

TITRE : Adaptations morphologique, fonctionnelle et métabolique du muscle cardiaque de jeunes rats soumis à une hypoxie normobare de trois jours

RESUME :

Les effets d'une hypoxie normobarique chronique (trois jours à une PO₂ de 10%) sur la morphologie et le métabolisme cardiaques ont été étudiés chez des rats femelles en croissance. La prise alimentaire a été mesurée afin de différencier les effets propres de l'hypoxie des effets associés de restriction alimentaire. Les capacités métaboliques du myocarde ont été appréciées par l'étude de trois enzymes-clé du métabolisme : la β hydroxy-acyl-coA deshydrogénase, l'hexokinase, ainsi que la lactate deshydrogénase et la proportion tissulaire en chacun de ses isoformes.

Les principaux résultats de cette étude sont les suivants :

- 1- l'hypoxie est à l'origine d'une diminution de la croissance et de la masse corporelle en rapport avec une réduction de la quantité d'aliment ingérée.
- 2- l'hypoxie entraîne une hypertrophie ventriculaire droite sans affecter le ventricule gauche et les valeurs d'hématocrite.
- 3- la restriction alimentaire est à l'origine d'une diminution d'activité de l'enzyme hexokinase au sein des deux ventricules.
- 4- l'hypoxie semble s'opposer aux effets de la restriction alimentaire, mais n'a pas d'effet significatif sur les activités enzymatiques après trois jours d'hypoxie.
- 5- L'hypoxie entraîne une augmentation non significative de la proportion en isoforme « M » de la lactate deshydrogénase au sein du ventricule droit.

Ainsi, l'exposition à une atmosphère hypoxique durant trois jours entraîne des réactions complexes qui résultent en fait des effets combinés et opposés du facteur hypoxique et de la restriction alimentaire, cette dernière semblant plus influente dans cette phase aiguë.

MOTS-CLES: HYPOXIE CHRONIQUE – RESTRICTION ALIMENTAIRE – ANOREXIE – MYOCARDE – METABOLISME ENERGETIQUE – LACTATE DESHYDROGENASE.

TITLE : Morphological, functional and metabolic adaptations in the myocardium of young rats exposed to normobaric hypoxia during three days

ABSTRACT :

The effects of a chronic normobaric hypoxia (three days with PO₂ of 10%) on the cardiac morphology and metabolism have been investigated on growing female rats. The food intake has been measured so as to distinguish the proper effects of hypoxia from those of associated food restriction. The metabolic capacities of the myocardium were estimated with the study of three key-enzymes of the metabolism: the β hydroxy-acyl-coA deshydrogenase, the hexokinase, the lactate deshydrogenase and the tissular proportion of each isoform.

The main results of this study were:

- 1- hypoxia induces a decrease of growth and body weight caused by a reduced food intake.
- 2- hypoxia causes a right ventricular hypertrophy without any effect on the left ventricle or the hematocrit values.
- 3- the food restriction leads to a decrease in the activity of hexokinase in the both ventricles.
- 4- hypoxia seems to counteract the effects of the food restriction but has no significant effect on the enzymatic activities after three days of hypoxia.
- 5- hypoxia leads to a non significant increase of the "M" isoforms proportion of lactate deshydrogenase in the right ventricle.

Thus, chronic exposure to hypoxia during three days induces complex alterations that depend on the combined and opposed effects of hypoxia "sensu stricto" and diet restriction. The latter seems to have more influence in the acute phase.

KEY WORDS: CHRONIC HYPOXIA - DIET RESTRICTION - ANOREXIA - MYOCARDIUM - ENERGETIC METABOLISM - LACTATE DESHYDROGENASE.

ADAPTATIONS MORPHOLOGIQUE, FONCTIONNELLE ET METABOLIQUE DU MUSCLE CARDIAQUE DE JEUNES RATS SOU MIS A UNE HYPOXIE NORMOBARE DE TROIS JOURS

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

présentée et soutenue publiquement en 2004
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse

par

François-Guillaume SAULNIER-TROFF
Né, le 1^{er} mai 1977 à SAINT-MARTIN-D'HERES (Isère)

Directeur de thèse : Monsieur le Professeur Hervé LEFEBVRE

JURY

PRESIDENT :
M. Daniel RIVIERE

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEUR :
M. Hervé LEFEBVRE
M. Olivier DOSSIN

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE
Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

ADAPTATIONS MORPHOLOGIQUE, FONCTIONNELLE ET METABOLIQUE DU MUSCLE CARDIAQUE DE JEUNES RATS SOUMIS A UNE HYPOXIE NORMOBARE DE TROIS JOURS

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement en 2004
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

François-Guillaume SAULNIER-TROFF
Né, le 1^{er} mai 1977 à SAINT-MARTIN-D'HERES (Isère)

Directeur de thèse : **Monsieur le Professeur Hervé LEFEBVRE**

JURY

PRESIDENT :
M. Daniel RIVIERE

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEUR :
M. Hervé LEFEBVRE
M. Olivier DOSSIN

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE
Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

MINISTERE DE L'AGRICULTURE ET DE LA PECHE
ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

Directeur	: M.	P. DESNOYERS
Directeurs honoraires.....	: M.	R. FLORIO
	M.	J. FERNEY
	M.	G. VAN HAVERBEKE
Professeurs honoraires.....	: M.	A. BRIZARD
	M.	L. FALIU
	M.	C. LABIE
	M.	C. PAVAUX
	M.	F. LESCURE
	M.	A. RICO
	M.	A. CAZIEUX
	Mme	V. BURGAT
	M.	D. GRIESS
	M.	J. CHANTAL
	M.	J.-F. GUELF

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

- M. **CABANIE Paul**, *Histologie, Anatomie pathologique*
- M. **DARRE Roland**, *Productions animales*
- M. **DORCHIES Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
- M. **TOUTAIN Pierre-Louis**, *Physiologie et Thérapeutique*

PROFESSEURS 1^{ère} CLASSE

- M. **AUTEFAGE André**, *Pathologie chirurgicale*
- M. **BODIN ROZAT DE MANDRES NEGRE Guy**, *Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie*
- M. **BRAUN Jean-Pierre**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
- M. **DELVERDIER Maxence**, *Histologie, Anatomie pathologique*
- M. **EECKHOUTTE Michel**, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*
- M. **EUZEBY Jean**, *Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie*
- M. **FRANC Michel**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
- M. **MARTINEAU Guy-Pierre**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour*
- M. **MILON Alain**, *Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie*
- M. **PETIT Claude**, *Pharmacie et Toxicologie*
- M. **REGNIER Alain**, *Physiopathologie oculaire*
- M. **SAUTET Jean**, *Anatomie*
- M. **SCHELCHER François**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour*

PROFESSEURS 2^e CLASSE

- Mme **BENARD Geneviève**, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*
- M. **BERTHELOT Xavier**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, Statistiques, Modélisation*
- M. **CORPET Denis**, *Science de l'Aliment et Technologies dans les industries agro-alimentaires*
- M. **DUCOS DE LAHITTE Jacques**, *Parasitologie et Maladies parasitaires*
- M. **ENJALBERT Francis**, *Alimentation*
- M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
- Mme **KOLF-CLAUW Martine**, *Pharmacie -Toxicologie*
- M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et Thérapeutique*
- M. **LIGNEREUX Yves**, *Anatomie*
- M. **PICAVET Dominique**, *Pathologie infectieuse*

PROFESSEUR ASSOCIE

- M. **HENROTEAUX Marc**, *Médecine des carnivores*

INGENIEUR DE RECHERCHES

- M. **TAMZALI Youssef**, *Responsable Clinique équine*

PROFESSEURS CERTIFIES DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE

- Mme **MICHAUD Françoise**, *Professeur d'Anglais*
M. **SEVERAC Benoît**, *Professeur d'Anglais*

MAITRE DE CONFERENCES HORS CLASSE

- M. **JOUGLAR Jean-Yves**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour*

MAITRE DE CONFERENCES CLASSE NORMALE

- M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*
M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*
M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la Reproduction*
M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*
Mme **BOUCRAUT-BARALON Corine**, *Pathologie infectieuse*
Mlle **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*
Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, Anatomie pathologique*
M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Physiologie et Thérapeutique*
Mme **BRET-BENNIS Lydie**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*
Mlle **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie*
Mme **CAMUS-BOUCLAINVILLE Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*
Mme **COLLARD-MEYNAUD Patricia**, *Pathologie chirurgicale*
Mlle **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
M. **DUCOS Alain**, *Zootecnie*
M. **DOSSIN Olivier**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie du bétail*
Mme **GAYRARD-TROY Véronique**, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*
M. **GUERIN Jean-Luc**, *Productions animales*
Mme **HAGEN-PICARD Nicole**, *Pathologie de la Reproduction*
M. **JACQUIET Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et Mathématiques*
M. **MARENDA Marc**, *Pathologie de la reproduction*
M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*
Mme **MESSUD-PETIT Frédérique**, *Pathologie infectieuse*
M. **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants*
M. **MONNEREAU Laurent**, *Anatomie, Embryologie*
Mme **PRIYMENKO Nathalie**, *Alimentation*
Mme **RAYMOND-LETRON Isabelle**, *Anatomie pathologique*
M. **SANS Pierre**, *Productions animales*
Mlle **TRUMEL Catherine**, *Pathologie médicale des Equidés et Carnivores*
M. **VALARCHER Jean-François**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour*
M. **VERWAERDE Patrick**, *Anesthésie, Réanimation*

MAITRES DE CONFERENCES CONTRACTUELS

- M. **CASSARD Hervé**, *Pathologie du bétail*
N. **DESMAIZIERES Louis-Marie**, *Clinique équine*
M. **LEON Olivier**, *Elevage et santé en productions avicoles et porcines*

MAITRE DE CONFERENCES ASSOCIE

- M. **REYNOLDS Brice**, *Pathologie médicale des Equidés et Carnivores*

ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS

- M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*
Mlle **LACROUX Caroline**, *Anatomie pathologique des animaux de rente*
Mme **MEYNADIER-TROEGELER Annabelle**, *Alimentation*
M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, Imagerie médicale*
Mlle **PALIERNE Sophie**, *Chirurgie des animaux de compagnie*

A NOTRE JURY DE THESE :

A Monsieur le Professeur Daniel RIVIERE

Professeur des Universités

Praticien hospitalier

Physiologie

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse.

Hommage respectueux

A Monsieur le Professeur Hervé LEFEBVRE

Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Physiologie et Thérapeutique

Je mesure l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de nous encadrer dans la rédaction de ce travail. Nous le remercions pour sa disponibilité, son regard critique et pour ses conseils avisés pour notre projet scolaire et surtout extrascolaire. Pour toutes ces discussions qui nous auront permis d'élargir notre vision sur notre travail et sur nous-même, qu'il trouve ici l'expression de notre profonde considération.

A Monsieur le Docteur Olivier DOSSIN

Maître de Conférences de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Pathologie médicale des équidés et des carnivores

Qui nous a fait l'honneur de siéger dans notre jury de thèse.

Qu'il veuille bien accepter le témoignage de notre profond respect.

Ce travail, initié en 1999, a été réalisé au laboratoire de Bioénergétique Fondamentale et Appliquée de l'université Joseph Fourier de Grenoble, sous la direction scientifique du Professeur André ROSSI.

