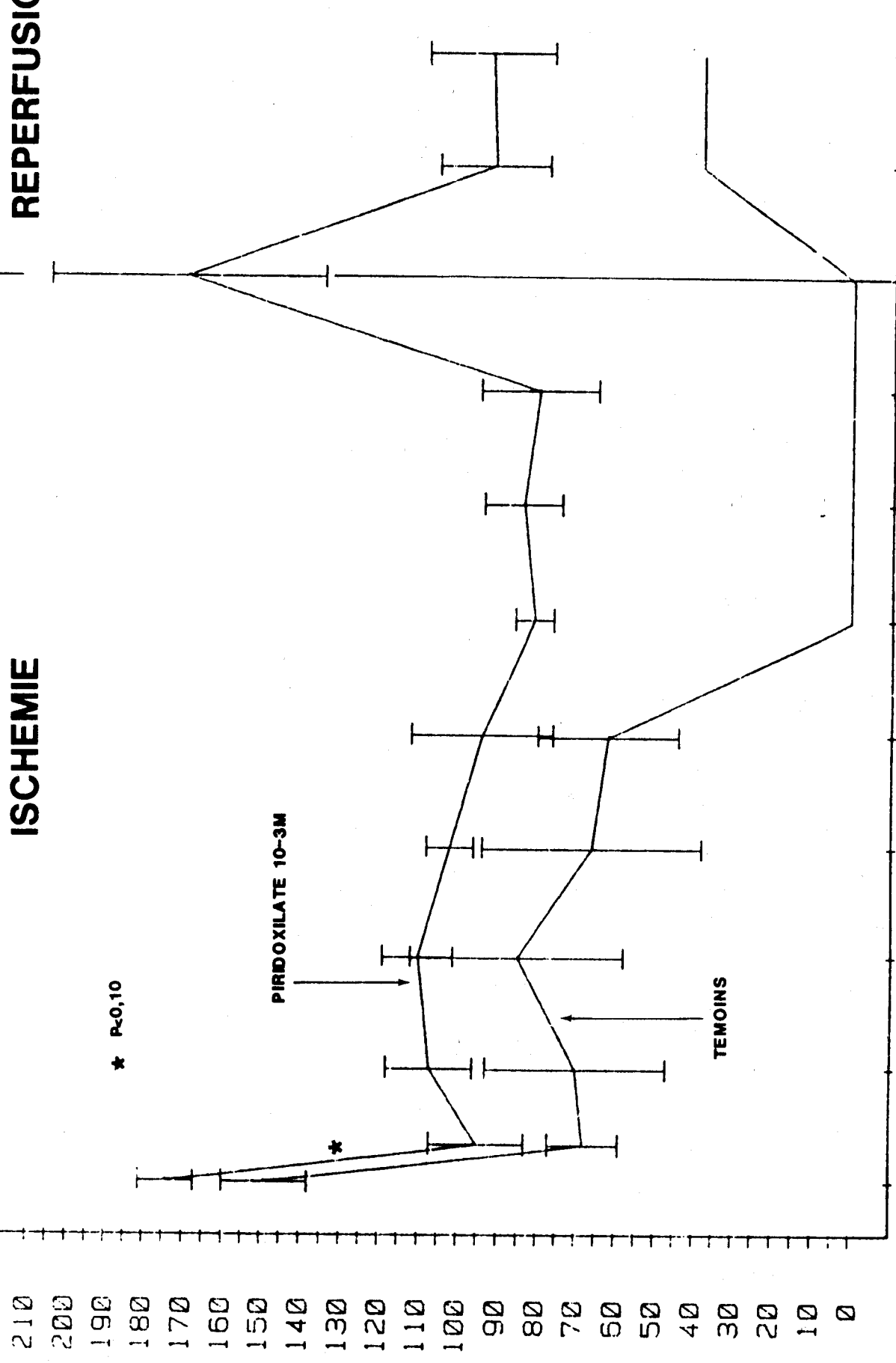
Effets de "l'ischémie" et de la reperfusion sur les potentiels d'action
 tableau 41-4



D.P.A. 90 (MSEC)

ISCHEMIE

REPERFUSION



* P<0,10

PIRDOXILATE 10-3M

TEMOINS

DUREE (MIN)



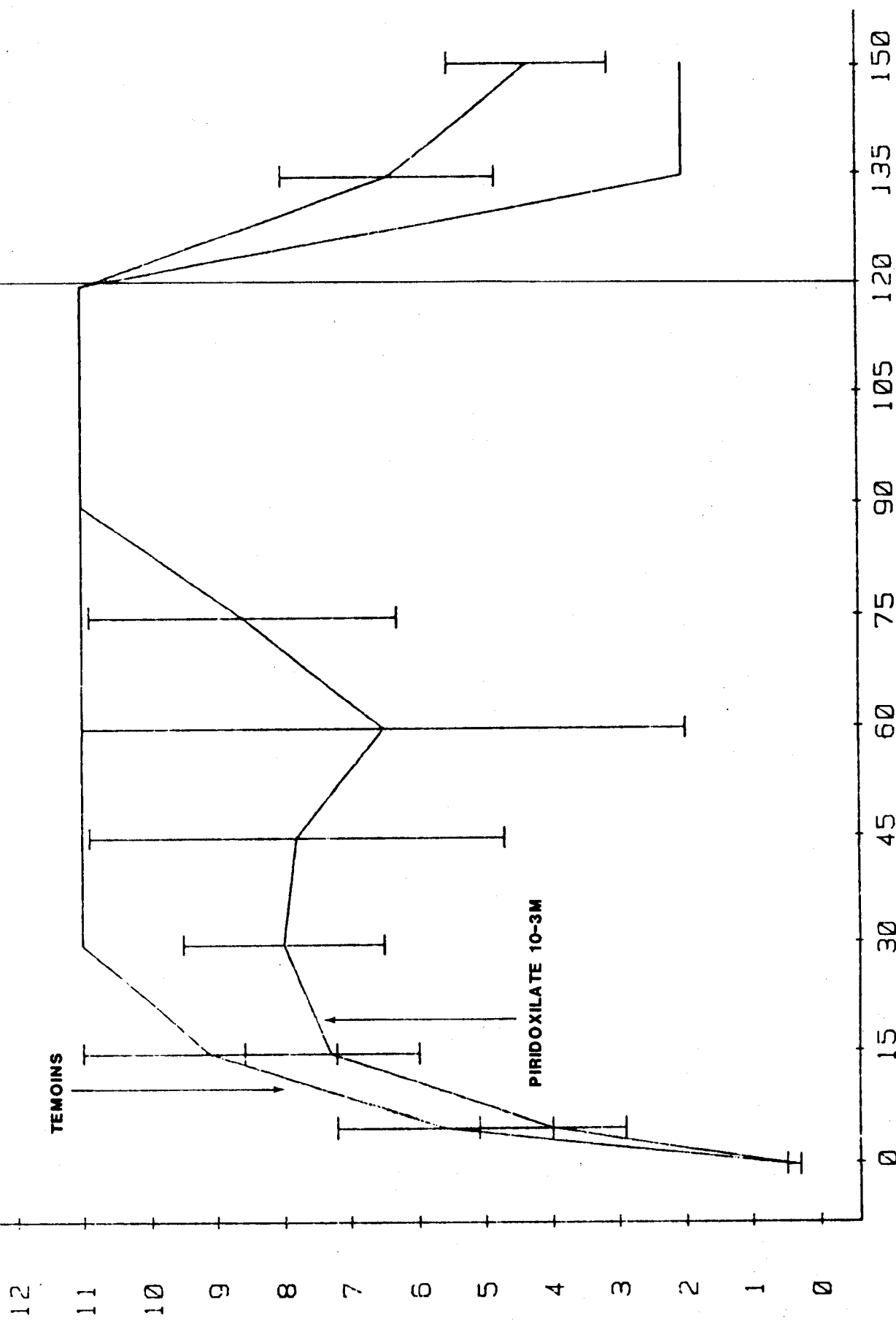
Effets de "l'ischémie" et de la reperfusion sur les potentiels d'action

tableau 41-5-

REPERFUSION

ISCHEMIE

S. E. D. (MA)



DUREE (MIN)

Effets de "l'ischémie" et de la reperfusion sur les potentiels d'action
tableau 41-6-

5.1.2.2. Comparaison de la persistance de l'activité électrique entre la série témoin "ischémie" et piridoxilate 10^{-3} M .

L'activité électrique est très altérée dans les deux séries et se maintient plus longtemps dans la série piridoxilate (dès la 15ème minute "d'ischémie", 5 préparations sur 10 sont inexcitables dans la série témoin contre 1 sur 9 dans la série piridoxilate).

Persistance de l'activité électrique

	SERIE TEMOIN		SERIE PIRIDOXILATE 10^{-3} M		SIGNIFI- CATION
	MOYENNE	ERREUR STANDARD A LA MOYENNE	MOYENNE	ERREUR STANDARD A LA MOYENNE	
Persistance de la réponse 1/1	12,1 minutes	2,56 minutes	29,44 minutes	7,47 minutes	p < 0,05
Persistance de la réponse décrémenteielle	20 minutes	7,34 minutes	28,89 minutes	9,96 minutes	NS
Persistance de la réponse électrique (réponse 1/1 + décrémenteielle)	32,1 minutes	7,53 minutes	58,33 minutes	13,89 minutes	p < 0,10

-3

Dans la série piridoxilate 10^{-3} M, on observe une augmentation de la persistance de la réponse 1/1 et pas de modification de la persistance de la réponse décrémenteielle .

Les paramètres suivants sont significativement améliorés par le piridoxilate 10^{-3} M.

- à 5 minutes d'ischémie : DPA₅₀, DPA₉₀, Vmax (p < 10 %)

- à 15 minutes d'ischémie : APA ($p < 5 \%$)
- à 30 minutes d'ischémie : V_{max} ($p < 5 \%$)
- à 45 minutes d'ischémie : V_{max} ($p < 5 \%$)

5.1.3.1. Effets de la reperfusion : tableaux 42-43-44

7 préparations sur 9 ont retrouvé une activité électrique après la reprise de la perfusion de Tyrode normal oxygéné.

2 préparations ont retrouvé une activité électrique généralisée à toute la préparation avec des potentiels d'action normaux : tableau 42.

2 préparations ont retrouvé une activité électrique généralisée à toute la préparation avec des potentiels d'action normaux sur un papillaire et des potentiels d'action courts sur l'autre papillaire exploré : tableau 43.

3 préparations ont retrouvé une activité électrique sur un seul papillaire avec des potentiels d'action courts : tableau 44.

Lors de l'essai sous piridoxilate $10^{-4}M$, aucune activité électrique n'a été récupérée.

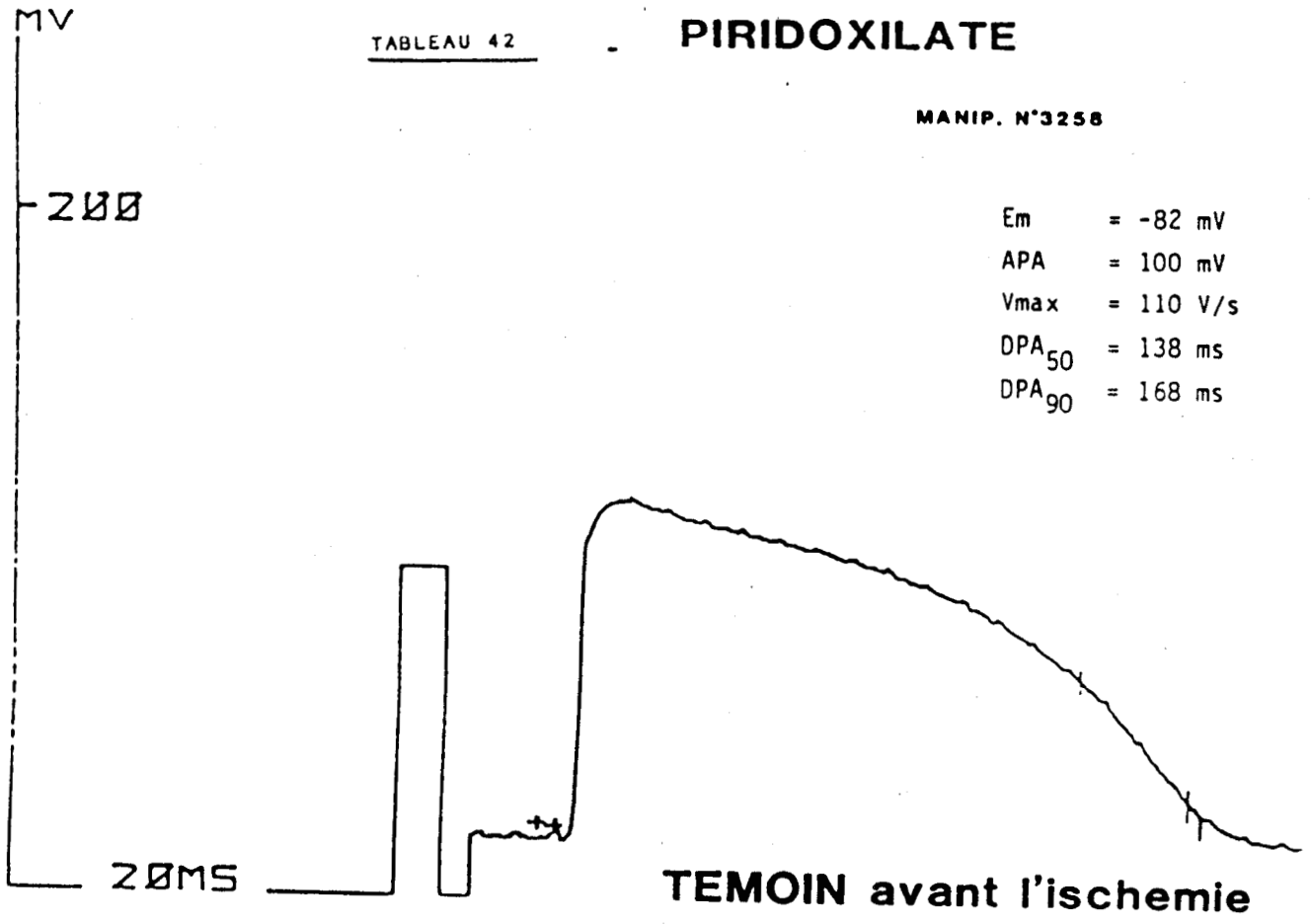
5.1.3.2. Comparaison avec la série témoin.

Le piridoxilate à très forte concentration protège donc l'activité électrique des cellules cardiaques pendant l'"ischémie" ; lors de la reperfusion, la récupération de l'activité électrique est plus fréquente et de meilleure qualité dans la série traitée (1 récupération sur 10 dans la série témoin).