Avant toute chose, je tiens à le remercier de m'avoir accueilli au sein de son équipe, faisant preuve d'une grande confiance mais surtout d'une très grande patience à me faire profiter de ses connaissances. Je lui suis très reconnaissant pour son regard attentif sur l'évolution de mes travaux et pour ses qualités humaines, sans lesquelles le projet n'aurait jamais vu le jour.

J'exprime toute ma gratitude à madame Monique VERDYS qui a su me transmettre un petit peu de son savoir dans l'utilisation du matériel et la réalisation de dosages enzymatiques. Ses compétences et sa patience m'auront été d'un grand secours.

Je dédicace cet ouvrage à mes parents. Ce travail est avant tout l'aboutissement d'une vie d'étudiant, vie faite de hauts et de bas parfois, mais bercée à chaque instant par leurs encouragements et leur réconfort.

A Solange et Titoune pour leur amour sans faille.

A Jean-Baptiste parce qu'il est bien plus qu'un père, un modèle...

Un grand merci à Virginie qui partage ma vie, pour l'amour dont elle m'entoure, pour son aide et ses encouragements de chaque instant, pour sa patience sans faille à l'égard de mon hystérie créatrice et pour le soir où, toute belge qu'elle est, elle m'a dit: « Passe ta thèse d'abord ! ».

A mon Astuce, pour sa joie de vivre et sa présence, à mes pieds durant ces longues et froides journées d'hiver passées à travailler.

A tous mes amis cassouls, ma famille d'adoption Alexis, Yougz, Charles, Canari, Ponpon, LXH, Féverine, Sissou, Julien, Lulu et tous les autres. J'ai passé des années merveilleuses à vos côtés. O Toulouse... je reste bercé par ta chaleur, par tes rues animées, tes bords de Garonne ensoleillés, tes nuits ... Et puis à tonton Gouffé, sans qui cette famille n'aurait pas arboré un si joli album de souvenirs.

A ma chemise « mauvais goût »...et au rugby !

TABLE DES MATIERES

<u>TABLES DES MATIERES</u>	7
---	---

INTRODUCTION

I/ Intérêt de l'étude de l'hypoxie chronique	11
---	----

II/ Qu'est-ce que l'hypoxie ?	12
--	----

III/ Situations d'hypoxie physiologique et pathologique connues en médecine humaine et vétérinaire	13
---	----

A/ Situations d'hypoxie physiologique	13
---	----

B/ Hypoxie pathologique en médecine vétérinaire	15
---	----

IV/ Adaptation à l'hypoxie	15
---	----

A/ Adaptations pour une oxygénation préservée des cellules	16
--	----

1. La régulation de la ventilation
2. Adaptations au niveau du sang
3. Réseau circulatoire et capillaire

B/ Les réponses de l'organisme à l'hypoxie	19
--	----

1. Effet de l'hypoxie sur la prise alimentaire et l'utilisation digestive
 - 1.1. Anorexie
 - 1.2. L'utilisation digestive des nutriments
2. Conséquences fonctionnelles et structurales au niveau du cœur
 - 2.1. Adaptation fonctionnelle du cœur à l'hypoxie
 - 2.2. Adaptation histologique du cœur à l'hypoxie

C/ Le métabolisme cardiaque en normoxie et en hypoxie chronique	21
---	----

1. Métabolisme énergétique cardiaque en normoxie
2. Enzymes-clé étudiées dans notre travail et leur rôle dans le cœur en normoxie
 - 2.1. Rôle de la lactate déshydrogénase

- 2.2. Rôle de l'hexokinase
- 2.3. Rôle de la β -hydroxy-acyl-CoA déshydrogénase
- 3. Le métabolisme myocardique en hypoxie chronique
 - 3.1. Les répercussions de l'hypoxie sur le métabolisme myocardique
 - 3.2. Comportement des enzymes-clés en hypoxie chronique
 - 3.2.1. *LDH*
 - 3.2.2. *HAD et métabolisme des acides gras*
 - 3.2.3. *Hexokinase et glycolyse anaérobie*

V/ Schéma récapitulatif du métabolisme énergétique	28
---	----

MATERIELS ET METHODES

I/ Animaux, lots expérimentaux et cage d'hypoxie	30
II/ Prélèvement et conditionnement des échantillons de tissus	32
III/ Méthodes de mesure des activités enzymatiques	32
A/ Dosage de la β -Hydroxy-Acyl-CoA deshydrogénase (HAD)	32
B/ Dosage de la lactate deshydrogénase (LDH)	33
C/ Dosage de l'hexokinase	34
IV/ Séparation et quantification des isoformes de la LDH	36
V/ Statistiques	36

RESULTATS

I/ Le modèle expérimental d'hypoxie : conséquences sur la croissance des animaux, l'érythropoïèse et le poids du cœur	38
A/ Evolution de la masse corporelle des rats au cours de l'exposition à l'hypoxie	38
B/ Evolution des valeurs d'hématocrite	40
C/ Conséquences de l'exposition à l'hypoxie sur la morphologie cardiaque	40

II/ Le métabolisme énergétique du muscle cardiaque en hypoxie chronique	42
A/ Mesure des activités de la LDH, de l'HK et de la HAD des cellules cardiaques	43
B/ Proportions relatives des isoenzymes de la LDH	44

DISCUSSION

I/ Le modèle expérimental d'hypoxie	48
II/ Le modèle de restriction alimentaire	49
III/ Effet de l'hypoxie et de la restriction alimentaire sur l'hématocrite	51
IV/ Les caractéristiques morphologiques cardiaques droite et gauche en hypoxie chronique	52
A/ La masse ventriculaire droite	52
B/ La masse ventriculaire gauche	53
C/ Comparaison de nos résultats aux études antérieures menées sur trois semaines d'hypoxie.....	54
V/ Adaptations métaboliques à l'hypoxie chronique	55
A/ Adaptation des enzymes à l'hypoxie au sein des cellules myocardiques	55
B/ Changements de composition de la lactate déshydrogénase	55

<u>CONCLUSION</u>	57
--------------------------------	----

BIBLIOGRAPHIE	58
----------------------------	----

ANNEXES	63
----------------------	----

INTRODUCTION

I/ Intérêt de l'étude de l'hypoxie chronique :

La cellule nécessite un approvisionnement constant en intermédiaires énergétiques pour accomplir ses activités consommatrices en énergie, notamment la synthèse des protéines, le transport actif, la division cellulaire et le mouvement. Tous les organismes peuvent fabriquer des intermédiaires énergétiques, comme l'ATP, en dégradant des molécules organiques. La dégradation des nutriments, qui permet d'en libérer l'énergie, se réalise grâce à deux mécanismes: la respiration cellulaire et la fermentation.

Les **Procaryotes** jouissent originellement de deux mécanismes d'approvisionnement en ATP :

- l'un correspond à un métabolisme non oxydatif que l'on nomme *la fermentation*, qui est peu efficace, mais qui est bien adapté à une atmosphère pauvre en oxygène. Au cours de cette dégradation de molécules nutritives, l'accepteur d'électrons, de même que les produits finaux, sont des molécules organiques.
- l'autre voie de synthèse d'ATP, *la respiration cellulaire*, consiste à oxyder par étapes successives des molécules nutritives en utilisant une substance inorganique comme accepteur final d'électrons. La respiration cellulaire est généralement aérobie et c'est l'oxygène moléculaire, O₂, qui sert d'accepteur final dans la chaîne respiratoire. Cette oxydation par étapes successives et contrôlées permet de libérer progressivement une petite quantité d'énergie à chaque étape et de l'emmagasiner dans des intermédiaires énergétiques. Au final, cette voie fournit 18 fois plus d'ATP que la fermentation.

Ainsi, selon la quantité d'O₂ disponible dans le milieu, l'un ou l'autre des métabolismes peut être activé.

Les **Eucaryotes**, quant à eux, sont totalement dépendants de l'apport en oxygène. Placé dans un milieu déficient en O₂, l'organisme doit, pour assurer sa survie, subir un certain nombre de mécanismes adaptatifs. Parce que l'homme a de tous temps cherché à dépasser ses propres limites, en franchissant les plus hauts sommets, cette capacité d'adaptation de l'organisme confronté à une diminution de l'O₂ atmosphérique a toujours revêtu un grand intérêt dans le cadre de la physiologie fondamentale ou sportive. Par ailleurs, certaines pathologies étant susceptibles de simuler ces conditions d'hypoxie environnementale, la compréhension des stratégies cellulaires mises en place a fait l'objet de nombreux travaux en médecine vétérinaire ou humaine.

L'objet de notre travail est l'étude des modifications morphologiques, fonctionnelles et métaboliques au sein du muscle cardiaque de rats adultes soumis à une *hypoxie normobare* (FO₂ = 10%) de 3 jours. Notre intérêt s'est porté sur cet organe car il s'agit d'un muscle typiquement oxydatif ayant une activité contractile continue, et dans lequel les mécanismes adaptatifs doivent nécessairement se mettre en place plus rapidement pour permettre l'oxygénation de l'animal. Ce travail mis en route en 1999 s'insère dans l'ensemble des recherches consacrées aux effets de l'hypoxie chronique sur le métabolisme du myocarde menées par l'équipe du Professeur André Rossi au sein du laboratoire de Bioénergétique Fondamentale et Appliquée. Il se présente en 4 parties :

- la première est une introduction générale à l'hypoxie, des rappels sur les connaissances actuelles en matière de métabolisme du myocarde et sur les effets globaux de l'hypoxie sur le cœur et sur l'organisme;
- la deuxième partie présente les méthodes utilisées. Nous y aborderons le conditionnement des animaux, les protocoles expérimentaux, les techniques de dosage enzymatique ainsi que le traitement statistique des résultats obtenus;
- dans la troisième partie sont présentés l'ensemble des résultats obtenus au cours de ce travail ;
- enfin la quatrième partie est consacrée à une discussion des résultats obtenus lors de notre étude sur 3 jours, en les confrontant aux études précédentes réalisées sur des périodes plus longues.

Après une bibliographie générale, des annexes regroupent l'ensemble des résultats expérimentaux numériques, ainsi que la composition de certaines solutions utiles aux dosages réalisés.

Avant toute chose, il semble indispensable de définir le terme d'hypoxie.

II/ Qu'est-ce-que l'hypoxie ?

L'« hypoxie » telle que nous la traitons ici correspond à une pression partielle en oxygène dans le milieu ambiant inférieure aux valeurs observées dans les milieux habités par l'homme. C'est une situation de déficience d'apport en oxygène. Le terme d'hypoxie est également utilisé pour qualifier une baisse de la pression d'oxygène au niveau sanguin (on parle alors plutôt d'*hypoxémie*) et cellulaire (*dysoxie*). Il s'agit pourtant de trois situations bien distinctes, puisque la diminution de pression partielle en oxygène ne se répercute pas nécessairement directement au niveau sanguin et cellulaire jusqu'à limiter la phosphorylation oxydative et le flux d'ATP mitochondrial. Seule une diminution importante de la pression partielle en O₂ peut aboutir à une diminution de la production mitochondriale d'ATP, la cellule sera alors en déficit d'oxygène ou dysoxie. Nous le verrons par la suite, nombre de mécanismes adaptatifs se mettront en place à l'échelle de l'organisme et de la cellule pour éviter celle-ci.

Jones et coll (1985) ont défini l'hypoxie dans les conditions cliniques comme correspondant à une PO₂ artérielle inférieure à 75 Torr. Leurs travaux ont également montré qu'une PO₂ artérielle comprise entre 50 et 75 Torr constituait une hypoxie *irréversible*. En étudiant les répercussions à l'échelle cellulaire du point de vue quantitatif et qualitatif, ils ont permis de définir deux sortes d'hypoxie: une hypoxie *modérée*, à caractère réversible, et entraînant en une augmentation de la glycolyse, et une hypoxie *sévère*, à caractère irréversible, se traduisant par une diminution notable de la respiration mitochondriale.

Outre cette classification clinique de l'hypoxie, on peut également distinguer deux types d'hypoxie selon les modalités d'apparition de celle-ci: l'*hypoxie aiguë* qui correspond à une forte diminution d'O₂ de courte durée et l'*hypoxie chronique* qui se prolonge de façon durable et moins intense. Ainsi, lors d'une hypoxie aiguë, l'organisme est placé en situation de « stress » et ses réponses sont rapides et de courte durée. L'hypoxie chronique, quant à elle, est à l'origine d'un ensemble de modifications physiologiques et biochimiques permettant une adaptation efficace et relativement rapide à l'environnement appauvri en O₂.

III/ Situations d'hypoxie physiologique et pathologique connues en médecines humaine et vétérinaire

A) Situations d'hypoxie physiologique

Ainsi que nous l'avons vu précédemment, l'hypoxie se rencontre physiologiquement chez des individus placés à une altitude élevée. Ainsi que le montre la courbe de la figure n°1 la pression partielle de l'oxygène dans l'air diminue rapidement avec l'altitude: à 5000m, elle est la moitié de ce qu'elle est au niveau de la mer et le tiers seulement au sommet de l'Everest (8848m).

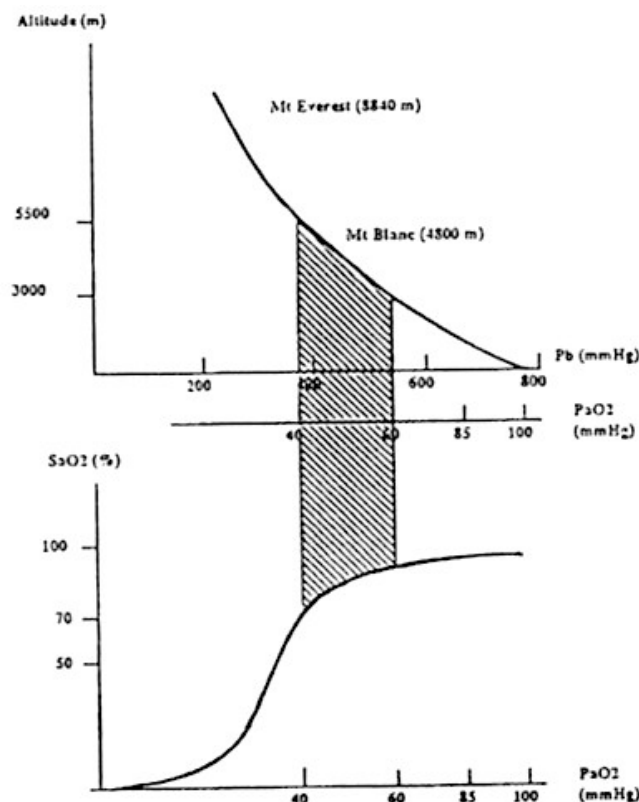


Fig n°1 : Relation pression barométrique-altitude (d'après Coudert 1996)

C'est précisément cette volonté de surmonter le « stress hypoxique » et d'atteindre les plus hauts sommets qui a motivé les premières expéditions scientifiques de haute altitude. La première expédition scientifique visant à comprendre les réactions à long terme de l'organisme en altitude fut montée par une équipe anglo-américaine, en 1960, au Népal, à une altitude de 5791m. Par ailleurs, le développement de l'alpinisme et de la randonnée dans les massifs andins et himalayens a conduit une population de plus en plus nombreuse à fréquenter la haute et très haute altitude. Ainsi, en 1978, deux alpinistes de haut niveau, Messner et Habeler, atteignirent le sommet le plus haut du monde sans apport artificiel d'oxygène. Pourtant, l'exposition aiguë de l'homme à une hypoxie aussi sévère, serait rapidement fatale. Cet exploit n'est possible qu'au prix d'un réajustement complexe de différentes fonctions physiologiques que nous aborderons par la suite.

Toutefois l'aptitude d'un organisme à s'« acclimater » à une situation d'hypoxie physiologique telle que l'altitude n'est pas strictement la même chez tous les individus, et

encore moins entre espèces. Ainsi, le rat supporte beaucoup mieux et le chien beaucoup plus mal l'altitude que l'Homme. Il faut ainsi garder un certain recul en observant un modèle animal, comme dans notre étude. Par ailleurs, au-delà de l'acclimatement à l'altitude d'individus de basse altitude, certaines populations vivant en haute altitude, telles que les populations andines et tibétaines sont soumises à une hypoxie chronique depuis leur naissance. L'existence chez ces populations de caractéristiques génétiques favorables à leur survie en hypoxie n'a jamais été démontrée, toutefois l'étude des animaux vivant en haute altitude peut fournir des données intéressantes. Le lama, animal vivant entre 4000 et 5000 mètres d'altitude, et l'oie cendrée de l'Himalaya, qui vole au cours de sa migration à des altitudes de plus de 8000 mètres ont fait l'objet de nombreuses recherches. Elles ont mis en évidence l'existence chez ces deux espèces d'une hémoglobine particulière dont l'affinité pour l'oxygène permet une meilleure oxygénation des tissus. La simple différence entre l'hémoglobine d'une oie « des plaines » et celle d'une oie cendrée de l'Himalaya peut lui faire économiser 20% de son débit cardiaque.

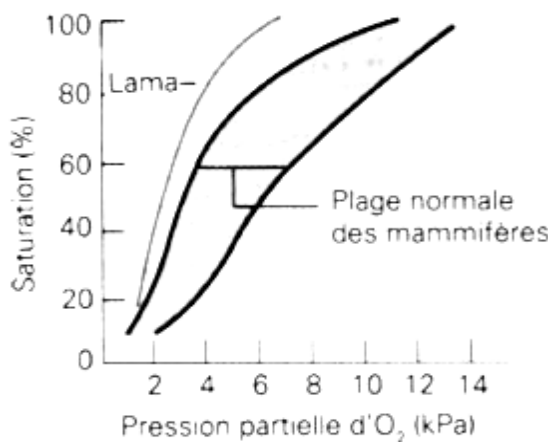


Fig n°2 : Courbe de dissociation de l'hémoglobine du lama de haute altitude comparée à celles des autres mammifères (d'après Arms et Camp. 1989).

Les sherpas de l'Himalaya semblent cependant bénéficier d'une adaptation génétique puisque, sans élévation de la concentration d'hémoglobine, ils sont capables de maintenir une oxygénation sanguine normale. Toutefois, cette adaptation est limitée car au-delà de 5000 mètres une acclimatation est nécessaire.

Une autre situation d'hypoxie physiologique que nous connaissons tous est celle du fœtus avant sa naissance. En effet, tout fœtus humain se trouve dans l'utérus maternel dans une situation d'hypoxie correspondant à 7000-8000 mètres d'altitude si on se réfère à la valeur de la PO_2 du sang fœtal. Sa résistance à une telle hypoxie résulte d'une plus grande affinité de son hémoglobine pour l'oxygène et d'une concentration en hémoglobine accrue.

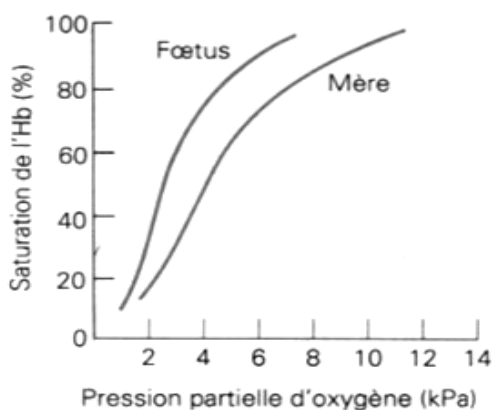


Fig n°3 : Courbe de dissociation de l'oxygène pour l'hémoglobine fœtale et maternelle chez les mammifères (d'après Arms et Camp. 1989).

B) Hypoxie pathologique en médecine vétérinaire

De nombreuses pathologies sont susceptibles d'entraîner une situation d'hypoxie. Il peut s'agir là encore d'hypoxie aiguë ou chronique, d'hypoxémie ou encore de dysoxie.

Les situations pathologiques d'*hypoxie aiguë* se retrouvent dans des conditions de privation en oxygène qui surviennent en cas d'insuffisance respiratoire aiguë comme l'œdème aigu du poumon, la thromboembolie pulmonaire, le syndrome asthmatiforme félin pour ne citer que ces exemples. Il peut s'agir d'une hypoventilation, d'une obstruction des voies respiratoires, d'une restriction du volume d'expansion pulmonaire, d'une diminution de la fonction ventilatoire (anesthésie, polyneuropathie, affection nerveuse centrale) ou encore d'un collapsus pulmonaire, toutes ces causes évoluant bien évidemment sur un mode aigu.

Les situations pathologiques d'*hypoxie chronique* peuvent rassembler les mêmes pathologies, évoluant cette fois sur un mode chronique, comme lors de bronchite chronique, de flaccidité trachéale, de syndrome d'obstruction des voies respiratoires supérieures des brachycéphales par exemple. L'insuffisant respiratoire chronique utilise les mêmes mécanismes que l'alpiniste pour tenter de limiter les effets néfastes du manque d'oxygène. Il fabrique un plus grand nombre de globules rouges pour améliorer la capacité de transport de l'oxygène. Un autre exemple d'hypoxie chronique connue en médecine vétérinaire sous le nom de « cœur pulmonaire » correspond à une hypertrophie et/ou à une dilatation du ventricule droit, exclusivement consécutive à l'évolution d'une affection respiratoire obstructive chronique (bronchite chronique, pneumopathie infiltrante restrictive, maladies respiratoires obstructives de l'appareil supérieur congénitales ou acquises). Les causes les plus souvent identifiées sont parasitaires, la dirofilariose ou l'angiostrongylose chez le chien ou l'aelurostrongylose du chat. La physiopathologie du « cœur pulmonaire » est bien documentée, cette cardiopathie s'explique par le développement d'une hypertension pulmonaire et une augmentation de la postcharge du ventricule droit. L'hypertension pulmonaire peut résulter d'une réduction anatomique du lit vasculaire (fibrose ou thromboembolie pulmonaire, affection pulmonaire chronique) et d'une vasoconstriction hypoxique majorée lors d'acidose métabolique ou respiratoire, ou d'une hyperviscosité sanguine. Cette cardiopathie acquise simule relativement bien les phénomènes observés lors de notre étude.

Enfin, à l'échelle des cellules, l'*anémie* consécutive à une processus auto-immun, une affection parasitaire, une insuffisance rénale chronique, une carence en fer ou une intoxication par exemple engendre une situation d'hypoxémie. De même des conditions de dysoxie peuvent survenir pour les cellules situées à proximité de zones ischémiques (zones d'infarctus par exemple), nécrotiques ou tumorales.

Cette liste non exhaustive de pathologies et de conditions d'hypoxie « physiologique » permet de mieux comprendre l'intérêt et les applications du travail expérimental effectué.