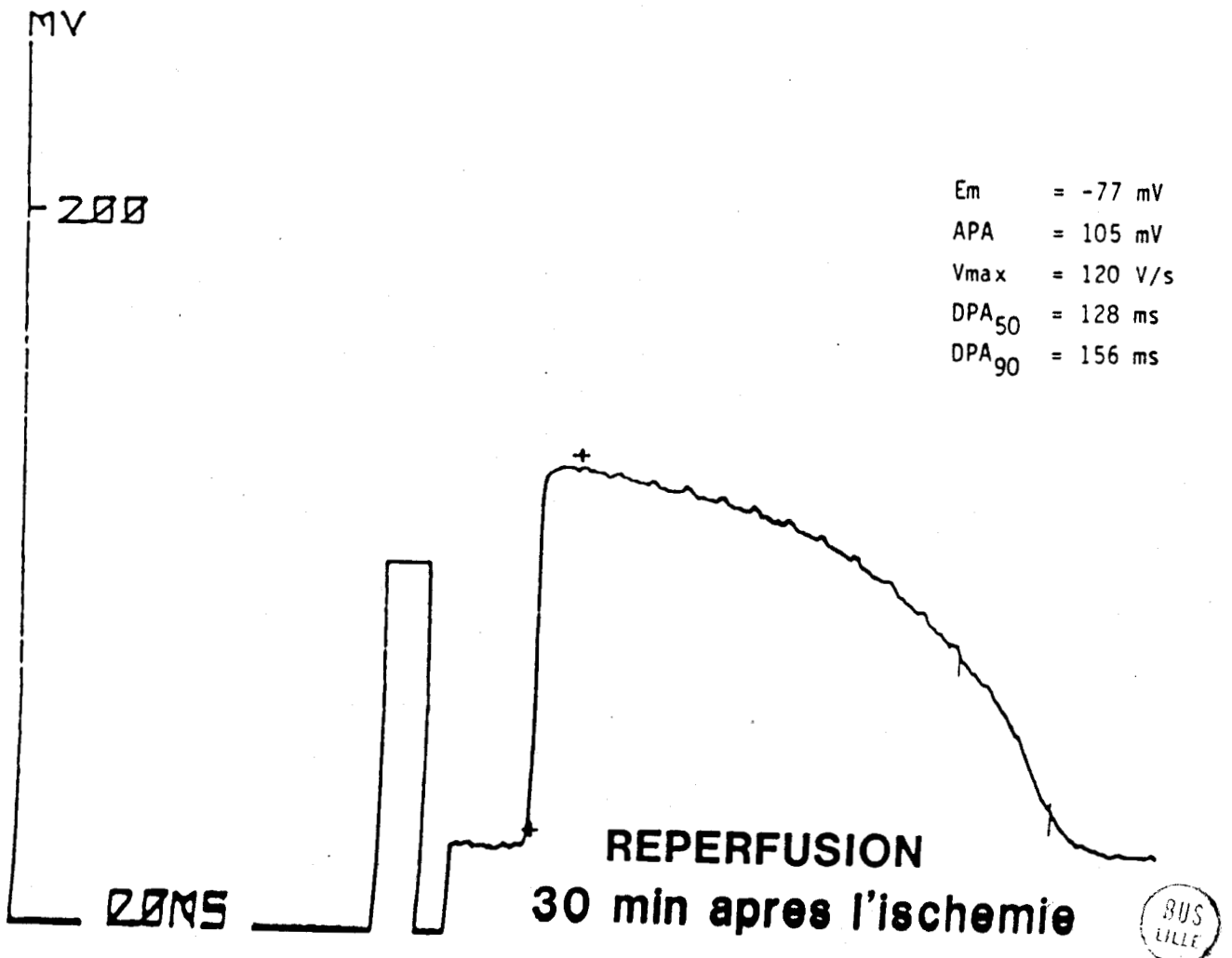
PIRIDOXILATE

MANIP. N°3258

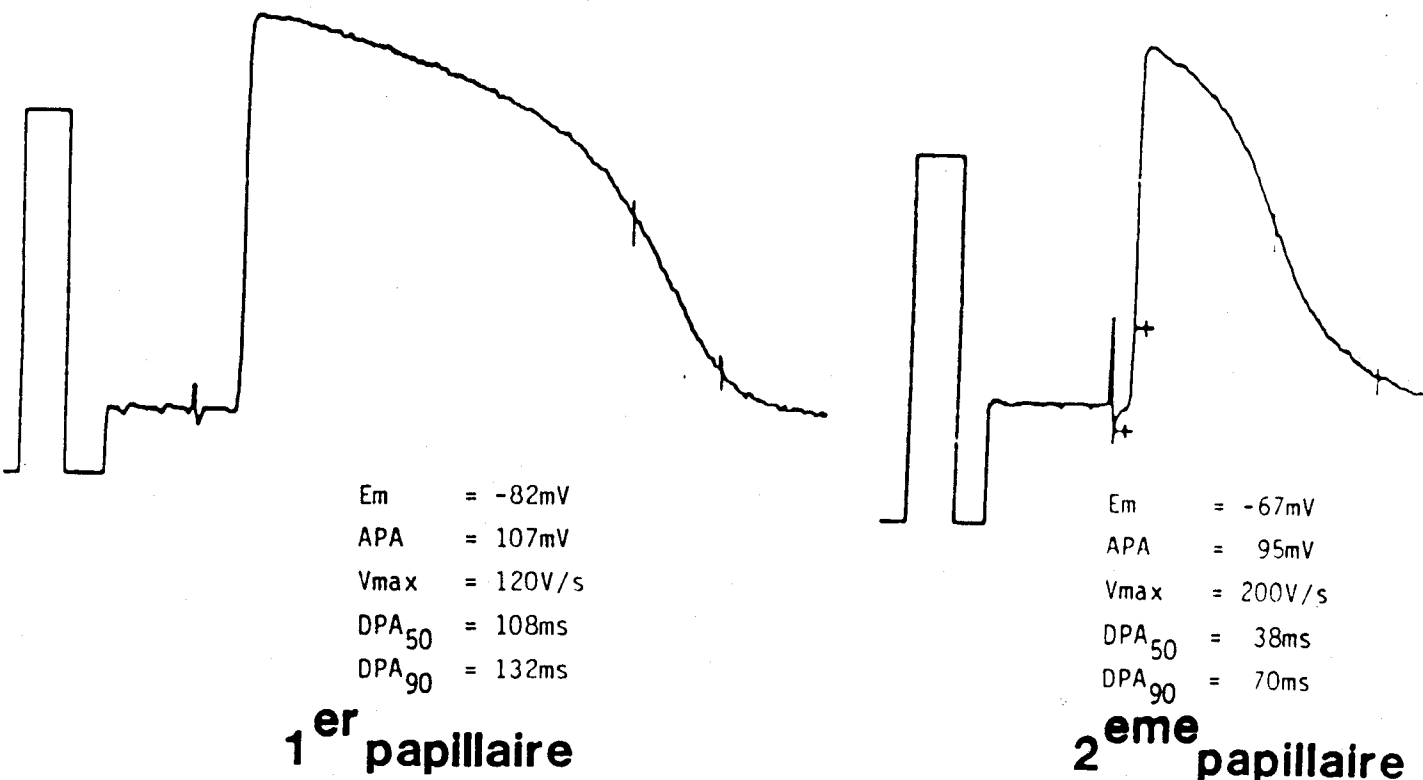
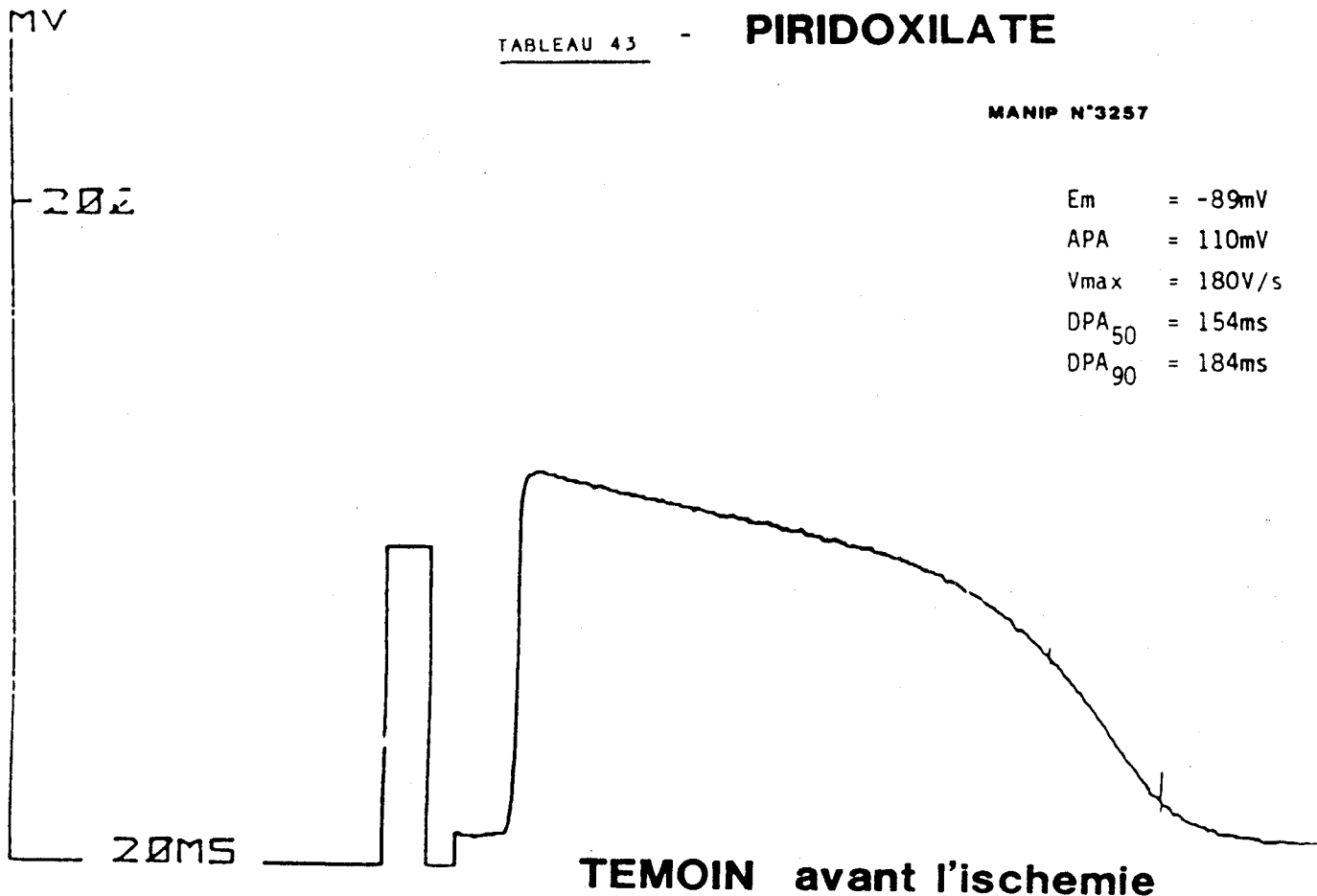
Em = -82 mV
 APA = 100 mV
 Vmax = 110 V/s
 DPA₅₀ = 138 ms
 DPA₉₀ = 168 ms



Em = -77 mV
 APA = 105 mV
 Vmax = 120 V/s
 DPA₅₀ = 128 ms
 DPA₉₀ = 156 ms



MANIP N°3257



REPERFUSION 30 min apres l'ischemie



MV

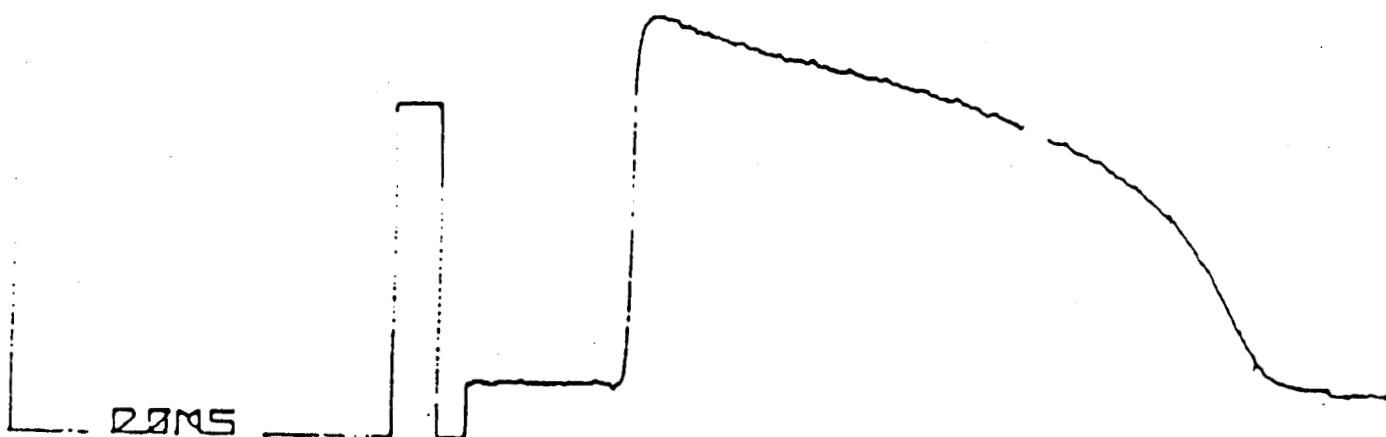
PIRIDOXILATE

TABEAU 44

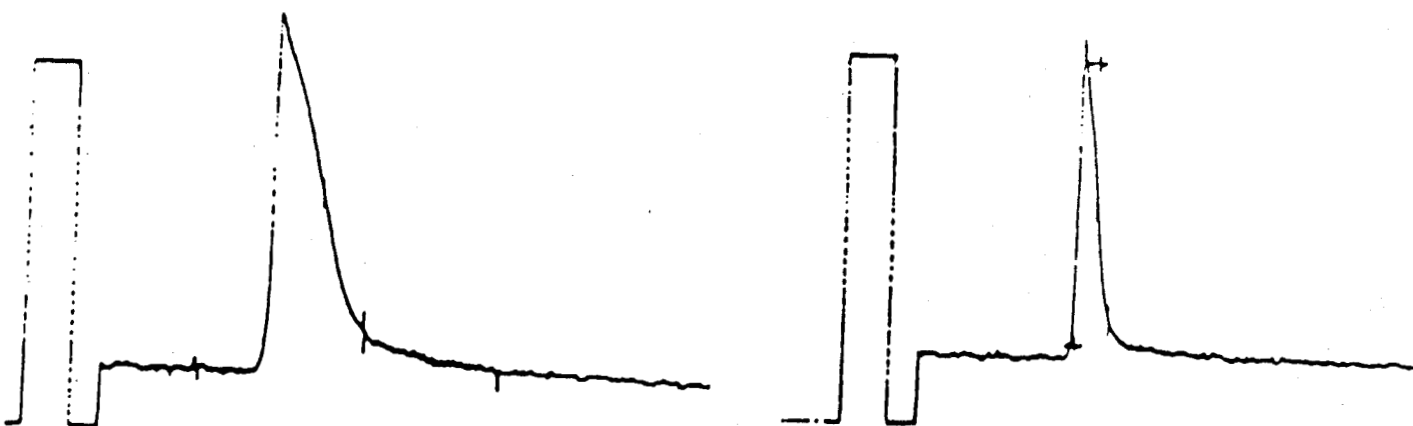
MANIP N°3253

-200

Em	= -82 mV
APA	= 105 mV
Vmax	= 120 V/s
DPA ₅₀	= 148 ms
DPA ₉₀	= 170 ms



TEMOIN avant l'ischemie



Em	= -82 mV
APA	= 88 mV
Vmax	= 170 V/s
DPA ₅₀	= 16 ms
DPA ₉₀	= 30 ms

1^{er} papillaire

Em	= -81 mV
APA	= 82 mV
Vmax	= 120 V/s
DPA ₅₀	= 6 ms
DPA ₉₀	= 12 ms

2^{eme} papillaire

REPERFUSION 30 min apres l'ischemie



5.2. Libération de CPK.

5.2.1 Essai piridoxilate 10^{-4} M

Lors de cet essai, la libération de CPK en ischémie a été très importante et tout à fait comparable à celle de la série témoin (83 UI/g sec) en fin d'ischémie. L'essai suivant à 10^{-3} M a conduit à une libération enzymatique plus faible ; c'est pourquoi, nous avons choisi d'étudier ce produit à cette concentration.

5.2.2 Essais piridoxilate 10^{-3} M : tableaux 45-46

5.2.2.1. Les 30 dernières minutes de stabilisation.

On observe une libération de 1,81 UI/g sec, cette diminution est faiblement significative ($p < 10$ %) par rapport aux témoins (2,61 UI/g sec).

5.2.2.2. L'ischémie.

Dès la 15^{ème} minute de l'ischémie, la libération de CPK est légèrement plus faible que dans la série témoin ($p < 10$ %).

Cette diminution devient très significative dès la 30^{ème} minute d'ischémie ($p < 2$ %). Le seuil de signification s'accroît ($p < 1$ %) à la 60^{ème} minute et se maintient jusqu'à l'issue de l'ischémie.

A l'issue de l'ischémie, la libération de CPK est de 28 UI/g sec contre 79,84 UI/g sec dans la série témoin.

5.2.2.3. La reperfusion.

La libération des CPK est moindre que dans la série témoin (12,88 UI/g sec contre 28,16 UI/g sec) mais les résultats dispersés des 2 séries donnent un faible coefficient de signification : $p < 10$ %.

A l'issue des 30 minutes de reperfusion, la libération de CPK est légèrement supérieure à celle des 30 minutes d'ischémie précédentes (12,60 UI/g sec contre 10,40 UI/g sec).