IV/ Adaptation à l'hypoxie

Nous l'avons vu précédemment, l'*hypoxie chronique* et les modifications adaptatives qu'elle induit ont été largement observées lors d'études antérieures. Il est désormais bien connu que ces modifications se font aussi bien aux niveaux sanguin, vasculaire, morphologique, métabolique et comportemental. Ainsi, afin de mieux comprendre ce que représente la situation d'hypoxie d'un point de vue physiologique et de préciser l'état

d'avancement des connaissances dans ce domaine, nous évoquerons dans une première partie les réponses induites à différents niveaux de l'organisme lors d'une raréfaction de l'O₂. Nous procéderons ensuite à la comparaison du métabolisme cardiaque en normoxie et en hypoxie chronique en nous focalisant sur les enzymes-clé que sont l'hexokinase, la lactate déshydrogénase et la β -hydroxy-acétyl CoA déshydrogénase.

Il a été clairement montré que l'adaptation à l'hypoxie était dépendante du temps et qu'elle se divisait en plusieurs phases :

- réponse à court terme : hypoxie aiguë ou stress hypoxique
- adaptation à moyen terme : acclimatation
- adaptation à long terme : « acclimatement »

(Banchemo 1987 ; Moret 1985)

A) Adaptations pour une oxygénation préservée des cellules :

Dans notre modèle nous étudierons plutôt l'*acclimatation* à l'hypoxie. Un certain nombre de modifications au niveau sanguin et vasculaire ont été décrites, plus ou moins rapides mais toujours liées à l'objectif suivant: assurer une fourniture d'O₂ aux cellules compatible avec les besoins métaboliques.

1. La régulation de la ventilation :

Les pressions d'oxygène et de dioxyde de carbone dans le sang des vertébrés doivent être continuellement ajustées pour demeurer à l'intérieur de certaines limites physiologiques (PaO₂ =85-100 mmHg ; PaCO₂ = 35-45 mmHg ; [HCO₃⁻] = 21-27 mmol/L; pH = 7,35-7,45 dans le sang artériel). Le débit ventilatoire est, en grande partie, responsable de ces ajustements. A mesure que le sang passe à travers les capillaires pulmonaires, les gaz sanguins se mettent en équilibre avec les gaz alvéolaires. Plus la fréquence ventilatoire est élevée, plus il y a d'oxygène dans l'air alvéolaire et moins il y a de dioxyde de carbone. L'inverse est vrai quand la fréquence respiratoire diminue. Ainsi, lors de situations d'hypoxie, les variations des pressions d'O₂ et de CO₂ présentes dans le sang artériel et le liquide céphalorachidien sont détectées par des chémorécepteurs spécifiques (glomus carotidien) qui envoient des messages aux centres nerveux, lesquels organisent des réponses motrices du diaphragme et des muscles intercostaux pour faire augmenter ou diminuer le débit ventilatoire. Ce mécanisme régulateur est valable pour l'hypoxie d'altitude, mais également lors d'hypoxémie liée à un exercice physique. Toutefois, lors d'hypoxie d'altitude, le mécanisme ventilatoire est également affecté par la diminution de la densité de l'air qui se traduit par une diminution du travail ventilatoire et une diminution de la résistance à l'écoulement de l'air. L'organisme ventile plus, mais cette ventilation demeure moins efficace. Cette régulation de la ventilation se produit durant la phase dite d' « accommodation » qui peut durer les deux ou trois premiers jours d'hypoxie chez l'homme et qui accompagne l'augmentation du rythme cardiaque, mais elle est très coûteuse en énergie. Après cette première phase d' « accommodation » se développent des mécanismes plus économiques et plus efficaces, au-delà de 21 jours chez l'homme. La polypnée et la tachycardie ne permettant pas de compenser la baisse de saturation du sang en oxygène, il demeure une réduction globale des capacités de transport de l'oxygène qui dépasse 15% à partir de 4000 mètres (Grandjean et coll. 1996).

2. Adaptations au niveau du sang :

Chez les sujets soumis à une hypoxie chronique, divers types d'adaptations ont été observés au niveau du système sanguin :

- chez les sujets **natifs de basse altitude**, on observe une polyglobulie, donc une augmentation accrue de globules rouges afin d'augmenter la capacité de transport de l'O₂ par le sang et d'alléger les phénomènes d'hyperventilation et de tachycardie qui se mettent en place précocement, mais qui sont très coûteux en énergie (Richalet et Rathat 1990). Cette polyglobulie s'explique par une synthèse accrue d'érythropoïétine, hormone impliquée dans la production des globules rouges. En réponse à une diminution de la PO₂ tissulaire, la synthèse de l'hormone est induite au niveau des cellules rénales. Chez le rat adulte, on note par ailleurs l'existence d'un autre site de production de l'érythropoïétine, très faible, au niveau du foie, mais qui joue un rôle important chez le fœtus ou en situation d'hypoxie. La baisse de pression en oxygène au niveau des cellules de la zone péri-tubulaire serait le stimulus responsable de l'augmentation de la transcription du gène codant pour cette hormone (Goldberg et coll., 1988) multipliant la production de celle-ci par mille. L'hormone produite agit sur les cellules érythroïdes pour prolonger leur durée de vie et stimuler leur prolifération.

La polyglobulie est un phénomène également bien connu chez les sportifs de haut niveau. Ainsi, une situation d'hypoxémie reproduite régulièrement lors d'exercices physiques serait déjà à l'origine d'une adaptation systémique à une demande en oxygène accrue et fréquente.

On note toutefois que malgré cette polyglobulie, le maintien d'une PO₂ capillaire normale n'est pas assuré (Martin et coll., 1993). Longmuir (1987) a montré que malgré une augmentation linéaire de la capacité de transport avec l'hématocrite, la viscosité du sang augmentant quant à elle de façon exponentielle, la perfusion tissulaire diminue. Ce mécanisme adaptatif est parfois à l'origine d'une maladie décrite par Monge en 1929 chez des populations andines, se traduisant par une hyperviscosité sanguine, une hypertension artérielle et une insuffisance cardiaque mortelle. Ainsi, malgré tous les mécanismes adaptatifs, la diminution de la PO₂ tissulaire à 6000 mètres demeure de 40%.

Enfin, l'hypoxie serait responsable d'une diminution de l'affinité de l'hémoglobine pour l'oxygène, donc d'une libération facilitée au niveau des cellules. En effet, le degré de dissociation de l'oxyhémoglobine n'est pas seulement fonction de la pression d'oxygène, il est également grandement influencé par la PCO₂ et le pH sanguin. Ainsi, l'oxyhémoglobine perd de l'oxygène plus rapidement en milieu acide. Dans des conditions d'hypoxie ou d'hypoxémie, de grandes quantités de dioxyde de carbone et d'acide lactique sont produites, le pH du sang au niveau tissulaire devient plus acide et l'hémoglobine libère de plus grandes quantités d'oxygène. Lors d'hypoxie, la polypnée induite dans les premiers jours se traduit par une alcalose respiratoire qui sera peu à peu compensée par l'élimination rénale des bicarbonates en excès, il s'ensuit une acidose métabolique, facilitant la libération d'oxygène au niveau des tissus.

- Ces phénomènes adaptatifs sont différents chez les sujets **natifs de haute altitude**. Moore et coll. (1992) ont observé que les sherpas de haute altitude ne montrent pas de variation des paramètres hématologiques et ont une affinité plus forte de l'hémoglobine pour l'O₂. Cela s'expliquerait par une meilleure adaptation génétique. Ceci tendrait à démontrer qu'il existe pour chaque population vivant dans un milieu donné une variété d'hémoglobine précise, dont la pression de charge (pression qui sature complètement l'hémoglobine) se situe bien en-dessous de la plus faible pression d'oxygène habituellement présente, lui permettant dans tous les cas de se saturer dans le milieu où

la population peut vivre. Une augmentation de l'affinité de l'hémoglobine pour l'oxygène a également été rapportée chez certaines espèces animales, dont les lamas et les oies cendrées de l'Himalaya. En changeant de milieu, les propriétés de l'hémoglobine peuvent même changer, c'est le cas du fœtus humain, qui produit une hémoglobine fœtale ayant une pression de charge inférieure à l'hémoglobine maternelle et lui permettant de prélever une quantité d'oxygène suffisante. Après la naissance, cette hémoglobine fœtale sera remplacée graduellement par l'hémoglobine adulte.

3. Réseau circulatoire et capillaire :

Dans des conditions d'hypoxie chronique, l'accessibilité de l'oxygène aux cellules pourrait également être facilitée par une augmentation de la densité capillaire au sein des tissus. Si l'augmentation du réseau capillaire myocardique a été démontrée expérimentalement, nous le verrons dans les chapitres suivant, l'effet de l'hypoxie sur les muscles squelettiques est quant à lui sujet à controverses. En effet, Hoppeler (1990) a montré que l'augmentation de la densité capillaire enregistrée lors de ses travaux n'était pas due à une néoformation de capillaires, mais plutôt à une diminution de la surface des fibres musculaires consécutive à un changement comportemental nutritionnel en hypoxie se traduisant par de l'anorexie.

Toutefois les études menées sur les populations exposées de façon permanente à l'hypoxie, comme les sherpas, ont montré qu'ils possédaient des caractéristiques histologiques particulières. Le réseau capillaire au contact des fibres musculaires est plus important et le transport d'oxygène plus efficace (Kayser et coll. 1991).

En ce qui concerne l'appareil pulmonaire, les poumons d'un enfant qui naît et qui grandit dans ces hauteurs possèdent plus d'alvéoles et de vaisseaux sanguins que ceux d'un enfant vivant en basse altitude. Plus encore que le nombre des vaisseaux, les caractéristiques histologiques de cette vascularisation pulmonaire changent également. Les études de Heath et coll. (1981) menées sur des rongeurs de haute altitude (*Lagidium peruanum*) de la famille des chinchillas, ont mis en évidence les différences entre des populations « acclimatées à l'altitude », telles que les indiens quechuas ou des animaux de rente grandissant en haute altitude, et des animaux « adaptés » au sens darwinien du terme tels que le *Lagidium*. Les premiers réagissent à l'hypoxie chronique par une vasoconstriction de la circulation pulmonaire à l'origine d'une hypertension pulmonaire et d'un épaississement des fibres musculaires des portions terminales de l'arbre respiratoire. Ce mécanisme, nous l'avons vu, a des répercussions cardiaques néfastes à long terme. Les seconds ne reproduisent pas le même mécanisme, les artères pulmonaires musculaires et élastiques restent fines et il semble impossible de distinguer de couche musculaire dans l'épaisseur des artérioles pulmonaires. Ainsi, l'épaisseur moyenne de la media des artères pulmonaires est d'approximativement 5% du diamètre externe de celles-ci chez le *Lagidium* tandis qu'elle atteint 9% chez le chien et le chat ou 12 % chez les animaux de rente élevés en altitude. Les mêmes adaptations se retrouvent chez d'autres espèces indigènes telles que le lama ou l'alpaca qui ne semblent pas développer d'hypertension pulmonaire. En outre, chez des rats Wistar de même souche que ceux de notre travail, exposés à une altitude simulée de 5500 mètres pendant 33 jours, la media des artères pulmonaires atteint 8,3% au lieu de 5,2% avant exposition. Par ailleurs, les auteurs Abraham et coll. (1971) ont noté une « musculation » des artérioles pulmonaires terminales.

B) Les réponses de l'organisme à l'hypoxie :

1. Effet de l'hypoxie sur la prise alimentaire et l'utilisation digestive :

1.1. Anorexie :

L'acclimatation à un environnement hypoxique est à l'origine d'une baisse de la consommation d'aliment et d'eau. Ce phénomène d'anorexie et la diminution de poids corporel qui en découle ont été observés chez le cobaye (Barrie et Harris, 1976) et le rat sur de longues périodes d'exposition à l'hypoxie. L'intensité du phénomène est proportionnelle au degré de l'hypoxie (Koob et coll., 1974). En revanche, l'anorexie n'est pas permanente, ainsi Mager et coll. (1968) ont pu observer une atténuation du phénomène après 45 jours. Enfin, chez les rats juvéniles en croissance, Koob (1974) a montré un ralentissement de la croissance.

La restriction alimentaire chronique qui en découle serait à l'origine d'une atrophie musculaire par diminution du contenu musculaire en protéines, eau, lipides, ADN, ARN et glycogène (Heymsfield et coll., 1982). Elle serait en outre à l'origine d'un remodelage structural majeur du myocarde et d'une altération profonde des enzymes-clé de son métabolisme énergétique que nous détaillerons par la suite. Enfin, d'autres expériences ont montré des répercussions métaboliques et structurales majeures dans les muscles squelettiques.

L'origine de cette baisse de la consommation alimentaire n'est pas bien connue. Hadaad et coll. (1993) ont mis en évidence une diminution de l'activité du système nerveux sympathique et de la concentration sanguine en hormones thyroïdiennes, qui sont impliquées dans la régulation du métabolisme basal. Mais la baisse du taux d'hormones thyroïdiennes associée à l'hyporexie reste controversée. Par ailleurs, Koob et coll. ont démontré qu'une sympathectomie et une adrénalectomie de rats exposés à 10% d'oxygène ramènent la consommation à une valeur identique à celle des témoins. Ils ont fait l'hypothèse que la voie diencephalique à l'origine de la sensation de faim et de soif pouvait être affectée par la baisse de la pression en oxygène. Cette hypothèse est confortée par les expériences de Koob et Annau (1974) rapportant une altération du métabolisme des catécholamines dans le système nerveux central, hormones dont on sait le rôle majeur dans le contrôle central et la régulation de l'attitude nutritionnelle. Les mêmes auteurs ont par ailleurs évoqué des modifications des profils enzymatiques hépatiques comme cause de l'anorexie.

1.2. L'utilisation digestive des nutriments :

La diminution du poids corporel consiste principalement en une perte de masse musculaire et lipidique qui est liée à une moins bonne utilisation digestive des aliments. Ainsi Kenneth et coll (1969) ont montré que la motilité intestinale et la densité intestinale des transporteurs de glucose diminuaient de façon inversement proportionnelle à l'altitude. Par ailleurs, les expériences de Bigard et coll. (1966) ont révélé chez les hypoxiques anorexiques une baisse de l'insulinémie et du glycogène hépatique. La digestion et l'absorption des protéines et des acides gras est, elle aussi, altérée en haute altitude. On a pu constater une diminution de l'utilisation digestive des acides aminés et des carbohydrates de 60 % chez les hypoxiques par rapport aux témoins (Moret, 1985). Ainsi, les cellules intestinales soumises au stress hypoxique souffrent de nombreux dysfonctionnements: le blocage du cycle de Krebs et de la chaîne respiratoire au niveau mitochondrial entraîne un déficit en ATP, lequel est

indispensable aux transports actifs membranaires. L'altération globale de la structure cellulaire empêche par ailleurs la régulation des échanges calciques, le calcium intervenant lui aussi de façon prépondérante dans les échanges (Grandjean et coll. 1997).

2. Conséquences fonctionnelles et structurales au niveau du cœur :

Le cœur est un organe particulièrement sensible à une situation d'hypoxie. Lorsque le milieu est déficient en oxygène, il est le siège de nombreuses modifications au niveau fonctionnel, histologique et métabolique.

2.1. Adaptation fonctionnelle du cœur à l'hypoxie

Dans les premières heures d'hypoxie, la quantité d'oxygène dans l'air ambiant étant insuffisante, l'organisme est le siège d'un certain nombre d'adaptations. Dans le sang, les chémorécepteurs réagissent rapidement aux variations de la PO_2 et informent les centres nerveux contrôlant la respiration et le rythme cardiaque. Il en résulte l'hyperventilation et la tachycardie. Cette « accommodation » dure quelques heures à quelques jours. Une réponse insuffisante des chémorécepteurs a été décrite chez l'homme et rend le sujet atteint beaucoup plus sensible à l'altitude. Lors d'hypoxie chronique ces phénomènes compensatoires sont absents. Si l'exposition à une hypoxie aiguë est génératrice de nombreux troubles sur le plan ionique et mécanique, en même temps que des augmentations de la fréquence et du débit cardiaques, un cœur en hypoxie chronique ne semble, en revanche, pas souffrir car un certain nombre de mécanismes compensatoires « plus économiques » se sont mis en place. La fonction contractile est préservée, on note même une faible augmentation de la fraction d'éjection. Le cœur en hypoxie chronique serait un muscle β -bloqué, la réponse adrénergique du cœur étant diminuée lors d'un exercice maximal, ainsi que la fréquence et le débit cardiaques, afin de pallier à une insuffisance cardiaque par dépense excessive d'énergie (Richalet, 1994).

2.2. Adaptation histologique du cœur à l'hypoxie

L'acclimatation à l'hypoxie se traduit très rapidement par une vasoconstriction des artérioles pulmonaires, phénomène que l'on peut également observer dans des cas pathologiques comme une insuffisance respiratoire. Cette vasoconstriction consiste en un épaississement pariétal et un rétrécissement de la lumière des artérioles à l'origine d'une hypertension pulmonaire. C'est cette hypertension pulmonaire qui, par la surcharge de travail qu'elle occasionne au niveau du ventricule droit, provoque l'hypertrophie ventriculaire droite. Le poids frais et le poids sec augmentent. On peut observer une prolifération de tissu interstitiel et une forte synthèse protéique, mais toutes les modifications biochimiques sont réversibles si l'exposition à l'hypoxie n'est pas prolongée au-delà de deux semaines.

Autre adaptation histologique, l'hypoxie semble également avoir des conséquences sur le réseau capillaire myocardique, mais le doute persiste en raison de la difficulté des mesures et de la spécificité d'organe et d'espèce observées. Kayar et Banchemo (1985) ont rapporté une augmentation de la densité capillaire et du rapport [nombre de capillaires / nombre de fibres] ainsi qu'une diminution de la distance de diffusion de l' O_2 chez le cobaye. Cette modification de la capillarisation n'étant pas observée au niveau des muscles squelettiques et étant retrouvée sur le ventricule gauche non hypertrophié et le ventricule droit hypertrophié, ces auteurs ont conclu qu'elle était nécessaire à une performance normale du ventricule en hypoxie et n'était pas due à l'hypertrophie.

Par ailleurs, l'O₂ a été décrit comme responsable de l'activation ou de l'inhibition de la transcription de certains gènes (Gleadle et coll., 1995) et pourrait être à l'origine de modifications profondes du phénotype cellulaire.

Des modifications dans les composants cellulaires peuvent également intervenir :

- dans la composition des protéines du cytosquelette (Van Winkle et coll., 1995)
- au niveau de protéines contractiles comme la myosine β (Pelouch et coll., 1985).
- dans le nombre et la taille des mitochondries. Le cœur en conditions d'hypoxie chronique contient un équipement mitochondrial plus important en nombre, plus petit en taille, avec une distribution plus homogène. Costa et coll. (1988) y voit une adaptation du cœur le rendant moins sensible à l'hypoxie. Toutefois ces résultats demeurent encore très controversés.

Enfin, on peut simplement noter que, comparativement à d'autres espèces, le rat est exceptionnellement résistant à l'hypoxie et que les remaniements de l'ultrastructure cellulaire restent modérés.

C) Le métabolisme cardiaque en normoxie et en hypoxie chronique:

Notre intérêt s'est porté sur le muscle cardiaque, car il s'agit d'un muscle typiquement oxydatif, particulièrement sensible à un environnement hypoxique et qui régule son métabolisme de façon très caractéristique. Afin de mieux comprendre les répercussions d'un milieu déficient en O₂ sur cet organe, nous nous proposons tout d'abord de rappeler les principales caractéristiques du métabolisme énergétique cardiaque en normoxie, puis notre attention se portera plus particulièrement sur les enzymes qui ont fait l'objet de notre expérience.

1. Métabolisme énergétique cardiaque en normoxie :

Rappelons que le cœur est un muscle cavitaire ayant un rôle majeur au sein de l'organisme. Il agit comme une pompe et pulse le sang vers les organes pour approvisionner toutes les cellules en substrats énergétiques et en oxygène. En cela, il a un métabolisme relativement simple comparé au foie ou au rein, puisqu'il ne fait, à l'état normal, que produire de l'énergie et l'utiliser sous forme mécanique. Son métabolisme est même plus simple que celui des muscles squelettiques puisque, contrairement au muscle squelettique qui possède 2 types de cellules lente et rapide, il est relativement homogène au niveau des ventricules, des oreillettes ou de son tissu de conduction. Il se contracte de façon rythmique et ininterrompue et possède, nous l'avons dit, un métabolisme oxydatif dans les conditions physiologiques, qui nécessite un riche équipement mitochondrial (dans le cœur de rat, 33% du volume total des cellules ventriculaires est occupé par les mitochondries – David et coll., 1979), c'est le muscle le plus riche en mitochondries.

Le myocyte cardiaque a donc un métabolisme physiologiquement aérobie, la saturation en oxygène du sang veineux y est particulièrement basse. L'énergie consommée par le myocarde provient principalement de l'oxydation des acides gras présents dans le sang. L'oxydation du glucose et du lactate sont des voies minoritaires de synthèse d'ATP dans le myocarde. La phosphorylation oxydative mitochondriale produit la majorité de l'ATP nécessaire à la contraction du muscle cardiaque, la voie glycolytique reste mineure, et ce même lorsque le cœur travaille plus (Heineman et Balaban, 1990). La concentration de NADH₂, élevée lors d'une augmentation de l'activité cardiaque, aurait un effet inhibiteur sur la glyceraldéhyde-3-phosphate et la pyruvate déshydrogénase intervenant dans la glycolyse (Noakes et Opie, 1989). Ainsi, le métabolisme anaérobie est peu mis à contribution.

Concernant les substrats utilisés, les acides gras les plus facilement métabolisables, c'est-à-dire les acides gras non estérifiés, sont préférentiellement utilisés et pénètrent passivement dans la cellule myocardique. Ce n'est qu'au niveau de la membrane mitochondriale que s'exerce une régulation du transport par la carnitine et l'activité de l'acyl-carnitine transférase. La capture de ce substrat dépend essentiellement de sa concentration sérique (jeûne, état émotionnel) et dans une moindre mesure de sa concentration intracellulaire, dépendant, quant à elle, de deux phénomènes assez stables, la synthèse des triglycérides (faible) et l'oxydation (majoritaire).