	TEMOINS (n = 10)		PIRIDOXILATE 10 ⁻³ M (n = 9)	
<u>Contrôle</u>	\bar{M}	s \bar{d}	\bar{M}	s \bar{d}
<u>150 min → 180 min</u>	2,61	0,48	1,81	0,40
<u>Ischémie</u>				
15 min	1,55	0,44	0,68	0,15
30 min	7,07	1,46	2,57	0,63
45 min	15,13	3,29	5,80	1,31
60 min	26,21	4,74	9,16	1,85
75 min	40,40	5,73	13,26	2,43
90 min	53,03	6,25	18,15	3,03
105 min	68,68	8,74	23,37	3,58
120 min	79,84	10,30	28,51	4,20
<u>Reperfusion</u>				
15 min	12,97	3,49	6,18	1,73
30 min	28,16	9,10	12,89	4,81

TABLEAU 45

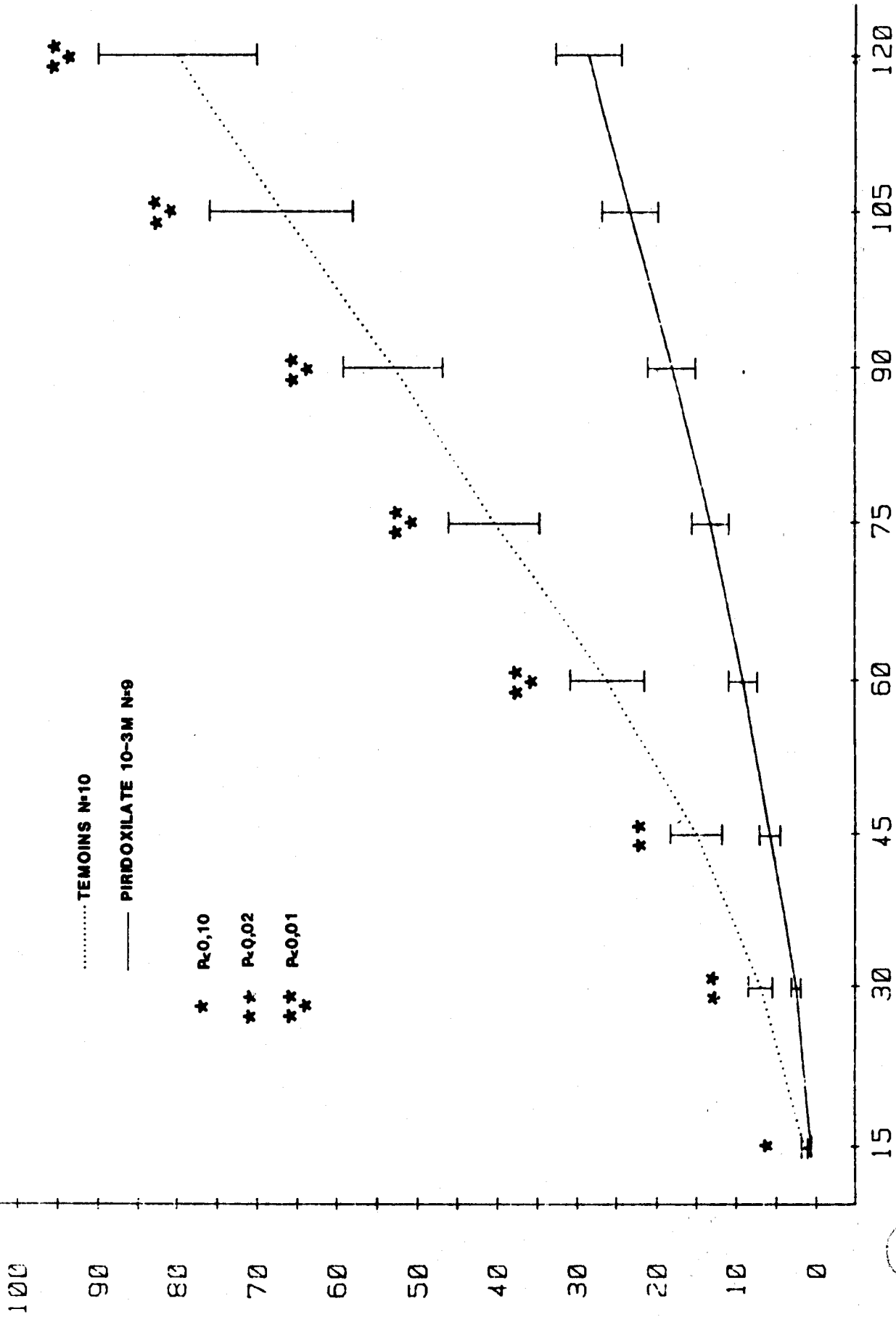
LIBERATION DE CPK. EFFECTIF CUMULE

UI/gramme de tissu sec

n = nombre d'essais
 \bar{M} = moyenne
s \bar{d} = erreur standard à la moyenne



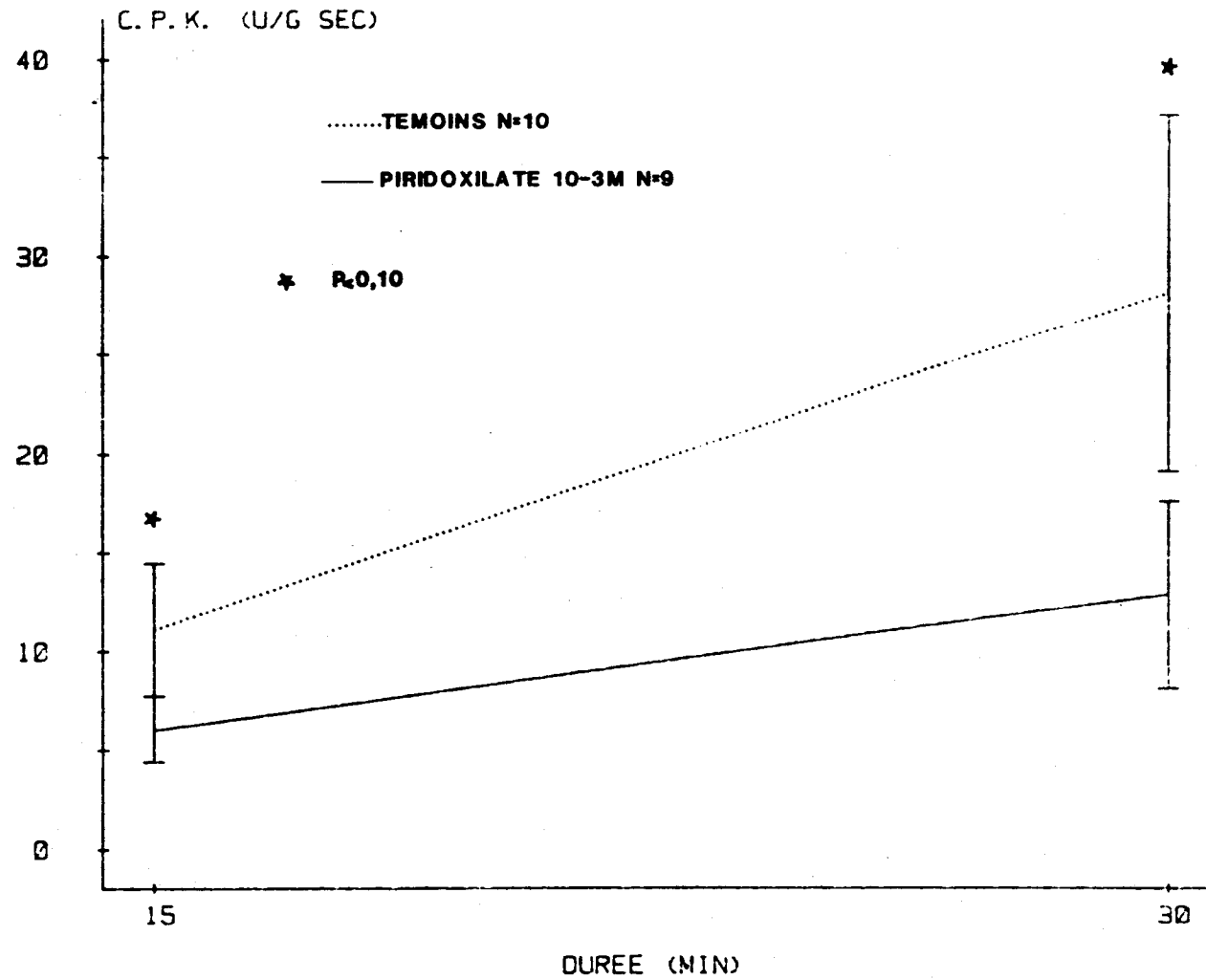
C.P.K. (U/G SEC)



ISCHEMIE

Libération de C.P.K.

tableau 46



REPERFUSION

Libération de C.P.K.

tableau 46bis



Le piridoxilate à très forte concentration 10^{-3} M diminue la fuite de CPK de cellules cardiaques soumises à une "ischémie" in vitro.

5.3. Discussion partielle.

La piridoxilate (10^{-3} M) allonge de façon très significative ($p < 1 \%$) la durée des potentiels d'action témoins ; GUITIENNE B et coll. (1973) ont trouvé un tel allongement sur des potentiels d'action de coeur de rat. Nous observons qu'il allonge davantage la durée des potentiels d'action au niveau du plateau calcique : + 42,6 msec à DPA_{50} contre + 29 msec à DPA_{90} .

A cette concentration, il protège les cellules pendant l'"ischémie". Il prolonge la persistance de la réponse électrique de près de 20 minutes, en maintenant davantage la réponse 1/1 (+ 17 minutes) que la réponse décrémenteielle (+ 8 minutes). Pendant cet épisode, il limite considérablement la fuite de CPK ($p < 1 \%$ à la fin de l'"ischémie"). Le piridoxilate limite également la fuite enzymatique pendant la reperfusion et améliore la fréquence et la qualité de la récupération électrique. En effet, 4 fois sur 9, les préparations récupèrent des potentiels d'action qui présentent un plateau calcique.

Ces résultats sont du même ordre que ceux enregistrés par DUCHENE-MARULLAS et coll. (1968) et FOURNEAU et coll. (1970, 1974).

Selon VANDOR S.L. et TOLBERT N.E. (1970) le piridoxilate réanime la glycolyse anaérobie en augmentant la quantité de NAD utilisable, et selon LABORIT H. et coll. (1971) il agirait au niveau de la membrane du fait de localisation de la glyoxylate réductase. Ce schéma métabolique expliquerait les résultats que nous avons obtenus.

Il expliquerait d'une part, l'allongement au plateau calcique, en aérobiose, des potentiels d'action. En effet, le nombre de canaux Ca^{++}/Na^{+} est contrôlé par la phosphorylation de sites spécifiques de la membrane par l'AMP cyclique (SCHNEIDER J.A. et SPERELAKIS N., 1975 ; REUTER H. et SCHOLZ H., 1977), et bien que le piridoxilate diminue l'entrée de glucose dans la cellule en aérobiose (LABORIT H. et coll., 1971) il est possible qu'il augmente la quantité d'ATP produit par glycolyse et on sait que cet ATP glycolytique est associé à la production de potentiels d'action (MC DONALD TF et coll., 1971).

D'autre part, la réanimation de la glycolyse au niveau membranaire en "ischémie" prolongerait la persistance de l'activité électrique en permettant la synthèse de cet ATP d'origine glycolytique qui est nécessaire au développement du potentiel d'action (MC DONALD TF et coll., 1971). Nous savons également que cet ATP particulier réduit la fuite de LDH en ischémie (BRICKNEL O.L. et OPIE H.L., 1978).

La limitation de la fuite de CPK et le retour d'une activité électrique significative pendant la reperfusion seraient donc le signe de la préservation de l'intégrité structurale membranaire pendant l'ischémie.

Les résultats que nous obtenons avec le piridoxilate ne sont pas en contradiction avec les résultats des différents auteurs et les propriétés métaboliques de ce produit expliquent ses effets "protecteurs".

Malheureusement, les concentrations nécessaires pour observer cette protection sont nettement supérieures aux concentrations thérapeutiques, mais il est intéressant de noter que les concentrations efficaces (10^3 M) sont du même ordre que les concentrations des substrats métaboliques plasmatiques (la glycémie physiologique est à 5,5 mM). Ce produit agit plus comme un substrat métabolique que comme une substance pharmacologique classique.

VII - DISCUSSION

Cette étude avait deux objectifs. Nous avons décidé de tester la réactivité du modèle "d'ischémie" myocardique in vitro dont nous disposons vis à vis de deux classes pharmacologiques (inhibiteurs des récepteurs béta-adrénergiques, et inhibiteurs du canal lent) dont on sait qu'elles limitent dans certaines conditions expérimentales et cliniques, l'étendue des nécroses ischémiques. En corrolaire, si nous mettions en évidence une action "cardioprotectrice" sur ce modèle, nous pensions pouvoir conclure à un effet directement "cytoprotecteur", puisque la préparation était isolée de son environnement physiologique ; on sait le rôle tenu par les régulations adrénégiques et cholinergiques dans ce système. Dans nos conditions (tissu isolé in vitro), nos préparations ne subissent de modifications ni de rythme, ni de vasomotricité (coronaire, pré-charge, post-charge). Le propranolol et à moindre degré le vérapamil exercent des actions sur le système nerveux négatif. L'un comme l'autre présentent des activités vaso-motrices. Il est bien clair que notre modèle ne prendra pas en compte ces effets. Par contre, l'influence inotrope négative du diltiazem et du vérapamil peut s'exprimer.

Dans notre travail, le propranolol ne se montre pas capable de protéger les cellules ischémiées, si on suit la libération de C.P.K. comme un indice de souffrance cellulaire. Ce résultat s'explique vraisemblablement par nos conditions expérimentales et étayent le rôle essentiel des effets indirects de cette substance qui se traduit chez l'animal entier et en clinique par une diminution de la consommation d'oxygène du myocarde.

Par contre, les inhibiteurs du canal lent diminuent la fuite enzymatique in vitro, ils protègent donc directement le myocarde ischémié. Il faut à ce sujet comparer nos résultats à ceux de HIGGIN T.J.C. et coll. (1981) (cultures de myocytes de rats) qui dans des conditions qui elles aussi suppriment les effets indirects mettent en évidence un effet cardioprotecteur net (en tenant compte du fait que ces auteurs ne soumettent leurs préparations qu'à une simple hypoxie).

Notre travail ne nous permet pas de déterminer l'origine de la protection que nous observons : les inhibiteurs du canal lent peuvent dans ce modèle diminuer l'inotropisme (que nous n'avons pas mesuré) ; il nous est impossible d'affirmer que cette diminution protège les préparations ischémiées ou si un mécanisme "cytoprotecteur" indépendant de cet effet inotrope négatif intervient. Il faut rappeler cependant que lors d'ischémie, qu'il s'agisse d'un coeur in situ, entier ou d'un fragment in vitro, la fonction inotrope est très précocément altérée (angiocardiographie biplane, épreuve au thallium...) et disparaît bien avant les activités électriques.

La persistance de l'activité électrique régulière est très brève dans ce modèle (séries témoins, propranolol, inhibiteurs du canal lent), en particulier dans la série propranolol où elle cesse avant la 5ème minute "d'ischémie".

Si l'évolution mécanique varie dans le même sens, c'est dans le groupe propranolol qu'elle a dû cesser le plus précocément : cependant la fuite d'enzyme n'est pas significativement ralentie dans ce groupe par rapport au groupe témoin.

Les inhibiteurs du canal lent manifestent clairement dans ces conditions expérimentales des effets ralentisseurs de la fuite enzymatique ; la dépression du canal lent joue certainement un rôle essentiel, mais le mécanisme de cytoprotection n'est pas actuellement clairement établi : une diminution de l'inotropisme, une action sur le métabolisme mitochondrial, un maintien de l'intégrité membranaire, un rendement métabolique amélioré ont été proposés, trouvant sans doute leur support commun dans une conservation de l'homéostasie calcique intracellulaire. On sait en effet que l'augmentation de la concentration intracellulaire de cet ion est toxique pour la cellule. A même concentration, le vérapamil "triangularise" plus le potentiel d'action que le diltiazem, c'est-à-dire qu'il déprime plus la portion du potentiel d'action correspondant au courant entrant calcico-sodique. D'autre part, à la concentration de 10^{-6} et 10^{-5} M, le vérapamil est dépresseur du courant sodique rapide dépolarisant. On connaît la grande sensibilité des cellules ischémisées vis-à-vis de cette propriété (DURIEZ P., 1981). Elle explique vraisemblablement que l'activité électrique régulière ait disparu beaucoup plus précocément dans le groupe vérapamil (6 minutes) que dans le groupe témoin (12 minutes). Malgré ces propriétés électrophysiologiques différentes, les deux inhibiteurs du canal lent agissent d'une façon voisine, durant l'ischémie, sur la libération de C.P.K.. En particulier, la disparition rapide de l'excitabilité ne semble pas jouer un rôle essentiel puisque le propranolol, qui entraîne une inactivité électrique au moins aussi précoce n'a pas influencé la fuite enzymatique.

Un dernier élément concernant la fuite enzymatique mérite d'être rapporté : la différence de celle-ci lors de la "reperfusion", selon que la préparation est superfusée par le diltiazem ou le vérapamil. Seule cette dernière substance limite la vague

de libération de C.P.K. observée. Il faut souligner que d'autres auteurs, dans des conditions expérimentales différentes ont pu mettre en évidence un effet du diltiazem lors de la phase de reperfusion (WEISHAAR R.E. et BING R.J., 1980). Il a été établi que les désordres de cette période sont d'autant plus marqués que la préparation a subi plus de dégradation durant la phase d'ischémie précédente. Il ne nous a cependant pas été possible de mettre en évidence pour les concentration de 10^{-5} M d'inhibiteurs du canal lent de différences significatives ni sur la libération de C.P.K., ni sur le comportement électrique. Nous n'avons donc pas d'explication à proposer pour la différence observée lors de la phase de "reperfusion".

Qu'il s'agisse des séries témoin, propranolol et inhibiteurs du canal lent, la récupération électrique est de mauvaise qualité. Les activités observées sont de courte durée mais le potentiel de repos, la vitesse de dépolarisation rejoignent les chiffres précédant "l'ischémie" ; la portion du potentiel d'action dépendante des mouvements calcique transmembranaires voltage-dépendants est par contre très modifiée, quasi absente.

Actuellement, nous sommes dans l'incapacité d'étudier le mécanisme responsable de ce qui semble être une véritable disparition du plateau : surcharge calcique intracellulaire entraînant une diminution marquée du gradient électrochimique ? incapacité de "remettre en route" la phosphorylation des sites membranaires liés à la conductance calcique ? (SCHNEIDER J.A. et SPERELAKIS N., 1975 ; REUTER H. et SCHOLZ H., 1977). D'autre part, le fait que le propranolol, qui a montré une très faible influence sur la libération des C.P.K. permette une reprise de l'activité électrique tout à fait superposable à celle observée avec les inhibiteurs du canal lent et très différente de la série témoin ne nous permet pas de relier le phénomène électrique au phénomène enzymatique. HAMM C.W. et coll. (1982) dans un travail sur le métoprolol sont conduits à utiliser une concentration de 10^{-4} M pour obtenir un effet significatif qui reste cependant inférieur à celui observé avec du diltiazem 10^{-7} M.

Les résultats favorables que nous avons enregistrés avec des doses élevées de piridoxilate (limitation de la fuite enzymatique en ischémie et à la reperfusion, persistance de l'activité électrique durant "l'ischémie" et récupération très fréquente et constituée d'activité électrique de qualité très supérieure à celle des autres lots, véritables potentiels d'action) traduisent un effet protecteur net. Nous avons discuté précédemment des propriétés du piridoxilate qui pourraient être le support de ces résultats.

Il s'agit d'une technique "phénoménologique" et non explicative ; de ce fait, son application immédiate serait le dépistage de la propriété protectrice vis-à-vis de l'ischémie (screening). Nous rappelons que seules les actions directes des médicaments peuvent s'y exprimer.

Il faut souligner que nous avons, dans ce travail, placé les préparations dans des situations "dramatiques" non pas tant en ce qui concerne la composition du liquide dit "ischémique", ni la valeur de la pO_2 mais en ce qui concerne la durée de l'exposition (120 minutes) à ces conditions.

Nous nous proposons après ce travail préliminaire d'étudier divers médicaments sur des préparations de ventricule gauche de cobaye durant :

- 1) des ischémies courtes (10 à 30 minutes),
- 2) des ischémies courtes et répétées,
- 3) des ischémies sous catécholamines,
- 4) en associant la mesure de l'activité mécanique.

Ce travail expérimental nous était cependant nécessaire pour obtenir, malgré la taille limitée de la préparation, des concentrations en enzymes permettant des dosages fiables et répétés (plus de 900 dosages ont été effectués lors de la mise au point de ce modèle et pour la réalisation de cette étude) et obtenir des données démonstratives concernant l'activité électrique.

BIBLIOGRAPHIE

1 - ABIDO Y. and SAKAI K.

Increase of myocardial pH by l and d propranolol during ischemie of the heart in dogs.

Eur. J. Pharmacol. 64 : 239-247, 1980.

2 - ALLEN J.D., BRENNAN F.J. and WITT A.L.

Actions of lidocaine on transmembrane potentials of subendocardial Purkinje fibers surviving in infarcted canine hearts.

Circ. Res. 43 : 470-481, 1978.

3 - AMLIE J.P., REFSUM H. and LANDMARK K.H.

Prolonged ventricular refractoriness and action potential duration after β - adrenoceptor blockade in dog heart in situ.

J. Cardiovasc. Pharmacol. 4 : 157-162, 1982.

4 - ANDRIEU J.L., LIEVRE M., CHAH Q.T. and FAUCON G.

Effects of propranolol on the biochemical modifications induced by a β - adrenergic drug in ischemic hearts.

Biochem. Pharmacol. 29 : 19, 2687-2690, 1980.

5 - ANTMAN E.

Nifedipine therapy for coronary spasm : Collective clinical experience in the United States.

Circulation 60 : 4, Pt. 2, 76, 1979.

6 - ARAKI H. and LEFER A.M.

Role of prostacyclin in the preservation of ischemic myocardial tissue in the perfused cat heart.

Circ. Res. 47 : 757-763, 1980.

7 - ARMIN T.V. and WELMAN E.

Propranolol in ischaemic reperfused rat heart : Dissociation of beta-adrenergic blocking and protective effect.

J. Molec. Cell. Cardiol. 13 :5, 521-524, 1981.

- 8 - ASHRAF M., ONDA M., BENEDICT J.B. and MILLARD R.W.
Prevention of calcium paradox - related myocardial cell injury with diltiazem, a calcium channel blocking agent.
Am. J. Cardiol. 49 : 1675-1681, 1982.
- 9 - BANKA V.S., BODENHEIMER M.M., RAMANATHAN K.B., HERMANN G.A. and HELFANT R.H.
Progressive transmural electrocardiographic, myocardial potassium ion/sodium ion ratio and ultrastructural changes as a function of time after acute coronary occlusion.
Am. J. Cardiol. 42 : 429-443, 1978.
- 10 - BARRET A.M. and CULLUM V.A.
The biological properties of the optical isomers of propranolol and their effects on cardiac arrhythmias.
Br. J. Pharmacol. 34 : 43-55, 1968.
- 11 - BAUMANN G., RIESS G., FELIX S.B., ERHARDT W.D., LOHER V., LUDWIG L. and BLOMER H.
Catecholamines and β - Adrenergic receptors in the non-ischemic myocardium after coronary occlusion.
Catecholamines and the heart. Recent advances in experimental and clinical research.
Edited by : Delius W., Gerlach E., Grobecker H., Kübler W.
Springer-Verlag Berlin Heidelberg New-York. 1981, p 72.
- 12 - BECKER L.C., FERREIRA R. and THOMAS M.
Mapping of left ventricular blood flow with radioactive microspheres in experimental coronary artery occlusion.
Cardiovasc. Res. 7 : 391-400, 1973.
- 13 - BERDEAUX A., COUTTE R., GIUDICELLI J.F. and BOISSIER J.R.
Effects of verapamil on regional myocardial blood flow and ST segment. Role of the induced bradycardia.
Eur. J. Pharmacol. 39 : 287-294, 1976.

- 14 - BERG R., KENDALL R.W., DUBOISIN G.E., GANJI J.H., RUDY L.W. and EVERHART F.J.

Acute myocardial infarction. A surgical emergency.
J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 70 : 432-439, 1975.

- 15 - BERSOHN M.M. and SHINE K.L.

Protection of ischemic rabbit hearts by verapamil requires a negative inotropic effect.
Clin. Res. 29 : 2, 177 A, 1981.

- 16 - BERTRAND M.E., DUPUIS B.A., LABLANCHE J.M., TILMANT P.Y. and THIEULEUX F.A.

Coronary hemodynamics following intravenous or intracoronary injection of diltiazem in man.
J. Cardiovasc. Pharmacol. 4 : 695-699, 1982.

- 17 - BORER J.S., REDWOOD D.R., LEVITT B., CAGIN N., BIANCHI C., VALLIN H. and EPSTEIN S.E.

Reduction in myocardial ischemia with nitroglycerin or nitroglycerin + phenylephrine administered during acute myocardial infarction.
N. Engl. J. Med. 293 : 1008-1012, 1975.

- 18 - BOUDOT J.P., CAVERO J. and FEUVRAY D.

Further studies on the effects of diltiazem on the rabbit isolated heart perfused with an oxygenated or a hypoxic solution. Correlation : between ultrastructural and mechanical effects.
Brit. J. Pharmacol. 72 : 1, 190-191, 1981.

- 19 - BOURDILLON P.D. and POOLE-WILSON P.A.

The effects of verapamil, quiescence and cardioplegia on calcium exchange and mechanical function in ischemic rabbit myocardium.
Circ. Res. 50 : 3, 360-368, 1982.

- 20 - BRANCONI J.M., BOWEN W.G., CAIN M.E., GOLDSTEIN R.A., BRODARICK S.A., AMBOS H.D., JAFFE A.S. and ROBERTS R.

The effect of intravenous nitroglycerin on pain and ventricular arrhythmias in patients with acute myocardial infarction.

Clin. Res. 27 : 156 A, 1979.

- 21 - BRAUNWALD E. and MAROKO P.R.

The reduction of infarct size - an idea whose time (for testing) has come.

Circulation 50 : 206-209, 1974.

- 22 - BRAUNWALD E. and MAROKO P.R.

ST segment mapping : realistic and unrealistic expectations.

Circulation 54 : 529-532, 1976.

- 23 - BRAUNWALD E., ROSS J.J. and SONNENBLICK E.H.

Mechanisms of contraction of the normal and failing heart. 2nd ed.

BOSTON : Little Brown, 357-397, 1976.

- 24 - BRICKNELL O.L. and OPIE L.H.

Effects of substrates on tissue metabolic changes in the isolated rat heart during underperfusion and on release of lactate dehydrogenase and arrhythmias during reperfusion.

Circ. Res. 43 : 1, 102-115, 1978.

- 25 - BRICKNELL O.L. and OPIE L.H.

Glycolytic ATP and its production during ischaemia in isolated Langerdorff perfused rat heart.

KOBAYSAKI T., SANOT. and DHALLA N.S. editions *Recent advances in studies on cardiac structure. in studies on cardiac structure and metabolism, Vol. II, Baltimore 1978 University Park Press, p 509-519.*

- 26 - BUCK J.D., WARLTIER D.C., JOLLY S.R., HARDMANN H.F., GROSS G.J.
Importance of heart rate changes in determining the beneficial action of beta blockade on subendocardial blood - flow and contractile function in ischemic myocardium.
Clin. Res. 24 : 4, 610 A, 1979.
- 27 - BULKLEY B.H. and ROBERTS W.C.
Steroid therapy during acute myocardial infarction. A cause of delayed healing and of ventricular aneurysm.
Am. J. Med. 56 : 244-250, 1974.
- 28 - BURMEISTER W.E., REYNOLDS R.D. and LEE R.J.
Limitation of myocardial infarct size by atenolol, nadolol and propranolol in dogs.
Eur. J. Pharmacol. 75 : 7-10, 1981.
- 29 - BURTON K.P., TEMPLETON G.H., HAGLER H.K., WILLERSON J.T. and BUJA L.M.
Effect of glucose availability on functional membrane integrity, ultrastructure and contractile performance following hypoxia and re-oxygenation in isolated feline cardiac muscle.
J. Molec. Cell. Cardiol. 12 : 109-133, 1980.
- 30 - BUSH L.R., HAACK D.W., SHLAFER M., LUCCHESI B.R.
Protective effects of β - adrenergic blockade in isolated ischemic hearts.
Eur. J. Pharmacol. 67 : 2-3, 209-217, 1980.
- 31 - BUSH L.R., LI Y.P., SHLAFER M., JOLLY S.R. and LUCCHESI B.R.
Protective effects of diltiazem during myocardial ischemia in isolated cat hearts.
J. Pharmacol. Exp. Ther. 218 : 653-661, 1981.

- 32 - BUSH L.R., ROMSON J.L., ASH J.L. and LUCCHESI B.R.
Effects of diltiazem on extent of ultimate myocardial injury resulting from temporary coronary artery occlusion in dogs.
J. Cardiovasc. Pharmacol. 4 : 2, 285-296, 1982.
- 33 - CAPONE R.J. and MOST A.S.
Myocardial haemorrhage after coronary reperfusion in pigs.
Am. J. Cardiol. 41 : 259-266, 1975.
- 34 - CARMELIET E. et BOULPAEP E.
Influence du 2-4 dinitrophénol sur la durée du potentiel d'action du muscle ventriculaire de grenouille.
CR. Soc. Biol. (Paris) 151 : 2226-228, 1957.
- 35 - CAUFIELD J. and KLIONSKY B.
Myocardial ischemia and early infarction : an electron microscopic study.
Am. J. Pathol. 35 : 489-501, 1959.
- 36 - CHALLONER D.R. and STEINBERG D.
Oxydative metabolism of myocardium as influenced by fatty acids and epinephrine.
Am. J. Physiol. 211 : 897, 1966.
- 37 - CHESNIAS J.M., CORABOEUF E., SAUVIAT M.P. and VASSAS J.M.
Sensitivity to H, Li, and Mg ions of the slow inward sodium current in frog atrial fibres.
J. Molec. Cell. Cardiol. 7 : 627-642, 1975.
- 38 - CHARIELLO M., RIBEIRO L.G.T., DAVIS M.D. and MAROKO P.R.
"Reverse coronary steal" induced by coronary vasoconstriction following coronary artery occlusion in dogs.
Circulation 56 : 809-815, 1977.

39 - CHIONG M.A. and STEFANISZYN H.

Metabolism of the perfused rabbit heart. IV. Effects of β - adrenergic blockade on enzyme release and late energy stores during postanoxic reoxygenation.

Can. J. Physiol. Pharmacol. 58 : 5, 459-462, 1980.

40 - CLARK R.E., CHRISTLIEB I.Y. and HENRY P.D.

Nifedipine : a myocardial protective agent.

Am. J. Cardiol. 44 : 825-831, 1979.

41 - COBBE S.M. and POOLE-WILSON P.A.

Myocardial tissue pH in respiratory acidosis and ischemia.

J. Molec. Cell. Cardiol. 11 : supp 2-7, 1979.

42 - COBBE S.M. and POOLE-WILSON P.A.

The time course of onset and severity of acidosis in myocardial ischemia.

J. Molec. Cell. Cardiol. 12 : 745-760, 1980.

43 - COHEN L., GILULA Z., MEIER P., LAZARON B. and HERBSTAM D.

Competitive effects of verapamil and calcium ion as regulators of myocardial enzyme leakage.

J. Cardiovasc. Pharmacol. 3 : 581-597, 1981.

44 - COME P.C., FLAHERTY J.T., BAIRD M.G., ROULEAU J.R., WEISFELDT M.L., GREENE H.L. BECKER L. and PITT B.

Reversal by phenylephrine of the beneficial effects of intravenous nitroglycerine in patients with acute myocardial infarction.

N. Engl. J. Med. 293 : 1003-1007, 1975.

45 - CORABOEUF E. et OTSUKA M.

L'action des solutions hyposodiques sur les potentiels cellulaires de tissu cardiaque de mammifères.

C.R. Acad. Sci. 243 : 441-444, 1956.

46 - CORABOEUF E., GARGOUIL Y.M., LAPLAUD J. et DESPLACES A.

Action de l'anoxie sur les potentiels électriques des cellules cardiaques de mammifères actives et inertes (tissu ventriculaire isolé de cobaye)

C.R. Acad. Sci. (Paris) 246 : 3100, 1958.

47 - CORABOEUF E., DEROUBAIX E. and COULOMBE A.

Acidose - induced abnormal repolarization and repetitive activity in isolated dog Purkinje fibers.

J. Physiol. (Paris) 76 : 97-106, 1980.

48 - CORR P.B., WITKOWSKI F.X. and SOBEL B.E.

Mechanisms contributing to malignant dysrhythmias induced by ischemia in the cat.

J. Clin. Invest. 61 : 109-119, 1978.

49 - COSTANTINI C., CORDAY E., LANG T., MEERBAUM S., BRASCH J., KAPLAN L., RUBINS S., GOLD H. and OSHER J.

Revascularization after 3 h of coronary arterial occlusion. Effects on regional cardiac metabolic function and infarct size.

Am. J. Cardiol. 36 : 368-384, 1975.

50 - COULOMBE A., CORABOEUF E. and DEROUBAIX E.

Computer simulation of acidosis - induced abnormal repolarization and repetitive activity in dog Purkinje fibers.

J. Physiol (Paris) 76 : 107-112, 1980.

51 - COULOMBE A., CORABOEUF E. et DEROUBAIX E.

Accumulation et déplétion du K^+ dans les espaces intercellulaires des fibres de Purkinje.

Reconstitution du potentiel d'action incluant le courant pacemaker if.