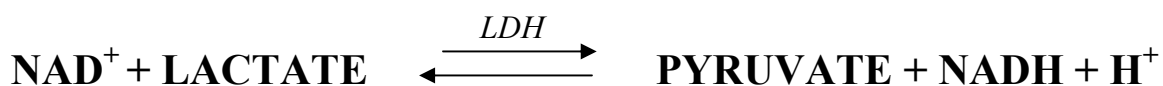
Le glucose et le lactate représentent une proportion moins importante de l'énergie potentielle captée, l'entrée du glucose dans la cellule se fait en revanche à la fois passivement, selon le gradient (fonction de la vitesse à laquelle fonctionne la glycolyse) et sous contrôle hormonal de l'insuline. Par ailleurs, les réserves en glycogène du myocarde sont faibles, leur libération dépend principalement des catécholamines. Enfin, la capture des acides gras estérifiés sous forme de triglycérides dépend des enzymes capables de la libérer, les lipases membranaires.

2. Enzymes-clé étudiées dans notre travail et leur rôle dans le cœur en normoxie :

L'étude des activités enzymatiques est un outil fréquemment utilisé pour caractériser le métabolisme aérobie ou anaérobie ainsi qu'un déplacement vers l'un ou l'autre des modes de production de l'énergie. Aussi, nous avons choisi au cours de nos expériences, d'étudier les activités enzymatiques de trois enzymes-clé du métabolisme énergétique : la lactate déshydrogénase (**LDH**) et l'hexokinase (**HK**), deux des enzymes de la glycolyse intervenant à des niveaux différents, et la β -hydroxy-acyl-CoA déshydrogénase (**HAD**) intervenant dans le métabolisme des acides gras non estérifiés (AGNE). Leurs sites d'action respectifs dans le processus de production d'ATP sont caractéristiques des différentes voies possibles, aérobie et anaérobie.

2.1. Rôle de la lactate déshydrogénase

La LDH cardiaque est une isoenzyme de la LDH du muscle qui fonctionne à l'état normal dans le sens lactate \rightarrow pyruvate, alors que son homologue musculaire fonctionne dans l'autre sens. Ainsi, lors d'un effort physique important au niveau des muscles squelettiques du lactate est produit en grande quantité. Majoritaire, il est donc plus facilement prélevé et oxydé au niveau des fibres myocardiques. Son oxydation consiste en une conversion en pyruvate par l'isoforme « M » de la lactate déshydrogénase.



L'étude de l'activité et des isoformes de cette enzyme est intéressante car c'est une enzyme charnière entre les métabolismes oxydatif et non oxydatif.

La LDH se présente sous la forme d'un tétramère de deux sous-unités (« M » ou « H ») pour former 5 isoenzymes différentes : LDH₁ (H₄) à LDH₅ (M₄) dans l'ordre de leur mobilité en électrophorèse (figure n°4).

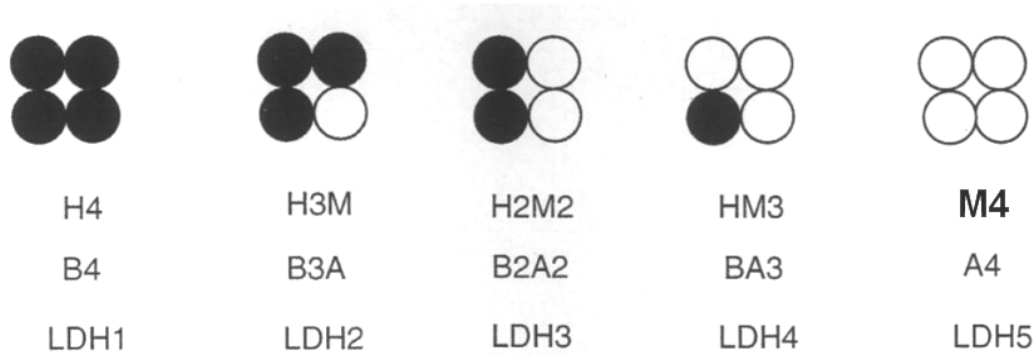


Fig. n°4 : Représentation schématique des 5 isoformes de la lactate deshydrogénase

Les isoenzymes contenant une majorité de sous-unités « H » sont dominantes dans les tissus à potentiel oxydatif élevé où le pyruvate est métabolisé, tandis que celles qui renferment le plus de sous-unités « M » prédominent dans les tissus glycolytiques tels que les muscles squelettiques blancs (figure n°5). Ces cinq isoenzymes peuvent être synthétisées dans toutes les cellules. Ces dernières adaptent la composition de leur LDH selon les circonstances. Lors d'un apport trop faible en oxygène au niveau de la cellule myocardique, la réaction réciproque se produit, le lactate est formé. Ainsi la valeur de la production de lactate et des différentes isoenzymes permet de savoir quel métabolisme prédomine au niveau des cellules myocardiques.

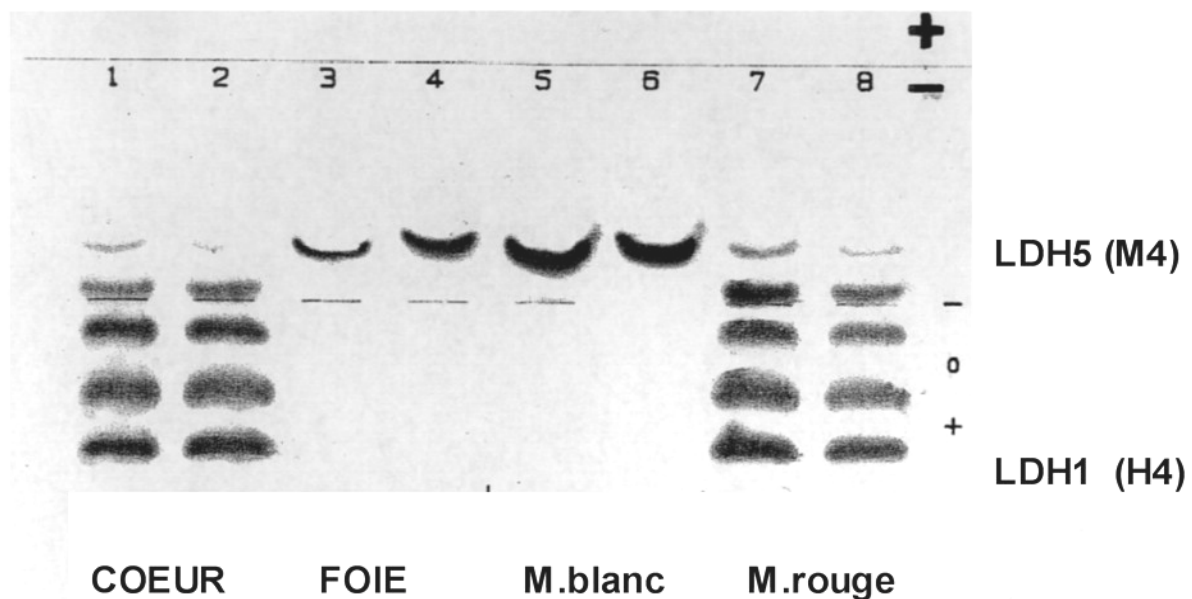


Fig. n°5 : Exemple de séparation des isoformes de LDH par électrophorèse de différents organes

2.2. Rôle de l'hexokinase :

L'hexokinase intervient lors de la première étape de la glycolyse. La molécule de D-glucose est ainsi activée, se préparant ainsi à subir les autres réactions par phosphorylation grâce à l'ATP en position 6. Cette réaction est irréversible dans les conditions intracellulaires :



Cette enzyme subit une modification profonde de forme lorsqu'elle fixe la molécule d'hexose. De plus, HK existe sous différentes formes isoenzymatiques dans les différents organes ou tissus, mais dans tous les cas, c'est une enzyme régulatrice dont l'activité est finement contrôlée par un grand nombre d'activateurs et d'inhibiteurs allostériques. De ce fait, elle joue un rôle déterminant dans le contrôle de la vitesse de la glycolyse et donc dans la capture du glucose. Ainsi, doser son activité est un bon moyen d'évaluer l'importance de la glycolyse au sein du métabolisme.

2.3. Rôle de la β -hydroxy-acyl-CoA deshydrogénase :

La HAD est une enzyme moins connue, mais son rôle est majeur lors de la β oxydation, qui permet la formation d'ATP grâce à la dégradation des acides gras. Son expression dans les cellules est en rapport avec l'importance de la néoglucogénèse dans la libération d'énergie. Rappelons que les acides gras libres représentent, dans le myocarde, le principal combustible dans les conditions physiologiques, et qu'ils assurent alors les 2/3 de l'apport énergétique. L'autre devenir des acides gras circulants, en conditions d'hypoxie, est d'être réestérifiés grâce au glycérol-phosphate et de former des triglycérides de réserve.

3. Le métabolisme myocardique en hypoxie chronique :

3.1. Les répercussions de l'hypoxie sur le métabolisme myocardique:

En l'absence d'oxygène, le myocarde ne peut plus se contracter, mais l'arrêt n'est pas immédiat car des mécanismes compensateurs surviennent. La suppression de l'oxygène n'a qu'un seul effet direct, c'est le blocage de la dernière étape de l'oxydation phosphorylante. Il s'ensuit un arrêt de la production aérobie d'ATP, une élévation de la concentration du phosphore libre, de l'adénosine-diphosphate, de l'adénosine et une accumulation d'ions H^+ sous forme de nicotinamide dinucléotide réduit. Les acides gras libres en excès vont, après élongation, provoquer des lésions membranaires par effet détergent. Cette absence d'oxygène stimule la production anaérobie d'ATP par la glycolyse et minimise les conséquences de l'arrêt du fonctionnement mitochondrial. L'élévation de la concentration du phosphore et de l'ADP va stimuler l'hexokinase, la capture myocardique du glucose s'en trouve stimulée et la production anaérobie augmente. Il a été montré que la fonction myocardique en anoxie était maintenue plus longtemps dans un milieu enrichi en glucose. L'accumulation de pyruvate, issu de la glycolyse anaérobie et non métabolisable par les mitochondries, va inverser les conditions cinétiques de fonctionnement normal de l'isoenzyme cardiaque de la lactate deshydrogénase et le myocarde va produire du lactate au lieu d'en consommer. Il y aura par ailleurs production d'alanine à partir du pyruvate, alanine qui peut être détectée lors

d'ischémie d'origine coronarienne chez l'homme. L'adénosine quant à elle s'accumule dans les espaces extracellulaires et est responsable de la vasodilatation compensatrice des artérioles coronaires. Cette vasodilatation coronarienne augmente le débit coronarien. Ce mécanisme constitue, lors d'augmentation du travail cardiaque, le seul moyen dont dispose le cœur pour ajuster la consommation d'oxygène à ses besoins, lors d'effort ou lors d'hypoxie.

L'étude des répercussions de l'anoxie sur le métabolisme cardiaque nous permet d'aborder avec plus de discernement les orientations du métabolisme cardiaque en hypoxie chronique, par l'étude des enzymes-clé décrites précédemment.