Communication - Colloque D.G.R.S.T. Coeur et Vaisseaux - 19 - 20 Mars 1981.

LIMAIL - BREVANNES.

52 - COWAN J.C. and VAUGHAN-WILLIAMS E.M.

The effects of palmitate on intracellular potentials recorded from Langendorff - perfused guinea-pig hearts in normoxia and hypoxia and during perfusion at reduced rate flow.

J. Molec. Cell. Cardiol. 9 : 327-342, 1977.

53 - COWELL J.W., POOL P.E. and BRAUNWALD E.

Effects of acutely induced ischemic heart failure on myocardial high energy phosphate stores.

Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 124 : 126-131, 1967.

54 - CRASS M.F., MC CASKILL E.S., SHIPP J.C.

Glucose-free fatty acid interactions in the working heart.

J. Appl. Physiol. 29 : 87-91, 1970.

55 - CZARNECKA M., LEWARTOWSKI B. and PROKOPCZUK A.

Intracellular recording from the in situ working dog heart in physiological conditions and during acute ischemia and fibrillation.

Acta. Physiol. Pol. 24 : 2, 331-337, 1973.

56 - DARSEE J.R., KLONER R.A. and BRAUNWALD E.

Lateral and epicardial ischaemic border zone salvage by flurbi-profen using an in-vivo area-at-risk method.

Fed. Proc. 39 : 1112, 1980.

57 - DARSEE J.R., KLONER R.A. and BRAUNWALD E.

Intervention producing early recovery of segmental function in salvaged ischemic myocardium following experimental coronary occlusion.

Clin. Res. 28 : 163 A, 1980.

58 - DAVENPORT N., GOLDSTEIN R.E., BOLLI R., LEON M., AAMODT R. and EPSTEIN S.E.

Dose dependent effects of verapamil on coronary and systemic hemodynamics.

Clin. Res. 29 : 2, 185 A, 1981.

59 - DEBAISIEUX J.C., THEROUX P., WATERS D.D., MIZGALA H.F. and BOURASSA M.G.

Hemodynamic effects of nifedipine and diltiazem after an acute myocardial infarction.

Circulation 60 : 4, Pt 2, 82, 1979.

60 - DEBOER L.W.V.

Autoradiographic method for measuring the ischemic myocardium at risk : Effects of verapamil on infarct size after experimental coronary artery occlusion.

Proc. Natl. Acad. Sci. 77 : 10, 6119-6123, 1980.

61 - DE LEIRIS J., OPIE L.H. and LUBBE W.F.

Effects of free fatty acid and enzyme release in experimental glucose on myocardial infarction.

Nature 253, February 27, 746-747, 1975.

62- DERSHAM G.H. and HAM J.

Actions of verapamil on Purkinje fibers from normal and infarcted heart tissues.

J. Pharmacol. Exp. Ther. 216 : 2, 261-264, 1981.

63 - DIETZ R., SCHOMIG A., STRASSER R. and KUBLER W.

Catecholamines in myocardial hypoxia and ischemia.

Catecholamines and the heart

Recent advances in experimental and Clinical research.

Edited by : Delius W., Gerlarch E., Grobecker H., Kübler W.

Springer-Verlag. Berlin - Heidelberg - New-York, 1981, p 201.

64 - DOWNAR E., JANSE M.J. and DURRER D.

The effect of acute coronary artery occlusion on subepicardial transmembrane potentials in the intact porcine heart.

Circulation 56 : 2, 217-224, 1977.

65 - DUCHENE-MARULLAZ P., COSNER D., PERRIERE J.P. et HACHE J.

Tentatives d'évaluation du pouvoir anti-anoxique du dipyridamole et du piridoxilate.

C.R. Soc. Biol. 162 : 438, 1968.

66 - DUPUIS B.A.

Une nouvelle technique d'étude expérimentale des arythmies ventriculaires. Application à l'étude de quelques antiarythmiques. Thèse pour le Doctorat en Biologie Humaine.

(Mention Pharmacologie), Faculté de Médecine de Nancy, 1976.

67 - DUPUIS B.A. et VINCENT A.C.

Modèles d'arythmies expérimentales. Etude critique des corrélations avec les arythmies observées en Clinique Humaine.

Arch. Mal. Coeur 74ème année, n° spécial, 17-27, 1981.

68 - DURIEZ P.

Sensibilité des cellules myocardiques déprimées par une situation proche de l'ischémie, vis-à-vis de médicaments antiarythmiques - étude électrophysiologique in vitro.

D.E.A. Biologie et Physiologie expérimentales et appliquées - Université des Sciences et Techniques de LILLE I. 1981.

- 69 - EDOUTE Y., SANAN D., LOCHNER A., GRANEY D. and KOTZE J.C.N.
Effects of propranolol on myocardial ultrastructure, mitochondrial function and high energy phosphates of isolated working rat hearts with coronary artery ligation.
J. Molec. Cell. Cardiol. 13 : 7, 619-639, 1981.
- 70 - EL SHERIF N., SHERLAG B.J. and LAZZARA R.
Re-entrant ventricular arrhythmias in the late myocardial infarction period - 4 -
Mechanism of action of lidocaine
Circulation 56 : 395-420, 1977.
- 71 - EL SHERIF N. and LAZZARA R.
Re-entrant ventricular arrhythmias in the late myocardial infarction period -5-
Mechanism of action of diphenylhydantoin.
Circulation 57 : N° 3, 465-472, 1978.
- 72 - EPSTEIN S.E., KENT K.M., GOLDSTEIN R.E., BORER J.S. and REDWOOD D.R.
Reduction of ischemic injury by nitroglycerin during acute myocardial infarction.
N. Engl. J. Med. 292 : 29-35, 1975.
- 73 - FACTOR S.M., SONNENBLICK E.H. and KIRK E.S.
The histologic border zone of acute myocardial infarction - islands or peninsulas ?
Am. J. Pathol. 92 : 111-124, 1978.
- 74 - FERLINZ J., TURBOW M.E. and ARONOW W.S.
Antianginal and myocardial metabolic properties of verapamil in coronary disease.
Circulation 60 : 4, P 2, 83, 1979.

- 75 - FERRANS V.J., HIBBS R.G., WALSH J.J. and BURCH G.E.
Histochemical and electron microscopical studies on the cardiac
necroses produced by sympathomimetic agents.
An. Ac. Sc. (New-York) 156 : 303-332, 1969.
- 76 - FISHBEIN M.C., HARE C., GISSEN S., MACLEAN D. and MAROKO .P.R.
Histochemical identification and quantification of border zones
during the evolution of myocardial infarction in the rat.
Circulation 56 : III, III-71, 1977.
- 77 - FIXLER D.E., BUJA M., WHEELER J.M. and WILLERSON J.T.
Influence of mannitol on maintaining coronary flow and salva-
ging myocardium during prolonged coronary artery ligation.
Circulation 56 : 340-346, 1977.
- 78 - FLECKENSTEIN A.
Metabolic factors in the development of myocardial necrosis and
micro-infarcts.
Triangle 14 : 27-36, 1975.
- 79 - FOURNEAU J.P.
Genèse d'un médicament : le piridoxilate.
Bull. Chim. Farm. 109 : 702, 1970.
- 80 - FOURNEAU J.P., DAVY M., CLEMENT M. et LAMARCHE M.
Etude de quelques effets pharmacodynamiques du piridoxilate.
J. de Pharmacol. (Paris) 1 : 149, 1974.
- 81 - FOURNEAU J.P., DAVY M., CLEMENT M., RANSON M., DAMOIS M. and LAMARCHE
M.
Studies on the effects of piridoxilate, a glyoxylic acid deri-
vative, on the mammalian system, heart and muscle under normal
or deficient oxygen supply.
Arzneimittel - Forsch 24 : 27, 1974.

82 - FOZZARD H.A. and DAS GUPTA P.S.

ST segment potentials and mappings. Theory and experiments.
Circulation 54 : 533-537, 1976.

83 - FRIEDMAN P.L., FENOGLIO J.J. and WIT A.L.

The time course for reversal of electrophysiological and ultra-structural abnormalities in subendocardial Purkinje fibers surviving extensive myocardial infarction in dogs.
Cir. Res. 36 : 127, 1975.

84 - FUKUYAMA T. and ROBERTS R.

Lack of effect of nitroglycerin on morphometrically and enzymatically estimated infarct size.
Circulation 57 and 58 : II, II-99, 1978.

85 - GAUDUEL Y., KARAGUEUZIAN H.S. and DE LEIRIS J.

Deleterious effects of endogenous catecholamines on hypoxic myocardial cells following re-oxygenation.
J. Molec. Cell. Cardiol. 11 : 717-731, 1979.

86 - GAUTIER P.

Mécanismes d'action des substances antiarythmiques - étude électrophysiologique cardiaque de l'automatisme, de la conduction et des transports actifs.
Thèse, Université de Paris-Sud - Centre d'Orsay, 1980.

87 - GEARY G.G., SMITH G.T., SUEHIRO G.T. and MC NAMARA J.J.

Failure of nifedipine therapy to reduce myocardial infarct size in the baboon.
Am. J. Cardiol. 49 : 331-338, 1982.

- 88 - GINKS W.R., SYBERS H.D., MAROKO P.R., COWELL J.W., SOBEL B.E. and ROSS. J.Jr.

Coronary artery reperfusion II - Reduction of myocardial infarct size at one week after coronary occlusion.

J. Clin. Invest. 51, 2717, 1972.

- 89 - GORCZYNSKI R.J., DICKERSON D.D., MATHEWS M.P. and LEE R.J.

Effects of propranolol on myocardial infarct size with and without coronary artery reperfusion in the dog.

Cardiovasc. Res. 15 : 7, 411-420, 1981.

- 90 - GREENSPAN A.M. and MORAD M.

Electromechanical effects of diltiazem in heart muscle.

Circulation 62 : 4, Pt 2, 283, 1980.

- 91 - GUILBAULT P.

Action des ions sur l'activité électrique et l'activité mécanique du coeur de Mammifère.

Thèse. Faculté des Sciences d'Orsay de l'Université de Paris, 1966.

- 92 - GUITTIENNE B., SCHWANDER J., DUVAL C. et ARNOULD P.

Action du glyoxylate sur les potentiels transmembranaires myocardiques en normoxie et en anoxie.

C.R. Soc. Biol. 167, n°3-4, 499-502, 1973.

- 93 - HAMM C.W., THANDROYEN F.T. and OPIE L.H.

Protective effects on isolated hearts with developing infarction : slow channel blockade by diltiazem versus beta-adrenoceptor antagonism by metoprolol.

Am. J. Cardiol. 50 : 4, 857-863, 1982.

- 94 - HARDEN W., SIMSON M., BARLOW C., SLAGLE B., HARKEN A.
Pharmacologic modification of experimental regional ischemia in isolated rabbit hearts.
Circulation 60 : 4, pt 2, 97, 1979.
- 95 - HARRIS A.S.
Defayed development of ventricular ectopic rhythms following experimental coronary occlusion. *Circulation* 1 : 1318, 1950.
- 96 - HATTORI S., WEINTRAUB W.S., AGARWAL J.B., BODENHEIMER M.M., BANKA V.S. and HELFANT R.H.
Contrasting effects of nifedipine and verapamil on ischemic myocardial contraction and regional coronary blood flow.
Clin. Res. 29 : 2, 204 A, 1981.
- 97 - HEARSE D.J., HUMPHREY S.M. and CHAIN E.B.
Abrupt reoxygenation of the anoxic potassium - arested perfused rat heart. A study of myocardial enzyme release.
J. Molec. Cell. Cardiol. 5 : 395, 1973.
- 98 - HEARSE D.J. and HUMPHREY S.M.
Enzyme release during myocardial anoxia : a study of metabolic protection.
J. Molec. Cell. Cardiol. 7 : 463, 1975.
- 99 - HEARSE D.J., OPIE L.H., KATZEFF I.E., LUBBE W.F., VAN DER WERFF T.J., PEISACH M. and BOULLE G.
Characterisation of the "border zone" in acute regional ischemia in the dog.
Am. J. Cardiol. 40 : 716-726, 1977.

- 100 - HEARSE D.J., HUMPHREY S.M. and BULLOCK G.R.
The oxygen paradox and the calcium paradox : Two facets of the same problem ?
J. Molec. Cell. Cardiol. 10 : 641-668, 1978.
- 101 - HEARSE D.J.
Oxygen deprivation and early myocardial contractile failure. A reassessment of the possible role of adenosine triphosphate.
Am. J. Cardiol. 44 : 1115-1121, 1979.
- 102 - HEARSE D.J., BAKER J.E. and HUMPHREY S.M.
Verapamil and the calcium paradox.
J. Molec. Cell. Cardiol. 12 : 7, 733-739, 1980.
- 103 - HEARSE D.J. and BAKER J.E.
Verapamil and the calcium paradox : a reaffirmation.
J. Molec. Cell. Cardiol. 13 : 1087-1090, 1981.
- 104 - HENG M.K., NORRIS R.M., PETER T., NISKET H.D. and SINGH B.N.
The effects of glucose - insuline - potassium on experimental myocardial infarction in the dog.
Cardiovasc. Res. 12 : 429-435, 1978.
- 105 - HERDSON P.B., SOMMERS H.B. and JENNINGS R.B.
A comparative study of the fine structure of normal and ischemic dog myocardium with special reference to early changes following temporary occlusion of a coronary artery.
Am. J. Pathol. 46 : 367-369, 1965.
- 106 - HIDAKA H., YAMAK I., TOTSUKA T., ASANO M.
Selective inhibitors of ca^{++} binding modulator of phosphodiesterase produce vascular relaxation and inhibit actin myosin interaction.
Mol. Pharmacol. 15 : 49-59, 1979.

107 - HIGGINS T.J.C., ALLSOPP D. and BAILEY J.P.

The effect of extracellular calcium concentration and Ca - antagonist drugs on enzyme release and lactate production by anoxic heart cell cultures.

J. Molec. Cell. Cardiol. 12 : 909-927, 1980.

108 - HIGGINS T.J.C., BAILEY P.J., ALLSOPP D. and IMHOF D.A.

Cultured neonate rat myocytes as a model for the study of myocardial ischaemic necrosis.

J. Pharm. Pharmacol. 33 : 10, 644-649, 1981.

109 - HIGGINS A.J., GARDNER D.G. and GREGORY M.H.

Protection by nifedipine and diltiazem against microspheres induced ischaemia in working rat hearts.

J. Molec. Cell. Cardiol. 13 : 1, 39, 1981.

110 - HILL J.L. and GETTES L.S.

Changes in local myocardial potassium activity during acute myocardial ischemia.

Dis. Abstr. - Int. B40 : 615, 1978.

111 - HILLIS L.D., FISHBEIN M.C., BRAUNWALD E. and MAROKO P.R.

The influence of the time interval between coronary artery occlusion and the administration of hyaluronidase on salvage of ischemic myocardium in dogs.

Circ. Res. 41 : 26-31, 1977.

112 - HILLIS L.D., KHURI S.F., BRAUNWALD E. and MAROKO P.R.

The role of propranolol's negative chronotropic effect on protection of the ischaemic myocardium.

Pharmacology 19 : 202-208, 1979.

- 113 - HILLIS L.D., KHURI S.F., BRAUNWALD E., KLONER R.A., TOW D., BARSAMIAN E. and MAROKO P.R.

Assessment of the efficacy of interventions to limit ischaemic injury by direct measurement of intramural carbon dioxide tension after coronary artery occlusion in the dog.

J. Clin. Invest. 63 : 99-107, 1979.

- 114 - HIRZEL H.O. and KIRK E.S.

The effect of mannitol following permanent coronary occlusion.

Circulation 56 : 1006-1015, 1977.

- 115 - HIRZEL H.O. SONNENBLICK E.H. and KIRK E.S.

Absence of a lateral border zone of intermediate creatine phosphokinase depletion surrounding a central infarct 24 h after acute coronary occlusion in the dog.

Cir. Res. 41 : 673-683, 1977.

- 116 - HJALMARSON A., ARIENIEGO R. and HERLITZ J.

Limitation of infarct size in man by the beta 1 - blocker metoprolol (Abstr.)

Circulation 60 : II, 164, 1979.

- 117 - HJALMARSON A.

Myocardial infarction and β - adrenoceptor blockade.

Catecholamines and the heart. Recent advances in experimental and clinical research.

Edited by : Delius W., Gerlach E., Grobecker H., Kübler W., Springer-Verlag - Berlin Heidelberg New-York, 1981, p. 289.

- 118 - HODGKIN A.L. and HUXLEY A.F.

The dual effect of membrane potential on sodium conductance in the giant axon of loligo.

J. Physiol. 116 : 497, 1952 (1).

- 119 - HODGKIN A.L. HUXLEY A.F. and KATZ B. (1952)
Measurement of current voltage relations in the membrane of the
giant axon of loligo.
J. Physiol. 116 : 424, 1952 (2).
- 120 - HOFMANN M., HOFMANN M., STAMMLER G. and SCHAPER W.
Hyaluronidase delays necrosis in regional myocardial ischemia.
Circulation 59 and 60 : II, II-215, 1979.
- 121 - HORAK A.F., PUDZUWEIT T. and OPIE L.
Cyclic AMP as mediator of catecholamine - induced enzyme release
from isolated perfused working rat heart.
Ad. Myocardiol I : 367-373, 1980.
- 122 - HUMPHREY S.M., GAVIN J.B and HERDSON P.B.
Catecholamine - depletion and the no-reflow phenomenon in anoxic
and ischaemic rat hearts.
J. Molec. Cell. Cardiol. 14 : 151-161, 1982.
- 123 - ICHIHARA K., ICHIHARA M. and ABIKO Y.
Involvement of beta adrenergic receptors in decrease of myocardial
pH during ischemia.
J. Pharmacol. Exp. Ther. 209 : 275, 1979.
- 124 - JAILLON P., HECKLE J., AUBRY J.P., WEISSENBUGER J. and CHEYMOL G.
Cardiac electrophysiologic effects of quinidine propranolol
isomers in anesthetized dogs. Concentration - response relationships.
J. Cardiol. Pharmacol. 3 : 431-445, 1981.
- 125 - JENNINGS R.B., BAUM J.H. and HERDSON P.B.
Fine structural changes in myocardial ischemic injury.
Arch. Pathol. 79 : 135-143, 1965.

126 - JENNINGS R.B. and SHEN A.G.

Calcium in experimental ischemia.

In *Myocardiology*, Vol. I, Edited by E. BAJUSE, G. ROMA

Baltimore University Park Press, p. 639-655, 1972.

127 - JENNINGS R.B., GANOTE C.E., KLONER R.A., WHALEN D.A. and HAMILTON D.G.

Explosive swelling of myocardial cells irreversibly injured by transient ischemia. In : Fleckenstein A., Rona G., eds. *Recent advances in studies on cardiac structure and metabolism*. Vol. 6 *Pathophysiology and Morphology of Myocardial Cell Alteration*. Baltimore - University Park Press, 1975.

128 - JENNINGS R.B. and REIMER K.A.

Effect of β - adrenergic blockade on acute myocardial ischemic injury. In : Gross F., ed. *Modulation of sympathetic tone in the treatment of cardiovascular diseases*.

Switzerland : Hans Huber Publishers, 1978.

129 - JENNINGS R.B., LOWE J.E., HAWKINS H.K and REIMER K.A.

Ultrastructural changes in acute myocardial ischemic injury

Brain and Heart infarct II. Springer-Verlag Berlin-Heidelberg New-York, p. 88-103, 1979.

130 - JONES R.J.

β - blockade and recurrent myocardial infarction.

JAMA 247 : 15, 2141-2142, 1982.

131 - JOHNSON J.D., VAGHY P.L., CROUTH T.H., POTTER J.D. and SCHWARTZ A.

An hypothesis for the mechanism of action of the Ca^{++} antagonist drugs : calmodulin as a receptor.

in Ebashi S. ed. *Advances in Pharmacology and Therapeutics II*, Proceeding of the 8 th international Congress of Pharmacology Tokyo, Japan, 1981.

132 - JUGDUTT B., HUTCHINS G., BULKLEY B.H. and BECKER L.

Reduction of infarct size by intravenous nitroglycerin infusion in conscious dogs.

Circulation 57 and 58 : II, II-98, 1978.

133 - JUGDUTT B., HUTCHINS G., BULKLEY B.H. , PITT B. and BECKER L.

Effect of indomethacin on collateral blood flow and infarct size in the conscious dog.

Circulation 59 : 734-743, 1979.

134 - KANTER K.R., FLAHERTY J.T., BULKLEY B.H. and GATT V.L.

Beneficial effects of adding propranolol to multidose potassium cardioplegia.

Circulation 64 : 2, Pt 2, 84-90, 1981.

135 - KARGUEUZIAN H.S., PENNEC J.P., DEROUBAIX E., DE LEIRIS J. and CORABOEUF E.

Effects of excess free fatty acids on the electrophysiological properties of ventricular specialized conducting tissue : A comparative study between the sheep and the dog.

J. Cardiovas. Pharmacol. 4 : 462-468, 1982.

136 - KATCHER A.H., PIERCE G. and SAYEN J.J.

Effects of experimental regional ischaemia and levarteronol on the RS-T segment and baseline of ventricular surface electrocardiograms obtained by direct coupled amplification.

Cir. Res. 8 : 29-43, 1960.

137 - KATZ A.M.

Effects of ischemia on the contractile processes of heart muscle.

Am. J. Cardiol. 32 : 456-460, 1973.

- 138 - KATZ A.M. and MESSINEO F.C.
Lipids and membrane function : Implications in arrhythmias.
Hospital Practice, 49-59, July 1981.
- 139 - KEOGH J.M., MANNING A.S., SHATTOCK M.J., COLTART D.J. and HEARSE D.J.
Long term beta-blockade : prolonged protective action on the ischaemic myocardium.
J. Molec. Cell. Cardiol. 13 : 1, 43, 1981.
- 140 - KIMURA S., NAKAYA H. and KANNO M.
Effects of verapamil and lidocaine on changes in action potential characteristics and conduction time induced by combined hypoxia, hyperkalemia and acidosis in canine ventricular myocardium.
J. Cardiovasc. Pharmacol. 4 : 658-667, 1982.
- 141 - KISSIN I. and KILPATRICK J.V.
Effects of nifedipine on myocardial energy balance in experimental coronary vasoconstriction and occlusion.
J. Cardiovasc. Pharmacol. 4 : 111-115, 1982.
- 142 - KJEKSHUS J.K. and SOBEL B.E.
Depressed myocardial creatine phosphokinase activity following experimental myocardial infarction in rabbit.
Circ. Res. 27 : 403, 1970.
- 143 - KJEKSHUS J.K., MAROKO P.R. and SOBEL B.E.
Distribution of myocardial injury and its relation to epicardial ST segment changes after coronary artery occlusion in the dog.
Cardiovasc. Res. 6 : 490-499, 1972.

- 144 - KLONER R.A., GANOTE C.E., WHALEN D.H. Jr. and JENNINGS R.B.
Effect of a transient period of ischemia on myocardial cells II. Fine structure during the first few minutes of reflow.
Ann. J. Pathol. 74, 399-413, 1974.
- 145 - KLONER R.A., REIMER K.A. and JENNINGS R.B.
Distribution of collateral flow in acute myocardial ischemic injury. Effect of propranolol therapy.
Cardiovasc. Res. 10 : 81-90, 1976.
- 146 - KLONER R.A., REIMER K.A., WILLERSON J.T. and JENNINGS R.B.
Reduction of experimental myocardial infarct size with hyperosmolar mannitol.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 151 : 677-683, 1976.
- 147 - KLONER R.A., FISHBIEN M.C., BRAUNWALD E. and MAROKO P.R.
The effect of propranolol on microvascular injury in acute myocardial ischemia.
Circulation 55 : 872-880, 1977.
- 148 - KLONER R.A., FISHBIEN M.C., LEW H., MAROKO P.R. and BRAUNWALD E.
Mummification of myocytes by high doses of glucocorticoides after experimental coronary occlusion.
Circulation 57 : 56-63, 1978.
- 149 - KLONER R.A., FISHBIEN M.C. and MAROKO P.R.
The ultrastructure and histochemistry wavy fibers during myocardial ischemia.
Circulation 57 and 58 : II, II-241, 1978.
- 150 - KLONER R.A., FISHBIEN M.C., MAROKO P.R. and BRAUNWALD E.
Effect of propranolol on mitochondrial morphology during acute myocardial ischemia.
Am. J. Cardiol. 41 : 880-886, 1978.

- 151 - KLONER R.A., RUDE R.E., MAROKO P.R. and BRAUNWALD E.
Microvascular damage and myocardial cell injury following coronary artery occlusion : which comes first ?
Circulation 60 : II, II-42, 1979.
- 152 - KLONER R.A. and BRAUNWALD E.
Review : Observations on experimental myocardial ischaemia.
Cardiovasc. Res. 14 : 371-395, 1980.
- 153 - KOHLHARDT M., BAUER B., KRAUSE H. and FLECKENSTEIN A.
New selective inhibitors of the transmembrane Ca conductivity in mammalian myocardial fibers.
Experientia 15 : 288, 1972.
- 154 - KOHLHARDT M. and KUBLER M.
The influence of metabolic inhibitors upon the transmembrane slow inward current in the mammalian ventricular myocardium.
Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol 290 : 265-274, 1975.
- 155 - KORB H.
Protective action of verapamil on the myocardium during experimental coronary artery occlusion in the dog.
Eur. J. Physiol. 391 : Suppl. R 2, 1981.
- 156 - KRAUSE E.G.
Changes in cyclic AMP levels and in activities of protein kinase (PK), phosphorylase kinase (PHK) and phosphorylase (PH) in the ischemic and nonischemic myocardium following coronary artery ligation (CAL).
J. Molec. Cell. Cardiol. 11 : 2, 30, 1979.

157 - LABORIT H, BARON C., LONDON A. et OLYMPIE J.

Activité nerveuse centrale et pharmacologie générale comparée du glyoxylate, du glycolate et du glycolaldehyde.

Agressologie 12 : 3, 187-212, 1971.

158 - LANCELIN B., BLANCHARD D., HAUTECOEUR J.L., GUERMONPREZ J.L. et MAURICE P.

I. - Les inhibiteurs calciques dans le traitement de l'angine de poitrine.

Le Concours Médical 102 : 24, 3687-3693, 1980.

159 - LATHROP D.A., VALLE-AGUILERA J.R., MILLARD R.W., GAUM W.E., HANNON D.W., FRANCIS P.D., NAKAY H. and SCHWARTZ A.

Comparative electrophysiologic and coronary hemodynamic effects of diltiazem, nisoldipine and verapamil on myocardial tissue.

Am. J. Cardiol. 49 : 613-620, 1982.

160 - LEAF A.

Cell swelling : a factor in ischemic tissue injury.

Circulation 48 : 455-458, 1973.

161 - LEFER A.M., OGGETREE M.L., SMITH J.B., SILVER M.J., NICOLAOU K.C., BARNETTE W.E. and GASIC G.P.

Prostacyclin : a potentially valuable agent for preserving myocardial tissue in acute myocardial ischemia.

Science 200 : 52-54, 1978.

162 - LIBBY P., MAROKO P.R., BLORR C., SOBEL B.E. and BRAUNWALD E.

Reduction of experimental myocardial infarct size by corticosteroid administration.

J. Clin. Invest. 52 : 599-607, 1973.

- 163 - LIE J.T., LAWRIE G.M., MORRIS G.C. and WINTERS W.L.
Hemorrhagic myocardial infarction associated with aortocoronary bypass revascularisation.
Am. Heart J. 96 : 295-302, 1978.
- 164 - LIEDTKE A.J., NELLIS S.H. and WHITESELL L.F.
Effects of regional ischemia on metabolic function in adjacent aerobic myocardium.
J. Molec. Cell. Cardiol. 14 : 195-205, 1982.
- 165 - LOCHNER A., KOTZE J.C.N. and JEWERS W.
Mitochondrial oxydative phosphorylation in myocardial ischaemia : Effects of glycerol, glucose, and insulin on anoxic hearts perfused at low pressure.
J. Molec. Cell. Cardiol. 8 : 575-584, 1976.
- 166 - MC CALLISTER L.P., MUNGER B.L. and NEELY J.R.
Electron microscopic observations and acid phosphatase activity in the ischemic rat heart.
J. Molec. Cell. Cardiol. 9 : 353-364, 1977.
- 167 - MC DONALD T.F., HUNTER E.G. and MC LEOD D.P.
Adenosine triphosphate partition in cardiac muscle with respect to transmembrane electrical activity.
Pflüg. Arch. 322 : 95, 1971.
- 168 - MC DONALD T.F. and MC LEOD D.P.
Metabolism and the electrical activity of anoxic ventricular muscle.
Journal of Physiology 229 : 559-582, 1973.

- 169 - MACLEAN D., FISHBEIN M.C., BRAUNWALD E. and MAROKO P.R.
Long term preservation of ischemic myocardium after experimental artery occlusion.
J. Clin. Invest. 61 : 541-551, 1978.
- 170 - MADIAS J.E., MADIAS N.E. and HOOD B.W.
Precordial ST segment mapping II. Effect of oxygen inhalation on ischemic injury in patients with acute myocardial infarction.
Circulation 53 : 411-417, 1976.
- 171 - MAGEE P.G., GARDNER T.J., FLAHERTY J.T., BUCKLEY B.H., GOLDMAN R.A. and GOTT V.L.
Improved myocardial protection with propranolol during induced ischemia.
Circulation 62 : 2, Pt 2, 49-56, 1980.
- 172 - MANNING A.S., KEOGH J.M., HEARSE D.J. and COLTART D.J.
Beta-blockade and ischaemic injury : effects of partial activity.
Cardiovasc. Res. 14 : 619-623, 1980.
- 173 - MANNING A.S., KEOGH J.M., COLTART D.J. and HEARSE D.J.
Propranolol in the ischaemic, reperfused, working rat heart : association between beta-adrenergic blocking activity and protective effect.
J. Molec. Cell. Cardiol. 13 : 1077-1080, 1981.
- 174 - MANNING A.S., KEOGH J.M., SHATTOCK M.J., COLTART D.J. and HEARSE D.J.
Long-term beta-blockade : prolonged protective action on the ischaemic myocardium.
Cardiovasc. Res. 15 : 8, 462-467, 1981.

- 175 - MANNING A.S., SHATTOCK M.J. and HEARSE D.J.
Contrasting effects of acute and chronic beta-blockade on ischaemia induced rhythm disturbances.
J. Molec. Cell. Cardiol. 13 : 1, 54, 1981 (2).
- 176 - MAROKO P.R., KJEKSHUS J.K., SOBEL B.E., WATANABE T., COWELL J.W., ROSS J. Jr. and BRAUNWALD E.
Factors influencing infarct size following experimental coronary artery occlusions.
Circulation 43 : 67-82, 1971.
- 177 - MAROKO P.R., LIBBY P., BLOOR C.M., SOBEL B.E., and BRAUNWALD E.
Reduction by hyaluronidase of myocardial necrosis following coronary occlusion.
Circulation 46 : 430-437, 1972.
- 178 - MAROKO P.R., LIBBY P., GINKS W.R., BLOOR C.M., SHELL W.E., SOBEL B.E., and BRAUNWALD E.
Coronary artery reperfusion. I. Early effects on local myocardial function and the extent of myocardial necrosis.
J. Clin. Invest. 51 : 2710-2716, 1972.
- 179 - MAROKO P.R., LIBBY P., SOBEL B.E., BLOOR C.M., SYBERS H.D., SHELL W.E., COWELL J.W., and BRAUNWALD E.
Effect of glucose - insulin - potassium infusion on myocardial infarction following experimental coronary artery occlusion.
Circulation 45 : 1160-1175, 1972.
- 180 - MAROKO P.R., RADVANY P., BRAUNWALD E. and HALE S.L.
Reduction of infarct size by oxygen inhalation following acute coronary occlusion.
Circulation 52 : 360-368, 1975.

- 181 - MAROKO P.R., DAVIDSON D.M., LIBBY P., HAGEN A.D., and BRAUNWALD E.
Effects of hyaluronidase administration on myocardial ischemic injury in acute infarction, a preliminary study in 24 patients.
Annu. Int. Med. 82 : 516-520, 1975.
- 182 - MAROKO P.R., HILLIS L.D., MULLER J.E., TAVAZZI L., HEYNDRICKX M.D., RAY M., CHIARELO M., DISTANTE A., ASKENAZI J., SALERNO J., CARPENTIER J., RESHETNAYA N.I., RADVANY P. LIBBY P., GINKS W.R., RAABE D.S., CHAZOV E.I., BOBBA P. and BRAUNWALD E.
Favorable effects of hyaluronidase on electrocardiographic evidence of necrosis in patients with acute myocardial infarction.
N. Engl. J. Med. 296 : 898-903, 1977.
- 183 - MASCHER D. and CARMELIET E.
The effects of hypoxia on the membrane resistance of ventricular muscle fibers of guinea-pig.
Arch. Int. Physiol. Biochim. 83 : 606-607, 1975.
- 184 - MASTERS T.N. and CLAVIANO V.V.
Effect of dl propranolol on myocardial free fatty acid and carbohydrate metabolism.
J. Pharmacol. Exp. Ther. 167 : 187, 1969.
- 185 - MATHUR V.S., GRUINN G.A. and BURRIS W.H.
Maximal revascularisation (reperfusion) in intact conscious dogs after 2 to 5 h of coronary occlusion.
Am. J. Cardiol. 4 : 252-261, 1975.
- 186 - METZGER V.A., KAHLES H. and SPIECKERMANN P.G.
Reduction of enzyme release from anoxic heart muscle by different blocking drugs and verapamil.
Arch. Pharmacol. 313 : Suppl, R 39, 1980.