3.2. Comportement des enzymes-clés en hypoxie chronique:

Avant toute chose, il est important de signaler que les effets de l'hypoxie chronique sur le métabolisme des cellules myocardiques sont difficiles à évaluer, et à comparer à des résultats antérieurs. En effet, de nombreux facteurs entrent en jeu pour expliquer la grande variabilité des résultats des recherches antérieures. Il peut s'agir de différences au niveau des protocoles, concernant notamment le degré de l'hypoxie et la durée de l'exposition ou encore concernant les conditions de prélèvement tissulaire. De plus, deux espèces différentes réagiront différemment, on peut même trouver des différences métaboliques considérables chez deux populations « proches » d'une même espèce. Pour illustrer cette variabilité intraspécifique, on peut citer les observations de Kayser et coll. en 1996, qui ont comparé le métabolisme de deux populations de résidents de basse altitude, les népalais et les tibétains, montrant une plus faible activité enzymatique aérobie chez ces derniers, ainsi que des activités réduites de la LDH et de la HAD.

Par ailleurs, nous avons pu évoquer dans les parties précédentes les différents effets de l'hypoxie chronique sur l'organisme, du point de vue histologique et fonctionnel, notamment l'hypertrophie ventriculaire droite et l'anorexie. Ces effets sont eux-mêmes à l'origine d'une réponse au niveau du métabolisme et modifient les variations des activités enzymatiques, masquant ou exacerbant ainsi les effets de l'hypoxie seule.

3.2.1. LDH :

Les activités des enzymes glycolytiques apparaissent diminuées, inchangées ou augmentées selon les études.

Mager et coll (1968) ont montré que dans le cœur de rats nouveau-nés élevés à une altitude simulée de 4000 mètres durant près de trois mois, l'activité de la LDH est plus élevée que chez les animaux témoins. Ils ont rapporté par ailleurs une augmentation de la proportion de la sous-unité « M » de la LDH et une diminution de celle de la sous-unité « H ». Le métabolisme glycolytique semble donc favorisé en hypoxie. Le paradoxe est que la même année, les mêmes auteurs ont rapporté qu'une hypoxie à une altitude simulée de 6400 mètres pendant deux mois n'avait pas d'effet significatif sur l'activité et la proportion des isoenzymes de la LDH dans le cœur de rats adultes. De même, Miller et Hale ont montré la même année que l'exposition de mâles adultes à une altitude simulée de 5500 mètres durant une période de 2 à 4 mois n'avait aucun effet sur l'activité de la LDH, ou la proportion de ses différentes isoenzymes. La divergence des résultats a amené les scientifiques à considérer individuellement chacun des facteurs, la restriction alimentaire, l'hypertrophie ventriculaire droite et l'hypoxie.

Ainsi dès 1969, Fox et Reed ont différencié les conséquences d'une hypertrophie ventriculaire droite sur la lactate deshydrogénase myocardique chez des chiens ayant subi une ligature de l'artère pulmonaire. Ils ont montré que l'activité totale de la LDH restait normale, mais que la proportion de sous-unité « M » augmentait. De même, les expériences de Do et

coll. menées en 1997 sur des furets ayant subi une ligature des artères pulmonaires pendant 3 à 14 semaines concluaient à une activité totale de LDH inchangée et à une diminution de la proportion des isoformes LDH1 (H4) et LDH3 (H2M2). En revanche, Sobel et coll.(1970) ont montré chez le cobaye une augmentation considérable de l'activité totale LDH et de la proportion de l'isoforme LDH3 après seulement trois jours d'hypertrophie par ligature. Ils ont par ailleurs noté un retour à la normale de la proportion de LDH3 lors d'hypertrophie prolongée (25 à 50 jours) tandis que l'activité totale LDH continuait à augmenter. Une augmentation de la sous-unité M pourrait selon Fox et coll. (1969) s'expliquer en partie par l'augmentation de masse du tissu interstitiel dans lequel les isoenzymes LDH4 et LDH5 sont majoritaires.

De même, en 1976, les expériences de Barrie et Harris, ont permis de distinguer les effets respectifs de la restriction alimentaire, de l'hypertrophie ventriculaire droite et de l'hypoxie :

- la restriction alimentaire est à l'origine d'une augmentation des sous-unités « M » de la LDH ;
- l'hypertrophie ventriculaire provoque une augmentation de l'activité des enzymes de la glycolyse et une élévation de la proportion de sous-unités « M » de la LDH ;
- l'hypoxie chronique serait quant à elle à l'origine d'une augmentation de la proportion de sous-unités « H ».

Là encore, la divergence des résultats a conduit les scientifiques à étudier les variations de la LDH à des étapes plus précoces de sa synthèse. C'est ainsi que Firth et coll. ont récemment montré (1995) que le gène de la LDH A (Lactate deshydrogénase A) qui code pour la sous-unité M de la LDH est activé en hypoxie. D'autres auteurs ont constaté une augmentation de l'ARN messager et de la protéine de la LDH A lors d'hypoxie (Marti et coll. 1994).

Enfin, les expériences les plus récentes du Professeur André Rossi menées sur des rats soumis à une hypoxie normobare de 3 semaines, dans les mêmes conditions que lors de notre étude, ont montré que la restriction alimentaire était à l'origine d'une augmentation d'activité de la LDH dans le ventricule gauche.

3.2.2. HAD et métabolisme des acides gras :

Les résultats sont très controversés. Rossi et coll. (2000) constatent une diminution de l'activité enzymatique de l'hydroxy-acyl-CoA-deshydrogénase au sein des ventricules gauche et droit de rats soumis à une hypoxie normobare de trois semaines. De même, Bass et coll. (1989) ont montré qu'après une hypoxie hypobare intermittente à une altitude simulée de 7000 mètres, l'activité de la HAD diminuait significativement dans les deux ventricules cardiaques. Pourtant d'autres études antérieures menées par Hochachka en 1982 ont rapporté que l'adaptation à long terme des animaux vivant en permanence en haute altitude consistait au contraire en une augmentation d'activité des enzymes oxydatives telles que l'HAD. Il rejoint en cela les résultats observés par Barrie et coll. dès 1975 sur des cœurs de lapins vivant en haute altitude.

3.2.3. Hexokinase et glycolyse anaérobie :

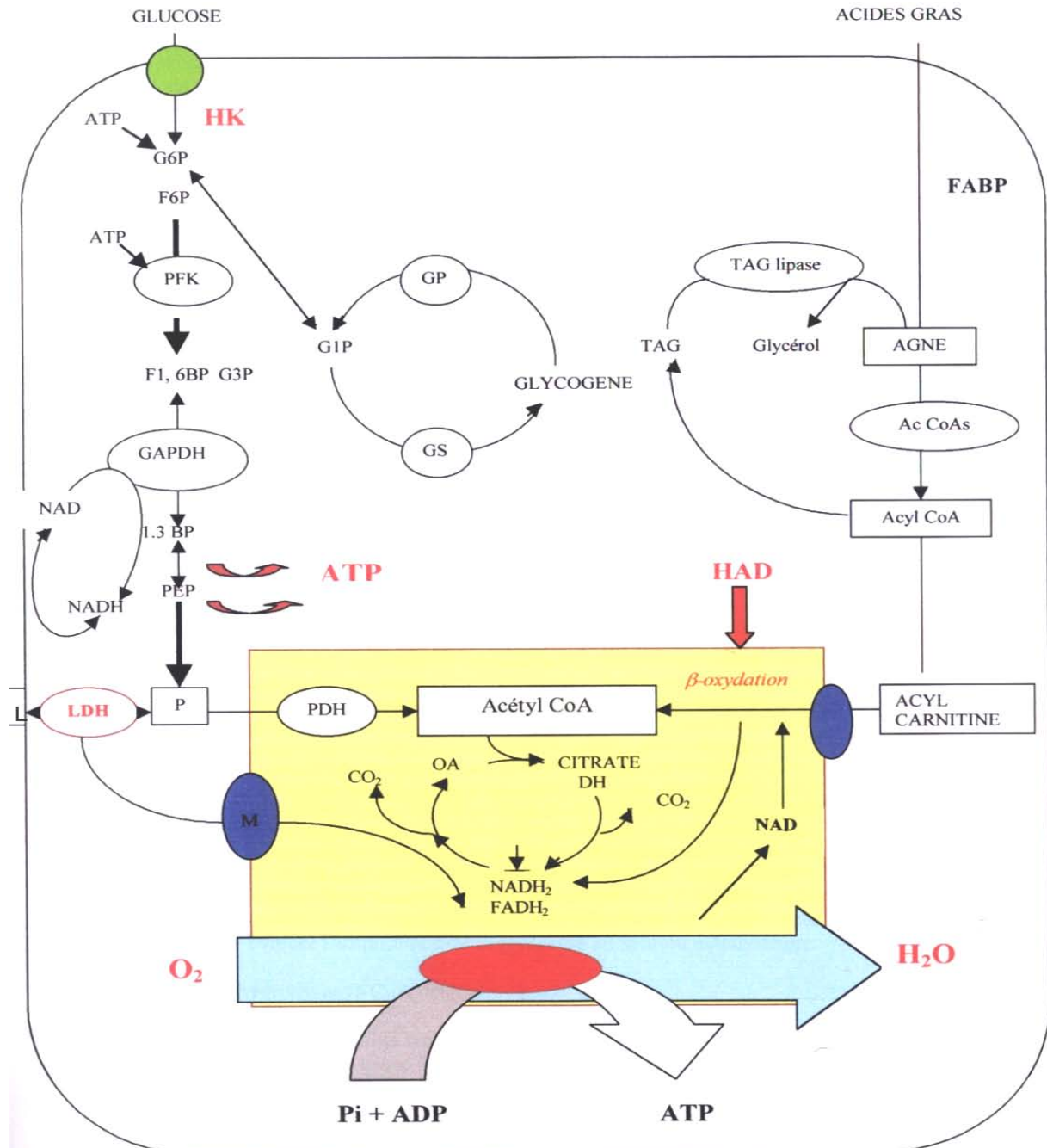
Yoshino et coll. (1990) et Abdelmalki et coll. n'ont observé aucune modification de l'activité de l'hexokinase sous l'effet de l'hypoxie dans le cœur de rat. En revanche, Vergnes montrait en 1971 qu'une hypoxie chronique de 21 semaines entraînait une augmentation de l'activité de l'hexokinase. Les expériences récentes réalisées par l'équipe du Professeur André Rossi, suivant le même protocole que notre étude, mais sur une période plus longue de trois

semaines, ont permis de constater que l'hypoxie était déjà à l'origine d'une augmentation de l'activité de l'hexokinase. Par ailleurs, les expériences de Barrie et Harris (1976) distinguant les effets respectifs de la restriction alimentaire, de l'hypertrophie ventriculaire droite et de l'hypoxie chronique ont montré que la restriction alimentaire était quant à elle à l'origine d'une diminution de l'activité de l'hexokinase.

A la lumière des résultats des études antérieures, il est plus aisé pour nous de définir l'objet de notre étude.

Il s'agissait d'une étude en continuité avec une expérience précédente réalisée sur trois semaines par le Professeur Rossi et son équipe. Nous avons cherché à savoir si les effets respectifs de l'hypoxie, de la restriction alimentaire et de l'hypertrophie ventriculaire droite, étaient déjà significatifs sur une période d'hypoxie plus courte de trois jours.