187 - MIHALICK M.J., RASMUSSEN S., KNOEBEL S.B.

The effect of nitroglycerin on premature ventricular complexes in acute myocardial infarction.

Am. J. Cardiol. 33 : 157, 1974.

188 - MILLARD R.W., LATHROP D.A., GRUPP G., ASHRAF M., GRUPP I.L. and SCHWARTZ A.

Differential cardiovascular effects of calcium channel blocking agents : potential mechanisms.

Am. J. Cardiol. 49 : 499-505, 1982.

189 - MIURA M., THOMAS R., GANZ W., SOKOL T., SHELL W.F., TOSHIMITSU T., KWAN A.C. and SINGH B.N.

The effect of delay in propranolol administration on reduction of myocardial infarct size after experimental coronary artery occlusion in dogs.

Circulation 59 : 1148-1157, 1979.

190 - MORENA H., JANSE M.J., FIOLET J.W.T., KRIEGER W.J.G., CRIJNS H. and DURRER D.

Comparison of the effects of regional ischemia, hypoxia, hyperkalemia, and acidosis on intracellular and extracellular potential and metabolism in the isolated porcine heart.

Circ. Res. 46 : n° 5, 634-646, 1980.

191 - MORRISON J., REDENTO L., PIZZARELLO R., GELLER K., NALEY T. and GULLOTA S.

Modification of myocardial injury in man by corticosteroid administration.

Circulation 53 : I, I-200, I-203, 1976.

192 - MOST A.S., CAPONE R.J. and MASTROFRANCESCO P.A.

Failure of hyaluronidase to alter the early course of acute myocardial infarction in pigs.

Am. J. Cardiol. 38 : 28-33, 1976.

- 193 - MUELLER E.A., GRIFFIN W.S.T. and WILDENTHAL K.
Isoproterenol - induced cardiomyopathy : changes in cardiac enzymes and protection by methylprednisolone.
J. Molec. Cell. Cardiol. 9 : 565-578, 1977.
- 194 - MULLER C. and OPIE L.H.
The effect of β - blockade on myocardial tissue levels of cyclic AMP and the incidence of ventricular fibrillation after coronary artery ligation in the pig.
J. Molec. Cell. Cardiol. 11 : 2, 40, 1979.
- 195 - MULLER J.E., MAROKO P.R. and BRAUNWALD E.
Evaluation of precordial electrocardiographic mapping as a means of assessing changes in myocardial ischemic injury.
Circulation 57 : 1-18, 1978.
- 196 - MYERS R.W., SHERER J.L., GOLDSTEIN R.A., GOLDSTEIN R.E., KENT K.M. and EPSTEIN S.E.
Effects of nitroglycerin and nitroglycerin - methoxamine during acute myocardial ischemia in dogs with pre - existing multivessel coronary occlusive disease.
Circulation 51 : 632-640, 1975.
- 197 - NAKAYA H., HATTORI Y., SAKUMA J. and KANNO M.
Effects of calcium antagonists on coronary circulation and conduction delay induced by myocardial ischemia in dogs : a comparative study with other coronary vasodilators.
Eur. J. Pharmacol. 73 : 273-281, 1981.
- 198 - NANKI M.
Protective effect of β_1 blocker on ischemic myocardial energy metabolism.
J. Molec. Cell. Cardiol. 13 : 2, 39, 1981.

199 - NARGEOT J.

Current clamp and voltage clamp study of the inhibitory action of DNP on membrane electrical properties of frog auricular heart muscle.

J. Physiol. (Paris) 72 : 171-180, 1976.

200 - NAYLER W.G., FERRARI R. and WILLIAMS A.

Protective effect of pretreatment with verapamil, nifedipine and propranolol on myocardial function in the ischemic and reperfused myocardium.

Am. J. Cardiol. 46 : 242-248, 1980.

201 - NAYLER W.G. and GRINWALD P.M.

The effect of verapamil on calcium accumulation during the calcium paradox.

J. Molec. Cell. Cardiol. 13 : 4, 435-441, 1981.

202 - NAYLER W.G. and GRINWALD P.M.

Reply to Above letter (Letter to the editor Verapamil and the calcium paradox : a reaffirmation. HEARSE D.J. and BAKER J.E.).

J. Molec. Cell. Cardiol. 13 : 1087-1090, 1981.

203 - NEELY J.R., BOWMANN R.H. and MORGAN H.E.

Effects of ventricular pressure development and palmitate on glucose transport.

Am. J. Physiol. 216 : 804-811, 1969.

204 - NEELY J.R., WHITEFIELD C.F. and MORGAN H.E.

Regulation of glycogenolysis in hearts : effects of pressure development, glucose and FFA.

Am. J. Physiol. 219 : 1083-1087, 1970.

205 - NEELY J.R., ROVETTO M.J., WHITMER J.T. and MORGAN H.E.

Effect of ischemia on function and metabolism of the isolated working rat heart.

Am. J. Physiol. 225 : 651-658, 1973.

206 - OBEID A., SPEAR R., MOOKHERJEE R., EICH W. and EICH R.

The effects of propranolol on myocardial energy stores during myocardial ischemia in dogs.

Circulation 54 : II-159, 1976.

207 - OGLETREE M.L., LEFER A.M., SMITH J.B. and NICOLAOU K.C.

Studies on the protective effect of prostacyclin in acute myocardial ischemia.

Eur. J. Pharmacol. 56 : 95-103, 1979.

208 - OHHARA H., KANAIDE H. and NAKAMURA M.

A protective effect of verapamil on the calcium paradox in the isolated rat heart.

J. Molec. Cell. Cardiol. 14 : 13-20, 1982.

209 - OPDYKE D.F., LAMBERT A., STOERK H.C., ZANETTI M.E. and KUNA S.

Failure to reduce the size of experimentally produced myocardial infarcts by cortisone treatment.

Circulation 8 : 544-548, 1953.

210 - OPIE L.H.

Metabolism of the heart in health and disease. Part I.

Am. Heart J. 76 : 585-598, 1968.

211 - OPIE L.H.

Metabolism of the heart in health and disease. Part II.

Am. Heart J. 77 : 100-122, 1969 - 1 -.

212 - OPIE L.H.

Metabolism of the heart in health and disease. Part III.
Am. Heart J. 77 : 383-400, 1969 - 2 -.

213 - OPIE L.H., OWEN P., RIEMERSNA R.A.

Relative rates of oxidation of glucose and free fatty acids by ischaemic and non ischaemic myocardium after coronary artery ligation in the dog.
Eu. J. Clin. Invest. 3 : 419-435, 1973.

214 - OPIE L.H., BRUYNELL K. and OWEN P.

Effects of glucose - insulin and potassium infusion on tissue metabolic changes within first hour of myocardial infarction in the baboon.
Circulation 52 : 49-57, 1975.

215 - OPIE L.H.

Effects of regional ischemia in metabolism of glucose and fatty acids.
Circ. Res. 38, I, n° 5, I-52, I-68, 1976.

216 - OPIE L.H. and OWEN P.

Effect of glucose - insulin - potassium infusions on arteriovenous differences of glucose and of free fatty acids and on tissue metabolic changes in dogs with developing myocardial infarction.
Am. J. Cardiol. 38 : 310-321, 1976.

217 - OPIE L.H.

Effects of adrenergic stimulation and inhibition on infarcting myocardium.
Catecholamines and the heart. Recent advances in experimental and clinical research.
Edited by : Delius W, Gerlach E, Grobecker H., Klübler W.
Springer-Verlag.
Berlin Heidelberg New-York, p 184, 1981.

- 218 - OTORII T., KATANO Y., TAKEDA K. and IMAI S.
Effects of piridoxilate, a glyoxylic acid derivative, on the energy metabolism of the heart.
Jpn. Heart J. 21 : 6, 845-857, 1980.
- 219 - PAGE E. and POLIMERI P.E.
Ultrastructural changes in the ischemic zone bordering experimental infarct in rat left ventricles.
Am. J. Pathol. 87 : 81-104, 1977.
- 220 - PAPP J.G. and VAUGHAN-WILLIAMS E.M.
A comparison of the anti-arrhythmic actions of I.C.I. 50172 and (-) propranolol and their effects on intracellular cardiac action potentials and other features of cardiac function.
Br. J. Pharmacol. 37 : 391-399, 1969.
- 221 - PETER T., NORRIS R.M. and CLARKE E.D.
Reduction of enzyme levels by propranolol after acute myocardial infarction.
Circulation 57 : 1091-1095, 1978.
- 222 - PETER T., FUJIMOTO T., HAMAMOTO H., MC CULLEN A. and MANDEL W.J.
Electrophysiologic effects of diltiazem in canine myocardium, with reference to conduction delay during ischemia.
Am. J. Cardiol. 49 : 602-605, 1982.
- 223 - PHILLIPS S.J., KONGTAHWORN C., ZEFF R.H., BENSON M., IANNONE L., BROWN T. and GORDON D.F.
Emergency coronary artery revascularization : a possible therapy for acute myocardial infarction.
Circulation 60 : 241-246, 1979.

224 - PIACENZA G., OSELLA R., BORGOGGIO R.

Effect of nifedipine on mitochondrial function of isolated rabbit hearts perfused under hypoxic conditions.

J. Molec. Cell. Cardiol. 13 : 1, 70, 1981.

225 - PODZUWEIT T., LUBBE W.F. and OPIE L.H.

Cyclic adenosine monophosphate, ventricular fibrillation and antiarrhythmic drugs.

Lancet 1 : 341-342, 1976.

226 - PODZUWEIT T., DALBY A.J., CHERRY G.W. and OPIE L.H.

Cyclic AMP levels in ischaemic and non-ischaemic myocardium following coronary artery ligation : Relation to ventricular fibrillation.

J. Molec. Cell. Cardiol. 10 : 81-94, 1978.

227 - PODZUWEIT T., ELS D.J., and SHANLEY B.C.

Catecholamine c-AMP induced arrhythmias in the infarcting pig heart.

J. Molec. Cell. Cardiol. 10 : I, 77, 1978.

228 - POWELL W.J., DI BONA D.R., FLORES J. and LEAF A.

The protective effect of hyperosmotic mannitol in myocardial ischemia and necrosis.

Circulation 54 : 603-614, 1976.

229 - PRINZMETAL M., ECMERCKI A., TOYOSHIMA H. and KWOCZYNSKI J.K.

Angina Pectoris III. Demonstration of a chemical origin of ST deviation in classic angina pectoris, its variant form, early myocardial infarction, and some non cardiac conditioning.

Am. J. Cardiol. 3 : 276-293, 1959.

230 - PURI P.S.

Contractile and biochemical effects of coronary reperfusion after extended periods of coronary occlusion.

Am. J. Cardiol. 36 : 244-251, 1975.

231 - RADVANY P., MAROKO P.R. and BRAUNWALD E.

Effects of hypoxemia on the extent of myocardial necrosis after experimental coronary occlusion.

Am. J. Cardiol. 35 : 795-800, 1975.

232 - RAIME A.E.G. and VAUGHAN-WILLIAMS E.M.

Adaptational responses to prolonged β - adrenoceptor blockade in adult rabbits.

Brit. J. Pharmacol. 70 : 2, 205-218, 1980.

233 - RASMUSSEN H.

Ion as "Second messenger" in Cell Membrane, ed. by G. WEISSMAN and P. CLAIRBORNE HP Publishing.

New-York, p. 202-212, 1975.

234 - REIMER K.A., RASMUSSEN M.M. and JENNINGS R.B.

Reduction by propranolol of myocardial necrosis after temporary coronary occlusion in dogs.

Cir. Res. 33 : 353-363, 1973.

235 - REIMER K.A., RASMUSSEN M.M. and JENNINGS R.B.

On the nature of protection by propranolol against myocardial necrosis after temporary coronary occlusion in dogs.

Am. J. Cardiol. 37 : 520-527, 1976.

236 - REIMER K.A., LOWE J.E., RASMUSSEN M.M. and JENNINGS R.B.

The wavefront phenomenon of ischemic cell death.

Myocardial infarct size vs duration of coronary occlusion in dogs.

Circulation 56 : 786-793, 1977.

237 - REUTER H. and SEITZ N.

The dependance of calcium efflux from cardiac muscle on temperature and external ion composition.

J. Physiol. (Lond) 195 : 451-470, 1968.

238 - REUTER H. and SCHOLZ H.

A study of ion selectivity and kinectic properties of the calcium dependent slow inward current in mammalian cardiac muscle.

J. Physiol. (Lond) 264 : 17-47, 1977.

239 - REUTER H. and SCHOLZ H.

The regulation of the calcium conductance of cardiac muscle by adrenaline.

J. Physiol. (Lond) 264 : 49-62, 1977.

240 - RIBEIRO L.G.T., LOUIS E.K., HILLIS L.D., DAVIS M.A. and MAROKO P.R.

Early augmentation of R ware voltage after coronary artery occlusion : a useful index of myocardial injury.

J. Electrocardiol. 12 : 89-95, 1979.

241 - RIBEIRO L.G.T., LOUIS E.K., DAVIS M.A. and MAROKO P.R.

Augmentation of collateral blood flow to the ischaemic myocardium by oxygen inhalation following experimental coronary artery occlusion.

Cardiovasc. Res. 13 : 160-166, 1979.

242 - RIBEIRO L.G.T., YASUDA T., LOWENSTEIN E., BRAUNWALD E. and MAROKO P.R.

Comparative effects of anatomic infarct size of verapamil, ibuprofen, and morphine - promethazine-chlorpromazine combination.

Am. J. Cardiol. 43 : 396, 1979.

243 - RICHARD V., VERDETTI J. et de LEIRIS J.

Effet du diltiazem au cours de l'ischémie myocardique in situ chez le rat.

Biologie et Pathologie du Coeur et des Vaisseaux.

Résumé des Communications, p 104.

GRENOBLE, 16 et 17 Septembre 1982.

244 - ROBERTS R., DE MELLO V. and SOBEL B.E.

Deleterious effects of methylprednisolone in patients with myocardial infarction.

Circulation 53 : I, I-204, I-206, 1975.

245 - ROGERS W.J., SEGALL P.H., MC DANIEL H.G., MANTLE J.A., RUSSELL R.O., RACKLEY C.E.

Prospective randomized trial of glucose - insulin - potassium in acute myocardial infarction. Effects on myocardial hemodynamics, substrates and rhythm.

Am. J. Cardiol. 43 : 801-809, 1979.

246 - ROUET R.

Mise au point d'un modèle pour l'étude in vitro, des médicaments proposés dans le traitement des troubles du rythme ventriculaire d'origine ischémique.

D.E.A. Biologie et Physiologie Experimentales et Appliquées Université des Sciences et Techniques de Lille I, 1981.

247 - ROVETTO M.J., WHITMER J.T. and NEELY J.R.

Comparison of the effects of anoxia and whole heart ischemia on carbohydrate in isolated working heart.

Cir. Res. 32 : 699-711, 1973.

248 - RUFFO A.

Un nouveau régulateur de la respiration des tissus animaux, l'acide glyoxylique.

Bull. Soc. Chim. Biol. 43 : 705, 1961.

249 - RUFFO A.

Réactivité du glyoxylate et régulation du cycle citrique dans les tissus animaux.

Bull. Soc. Chim. Biol. 49 : 461, 1967.

250 - RUIGROK T.J.C., BOINK A.B.T.J., SLADE A., ZIMMERMAN A.N.E., MEIJLER F.L. and NAYLER W.G.

The effect of verapamil on the calcium paradox.

Am. J. Pathol. 98 : 3, 769-790, 1980.

251 - SAKAI K., ITO T. and OGAWA K.

Roles of endogenous prostacyclin and thromboxane A₂ in the ischemic canine heart.

J. Cardiovasc. Pharmacol. 4 : 129-135, 1982.

252 - SAMSON W.E. and SCHER A.M.

Mechanism of ST segment alteration during acute myocardial injury.

Cir. Res. 8 : 780-787, 1960.

253 - SATORU SUGIYAMA, MASYASU KITAZWA, KAZUNDOO KOTAKA, IUTAKA MIYAZAKI and TAKYUKI OZAWA.

Mechanism of the antiarrhythmic action of verapamil.

J. Cardiovas. Pharmacol. 3 : 4, 801-806, 1981.

254 - SCHEUER J.

Myocardial metabolism in cardiac hypoxia.

Am. J. Cardiol. 19 : 385-390, 1967.

255 - SCHEUER J. and STEZOSKI S.W.

Protective role of increased myocardial glycogen stores in cardiac anoxia in rat.

Circ. Res. 27 : 835-850, 1970.

256 - SCHMIDT E. et SCHMIDT F.W.

Manuel d'enzymologie clinique.

Série Boehringer Mannheim diagnostica. 1973.

257 - SCHNEIDER J.A. and SPERELAKIS N.

The demonstration of energy dependance of the isoproterenol - induced transcellular Ca^{++} current in isolated perfused guinea-pig hearts.

An explanation for mechanical failure of ischemic myocardium.

J. Surg. Res. 16 : 389-403, 1974.

258 - SCHNEIDER J.A. and SPERELAKIS N.

Slow Ca^{++} and Na^{++} responses induced by isoproterenol and methylxanthines in isolated perfused guinea-pig hearts expose to elevated K^+ .

J. Molec. Cell. Cardiol. 7 : 249-273, 1975.

259 - SCHROR K., LINK H.B., ROSEN R., KLAUS W. and ROSEN P.

Prostacyclin - induced coronary vasodilatation.

Interactions with adenosine, cyclic AMP and energy charge in the rat heart in vitro.

Eur. J. Pharmacol. 64 : 341-348, 1980.

260 - SCHUG A.L., SHRAGO E., BITTAR N., FOLTS J.D., KOKE J.R.

Acyl-coA inhibition of adenine nucleotide translocation in ischemic myocardium.

Am. J. Physiol. 228 : 689-692, 1975.

261 - SCHWARTZ A.

Symposium on cardiovascular disease and calcium antagonists.

Am. J. Cardiol. 49 : 497-498, 1982.

- 262 - SENGES J., BRACHMANN J., PELZER D., KRAMER B. and KUBLER W.
Combined effects of glucose and hypoxia on cardiac automaticity
and conduction.
J. Molec. Cell. Cardiol. 12 : 311-322, 1980.
- 263 - SHATNEY C.H., MC CARTER D.J. and LILLEHEIR R.C.
Effects of allopurinol, propranolol and methylprednisolone on
infarct size in experimental myocardial infarction.
Am. J. Cardiol. 37 : 572-579, 1976.
- 264 - SHATNEY C.H., MC CARTER D.J. and LILLEHEIR R.C.
Temporal factors in the reduction of myocardial infarct volume
by methylprednisolone.
Surgery 80 : 61-69, 1976.
- 265 - SHELL W.E., KJEKSHUS J.K. and SOBEL B.E.
Quantitative assessment of the extent of myocardial infarction
in the conscious dog by means of analysis of serial changes in
serum creatine phosphokinase activity.
J. Clin. Invest. 50 : 2614, 1971.
- 266 - SHELL W.E. and SOBEL B.E.
Deleterious effects of increased heart rate on infarct size in
the conscious dog.
Am. J. Cardiol. 31 : 474, 1972.
- 267 - SHELL W.E. and SOBEL B.E.
Biochemical markers of ischemic injury.
Circulation 53, 3, 1, I-98, I-106, 1976.

268 - SHOICHI IMAI, YUMI KATANO, NORIO SHIMAMOTO and KEN SAKAI

Energy metabolism in ischemic myocardium as studied in the isolated perfused guinea-pig heart.

Ischemic myocardium and antianginal drugs, edited by M.M. WINBURY and Y. ABIKO.

RAVEN Press, New-York, 1979.

269 - SHRAGO E., SHUG A. and ELSON C.

Regulation of cell metabolism by mitochondrial transport system in : Hanson R.W., Mehlmann MA, eds.

Gluconeogenesis : its regulation in Mammalian species.

New-York : John Wiley and Sons, 1976 : 221.

270 - SHUGOLD G.E.

Transient QRS changes simulating myocardial infarction associated with shock and severe metabolic stress.

Am. Heart. J. 74 : 402-409, 1967.

271 - SLADE A.M. and NAYLER W.G.

Effect of verapamil pretreatment on ischaemic and reperfused myocardium : A morphometric study.

J. Molec. Cell. Cardiol. 13 : 1, 88, 1981.

272 - SMITH E.F., SCHMUNK G.A., CARROW B.A. and LEFER A.M.

Infarct size restriction in cats by the β adrenergic blocker timolol.

Eur. J. Pharmacol. 77 : 153-158, 1982.

273 - SNYDER D.W., RANKIN D.M., SOBEL B.E. and CORR P.B.

Release of lysophosphatides in venous effluents from ischemic myocardium.

Circulation 59 and 60, II, II-116, 1979.

274 - SOBEL B.E., ROBERTS R. and LARSON K.B.

Estimation of infarct size from serum MB creatine phosphokinase activity : applications and limitations.

Am. J. Cardiol. 37 : 474, 1976.

275 - SOBEL B.E., CORR P.B., ROBINSON A.K., GOLDSTEIN R.A., WITROWSKI F.X. and KLEIN M.S.

Accumulation of lysophosphoglycerides with arrhythmogenic properties in ischemic myocardium.

J. Clin. Invest. 61 : 546-552, 1978.

276 - SODI-PALLARES D., TESTELLI M.R., FISHLEDER B.L., BISTENIR A., MEDRANO G.A., FRIEDLAND C. and DE MICHEL A.

Effects of an intravenous infusion of a potassium - glucose - insulin solution on the electrocardiographic signs of myocardial infarction.

Am. J. Cardiol. 9 : 166-181, 1962.

277 - STANLEY A.W., MORASKI R.E., RUSSEL R.O., ROGERS W.J., MANTLE J.A., KREIBERG R.A., MC DANIEL H.G. and RACKLEY C.E.

Effects of glucose - insulin - potassium on myocardial substrate availability and utilisation in stable coronary, artery disease.

Am. J. Cardiol. 36 : 929-937, 1975.

278 - STASZEWSKA-BARCZAK J.

The reflex stimulation of catecholamine secretion during the acute stage of myocardial infarction in dog.

Clin. Sci. 41 : 419-439, 1971.

279 - SUAREZ-KURTZ G. and EASTWOOD A.B.

Release of creatine kinase and lactate dehydrogenase from skeletal muscles treated with imipranine.

J. Pharmacol. Exp. Ther. 221 : 489-494, 1982.

280 - SUBRAMANIAN V.B., PARAMASIVAN R., LAHIRI A. and RAFTERY E.B.

Verapamil in chronic stable angina.

A controlled study with computerised multistage treadmill exercise.

Lancet, April 19, 1980 ; 841-843.

281 - TAKARO T., PIFARRE R., WUERFLEIN R.D., HALL A.D., GAGE A.A., SCOTT S.M., DART C.H. and PRICE H.P.

Acute coronary occlusion following coronary arteriography : mechanisms and surgical relief.

Surgery 72 : 1018-1029, 1972.

282 - TASGAL J. and VAUGHAN-WILLIAMS E.M.

The effect of prolonged propranolol administration on myocardial transmural capillary density in young rabbits.

J. Physiol. 315 : 353-367, 1981.

283 - TENNANT R. and WIGGER C.J.

The effect of coronary occlusion on myocardial contractions.

Am. J. Physiol. 112 : 351-361, 1935.

284 - THEROUX P., ROSS J., FRANKLIN D., KEMPER W.S., SASAYAMA S.

Coronary arterial reperfused. III. Early and late effects on regional myocardial function and dimensions in conscious dogs.

Am. J. Cardiol. 38 : 599-606, 1976.

285 - THOMAS G. and SCHLOSSMANN K.

Protective effects of nifedipine during rat heart perfusion at reduced flow rate.

Arch. Pharmacol. 311 : R 34, 1980.

286 - TONKIN A.M.

Beta-blockade in acute myocardial infarction : inability of relatively late administration to influence infarct size and arrhythmias.

Med. J. Australia 2 : 3, 145-146, 1981.

287 - TRITTHART H., FLECKENSTEIN B. and FLECKENSTEIN A.

Some fundamental actions of antiarrhythmic drugs on the excitability and the contractility of single myocardial fibers.

Arch. Pharmacol. 269 : 212, 1971.

288 - TRUOG A., ROGG H., SCOTT E. and MEIER M.

Effects of propranolol, oxprenolol and verapamil on creatine phosphokinase release and contractile force following ischemia in isolated guinea-pig hearts.

Naunym - Schmiedeberg's. Arch. Pharmac. 308 : Suppl., ph 38, 1979.

289 - VAGHY P.L., MATLIB M.A., ASHRAF M. and SCHWARTZ A.

Increase in inorganic phosphate impairs oxidative phosphorylation in heart mitochondria protective effects of verapamil and diltiazem.

Circulation 62 : 4, Pt 2, 177, 1980.

290 - VAGHY P.L., MATLIB M.A., SZEKERES L. and SCHWARTZ A.

Protective effects of verapamil and diltiazem against inorganic phosphate induced impairment of oxidative phosphorylation of isolated heart mitochondria.

Biochem. Pharmacol. 30 : 8, 2603-2610, 1981.

291 - VALORI C., THOMS M. and SHILLINGFORD J.P.

Urinary secretion of free noradrenaline and adrenaline following acute myocardial infarction.

Lancet 1 : 127, 1967.

- 292 - VANDOR S.L. and TOLBERT N.E.
Glyoxylate metabolism by isolated rat liver peroxisomes.
Biochem. Biophys. Acta 215 : 449, 1970.
- 293 - VASINGTON F.D. and MURPHY J.V.
 Ca^{++} uptake by rat kidney mitochondria and its dependance on
respiration and phosphorylation.
J. Biol. Chem. 237 : 2670-2677, 1962.
- 294 - VIDEBAEK J., CHRISTENSEN N.J. and STERNENDORFF B.
Serial determination of plasma catecholamines in myocardial in-
farction.
Circulation 46 : 846-855, 1972.
- 295 - VLEUGELS A. and CARMELIET E.
Hypoxia increases potassium efflux from mammalian myocardium.
Experienta 32 : 483-484, 1975.
- 296 - VOGEL W.M., ZANNONI W.G., ABRAMS G.D., LUCHESSI B.R.
Inability of methylprednisolone sodium succinate to decrease
infarct size or preserve enzyme activity measured 24 h after
coronary occlusion in the dog.
Circulation 55 : 588-595, 1977.
- 297 - VOGEL W.M., ROMSON J.L., SHAFER M., LUCHESSI B.R.
Protective effects of dimethylpropranolol (UM-272) during glo-
bal ischemia of isolated feline hearts.
J. Pharmacol Exp. Ther. 212 : 3, 560-568, 1980.

- 298 - VOKONAS P.S., MALSKY P.M., PAUL S.T., ROBBINS S.L. and HOOD W.B.
Radioautographic studies in experimental myocardial infarction: profiles on ischemic blood flow and quantification of infarct size in relation to magnitude of ischaemic zone.
Am. J. Cardiol. 42 : 67-75, 1978.
- 299 - WALDENSTROM A.P. and HJALMARSON A.C.
Factors modifying ischemic injury in the isolated rat heart.
Acta. Med. Scand. 201 : 533-538, 1977.
- 300 - WALDENSTROM A.P., HJALMARSON A.C., JODAL M. and WALDENSTROM J.
Significance of enzyme release from ischemic isolated rat heart.
Acta Med. Scand. 201, 525-532, 1977.
- 301 - WEIDMANN S.
The Effect of the cardiac membrane potential on the rapid availability of the sodium carrying system.
J. Physiol. (Lond.) 127 : 213-224, 1955.
- 302 - WEISHAAR R.E. and BING R.J.
The beneficial effect of calcium channel blocker, diltiazem, on the ischemic reperfused heart.
J. Molec. Cell. Cardiol. 12 : 993-1009, 1980.
- 303 - WEISSLER A.M., KRUGER F.A., BABA N., SCARPELLI D.C. and GALLIMORE J.K.
Role of anaerobic metabolism in the preservation of functional capacity and structure of anoxic myocardium.
J. Clin. Invest. 47 : 403-416., 1968.
- 304 - WHALEN D.A., HAMILTON D.G., GANOTTE C.E. and JENNINGS R.B.
Effect of a transient period of ischemia on myocardial cells.
Am. J. Pathol. 74 : 381-398, 1974.

305 - WILKINSON J.H. and ROBINSON J.M.

Effects of ATP on release of intracellular enzymes from damaged cells.

Nature 249 : June 14, 662-663, 1974.

306 - WILLEBRANDS A.F., TASSERON S.J.A., WELLE H.F. and VAN DAM R.T.

Effects of oleic acid and oxygen restriction followed by re-oxygenation in rhythm and contractile activity of the isolated rat heart : protective action of glucose.

J. Molec. Cell Cardiol. 8 : 375-388, 1976.

307 - WILSON F.N., HILL I.G.W. and JOHNSTON F.D.

The form of electrocardiogram in experimental myocardial infarction III. The later effects produced by ligation of anterior descending branch of the left coronary artery.

Am. Heart J. 10 : 903-915, 1935.

308 - WINSLOW E., KELLY M.E. and LAWE A.

Effect of Org 6001 on reperfusion dysrhythmias and lactate dehydrogenase release in isolated rat hearts : comparison with propranolol and lignocaine.

J. Cardiovasc. Pharmacol. 2 : 4, 425-434, 1980.

309 - WOLLENBERGER A. and SHAHAB L.

Anoxia - induced release of noradrenaline from the isolated perfused heart.

Nature 207 : 88, 1965.

310 - WOLLENBERGER A., KRAUSE E.G. and SHAHAB L.

Endogenous catecholamine mobilization and the shift to anaerobic energy production in the acutely ischemic myocardium.

Int. Symp. on the coronary circulation and energetics of the myocardium, Milan, 1966.

Karger Basel New-York, 1967, p 200.

311 - YUSUF S., RAMSDALE D. and PETO R.

Early intravenous treatment in suspected acute myocardial infarction : preliminary report of a trial.

Lancet 2 : 273-276, 1980.

312 - ZAMANIS A., VERDETTI J. and DE LEIRIS J.

Protective effect of diltiazem on ischaemic heart muscle.

J. Molec. Cell. Cardiol. 13 : 1, 101, 1981.



Cette thèse
a été imprimée
sur offset
par
le Service Polycopie
de l'Association Corporative
des
Etudiants en Médecine
de Lille.

DURIEZ Patrick

**MODÈLE D'ISCHÉMIE MYOCARDIQUE IN VITRO
ÉTUDE DE SUBSTANCES PROPOSÉES COMME
«CARDIOPROTECTRICES»**

THÈSE de 3ème Cycle
Physiologie Nerveuse et Musculaire
Université de LILLE I

Mots-clefs : Myocarde, ischémie, créatinekinase,
diltiazem, vérapamil, propranolol,
piridoxilate.

RÉSUMÉ DE LA THÈSE

Des fragments de ventricule gauche de cobaye soumis à une « ischémie» ($pO_2 = 80$ mm Hg, $pH = 7$, $K = 12$ mM, glucose = 0 mM) in vitro subissent une dégradation de l'activité électrique (dépolariation, diminution de l'amplitude, de la durée et de la vitesse maximale de dépolariation des potentiels d'action) et l'inexcitabilité survient en 30 minutes. D'autre part, ces préparations perdent des quantités importantes de créatinephosphokinases (C.P.K.). L'ischémie est maintenue pendant 120 minutes puis les préparations sont reperfusées 30 minutes par du Tyrode standard oxygéné.

Les inhibiteurs du canal lent (diltiazem et vérapamil) et à dose massive (non thérapeutique) un «économiseur d'oxygène» (piridoxilate) limitent la fuite de C.P.K. pendant l'«ischémie» et permettent la récupération d'une activité électrique pendant la reperfusion. Un inhibiteur des récepteurs bêta-adrénergiques (propranolol) améliore également cette récupération électrique mais ne réduit pas la perte de C.P.K. pendant l'«ischémie».

Les inhibiteurs du canal lent (vérapamil, diltiazem) et à forte concentration un «économiseur d'oxygène» (piridoxilate) protègent des préparations «ischémiées» in vitro, par contre, un inhibiteur des récepteurs bêta-adrénergiques (propranolol) se révèle inefficace.

JURY :

Président : Monsieur le Professeur M. DURCHON
Rapporteur : Monsieur le Professeur Ag. B. DUPUIS
Examineurs : Monsieur le Professeur E. CORABOEUF
Monsieur le Professeur J. de LEIRIS
Monsieur le Professeur P. GUILBAULT

660 E, Avenue de la République

59800 LILLE