V/ Schéma récapitulatif du métabolisme énergétique



HK= hexokinase ; ATP = adénosine tri-phosphate ; ATP = adénosine di-phosphate ; G6P = glucose 6-phosphate ; F6P = fructose 6-phosphate ; PFK = phosphofructokinase ; F1,6DP = fructose 1,6 di-phosphate ; G3P = glycéril triphosphate ; GAPDH = glycéraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase ; NADH,H+ = nicotinamide adénine dinucléotide forme réduite ; NAD = nicotinamide adénine dinucléotide forme oxydée ; PDH = pyruvate déshydrogénase ; LDH = lactate déshydrogénase ; Citrate DH = citrate déshydrogénase ; OA = oxaloacétate ; HAD = 3-hydroxyacyl coA déshydrogénase ; Ac CoAs = acylcoA synthetase

MATERIELS ET METHODES

I/ Animaux, lots expérimentaux et cage d'hypoxie

Toutes les manipulations mises en œuvre lors de cette étude ont été réalisées en conformité avec : « *the guide for the care and use of laboratory animals* », publié par the US National Institutes of Health (NIH publication NO. 85-23).

Les animaux étudiés sont des rats femelles de souche Wistar nés dans l'animalerie un mois plus tôt et d'un poids corporel variant entre 100 et 140 grammes. L'ensemble des animaux constitue une population homogène. Tous les animaux ont été nourris avec leur aliment standard habituel (*Extralabo M20*- régime de maintenance) préalablement pulvérisé pour faciliter la pesée de la ration.

Avant toute chose, les animaux ont été répartis de façon aléatoire en trois groupes, les rats ont alors été placés en cage individuelle.

Les rats du lot *Hypoxique* furent exposés durant toute la période de conditionnement (72 heures) à une « *hypoxie normobare* » continue, c'est-à-dire que la diminution de la PO_2 de l'air n'était pas le fait d'une réduction de la pression barométrique mais d'une réduction de la fraction en oxygène.

Un deuxième groupe constituant le lot *Témoin* ($n=6$) fut laissé en normoxie.

Les deux lots d'animaux *Hypoxique* et *Témoin* furent nourris ad libitum, chaque animal possédait une cage individuelle. La prise alimentaire de chaque rat a été déterminée par pesée au terme de chaque période de 24 heures.

Enfin, les animaux du troisième groupe furent placés en normoxie et reçurent chacun la quantité de nourriture ingérée par leur homologue du lot hypoxique le jour précédent, soumis aux mêmes manipulations et au même stress de conditionnement. Ainsi le rat PF1 a reçu au jour j la quantité d'aliment ingérée par le rat H1 au jour j-1. Ce groupe soumis à une restriction alimentaire constitue le lot « *Pair-fed* » ($n= 6$). Ce lot va nous permettre d'évaluer individuellement les effets de la baisse de prise alimentaire sur les paramètres étudiés.

Les animaux du groupe *Hypoxique* ($n=6$) furent placés dans des cages individuelles au sein d'une chambre hypoxique et normobarique, dans laquelle l'air était continuellement ventilé et maintenu à 10% d'oxygène durant les 72 heures de conditionnement. Les deux autres groupes furent maintenus dans des conditions normoxiques ambiantes (20,3% d'oxygène). L'eau fut mise à leur disposition ad libitum, et les cages furent nettoyées régulièrement.

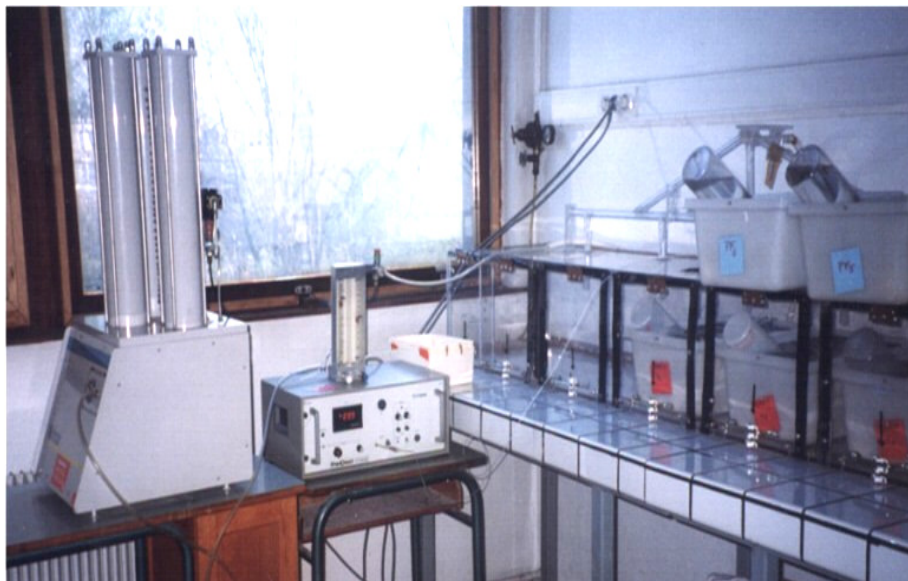


Fig n°6 : Photographie du dispositif de conditionnement: de gauche à droite le mélangeur , l'analyseur, le débit-mètre et les différentes cages de conditionnement.

Tableau n°1 : Conditionnement des animaux : trois lots de 6 rats en croissance soumis soit à une restriction alimentaire (Pair-Fed), soit à l'environnement hypoxique (Hypoxique)

	HYPOXIQUE		PAIR FED		TEMOIN	
Sexe	femelle		femelle		femelle	
Age	4 semaines		4 semaines		4 semaines	
Poids d'origine	100-140g		100-140g		100-140g	
Conditions d'hypoxie	normobare 10% de FIO ₂		normobare 20,3% de FIO ₂		normobare 20,3% de FIO ₂	
Conditionnement	cage individuelle		cage individuelle		cage individuelle	
Identification des animaux dans chaque lot et quantité d'aliment ingérée	H1	ad lib	PF1	idem H1 à J-1	T1	ad lib
	H2	ad lib	PF2	idem H2 à J-1	T2	ad lib
	H3	ad lib	PF3	idem H3 à J-1	T3	ad lib
	H4	ad lib	PF4	idem H4 à J-1	T4	ad lib
	H5	ad lib	PF5	idem H5 à J-1	T5	ad lib
	H6	ad lib	PF6	idem H6 à J-1	T6	ad lib

Les rats du lot *Hypoxique* sont disposés dans des cages semblables à celles des deux autres lots, mais aménagées de façon particulière selon le modèle suivant:

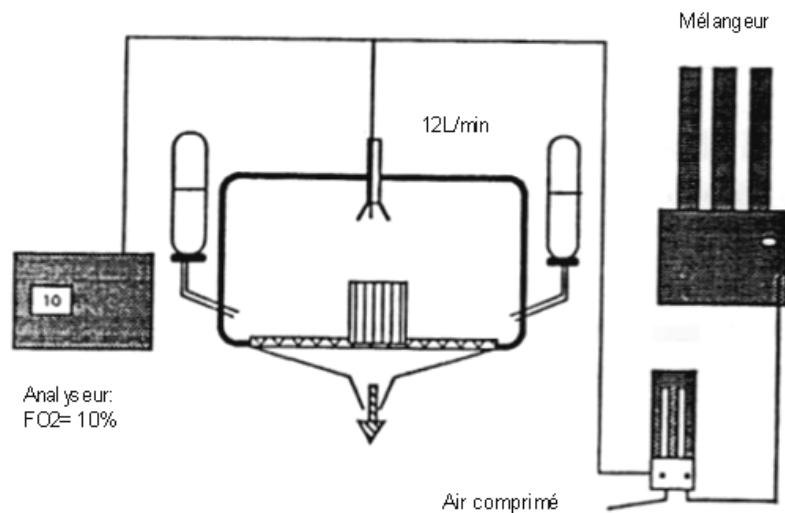


Figure n°7 : Représentation schématique de la cage d'hypoxie (FIO₂ = 10%)

La diminution de la fraction en oxygène est obtenue grâce à un extracteur d'oxygène. Le mélange hypoxique est envoyé à un débit de 12 l/min, la PO₂ est alors de 388 mmHg ce qui équivaut à la PO₂ régnant à une altitude de 5500 mètres. Un analyseur d'oxygène contrôle en continu la teneur en O₂ du gaz ambiant de la cage.

II/ Prélèvement et conditionnement des échantillons de tissus

Après anesthésie fixe par une injection intrapéritonéale de pentobarbital sodique à 6% (dose 50 mg/kg), la cage thoracique est excisée bilatéralement au moyen de ciseaux et le diaphragme est désinséré des côtes afin de visualiser les tissus sous-jacents. Le cœur est alors prélevé par section à la lame de bistouri, puis conservé dans une solution à 4°C de NaCl 9‰. Cette brusque hypothermie entraîne un arrêt quasi-immédiat des battements cardiaques et permet de limiter les altérations métaboliques résultant de l'arrêt de la perfusion.

Avant exérèse du coeur, du sang veineux est prélevé au moyen de seringues préalablement héparinées, puis transféré dans des tubes capillaire afin d'être centrifugé et de fournir des valeurs d'hématocrite.

Les cœurs sont alors rapidement disséqués en ventricule droit, ventricule gauche et septum, qui sont pesés, puis congelés en « galettes » fines (1 à 2 mm) au moyen d'une pince en aluminium préalablement refroidie dans l'azote liquide. Les échantillons congelés sont alors conservés à -80°C jusqu'à l'extraction pour dosage. Un même opérateur réalise tous les prélèvements et toutes les mesures afin de limiter les biais opérateur-dépendant.

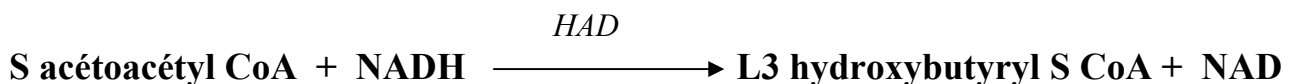
III/ Méthodes de mesure des activités enzymatiques

Toutes les activités enzymatiques ont été évaluées selon des techniques optiques à l'aide d'un spectrophotomètre UVIKON. Les techniques utilisées suivent les protocoles décrits par Lowry et Passoneau (1972) pour l'hexokinase (HK), la lactate deshydrogénase (LDH) et la β hydroxy-acyl-CoA deshydrogénase (HAD). Les activités enzymatiques sont exprimées en micromoles de substrat transformé par minute exprimées par rapport au poids frais (gramme) de tissu. Les échantillons tissulaires de cœur sont prélevés, refroidis instantanément par de l'azote liquide, conservés à -80°C, pesés puis homogénéisés à 4°C à l'aide d'un Polytron.

A/ Dosage de la β -Hydroxy-Acyl-CoA Deshydrogénase (HAD)

1. Principe :

Le principe de la réaction enzymatique est le suivant :



Le NAD est formé à partir du NADH qui absorbe à 340 nm. Il est possible de quantifier cette formation de NAD par la variation de la densité optique.

2. Extraction :

Le broyage se fait avec un Polytron dans 1 ml de tampon d'extraction (50mg/1ml) à 9500 tour/min à 4 °C pendant 30 secondes. L'échantillon ainsi préparé repose pendant une heure dans la glace. Il est ensuite centrifugé à 2 °C pendant 30 secondes à 672 g , puis dilué dans le même tampon au moment de l'emploi.

3. Réactifs :

- Tampon d'extraction : tampon phosphate 300mM pH 7,7 ;
Sérum Albumine bovine (BSA) à 0,5%
(conservation à 4°C pendant 1 mois).
- Tampon phosphate 300mM (PH 7,7) : 1 volume KH_2PO_4 300mM +
1 volume de K_2PO_4 300mM
(conservation à 4°C pendant 1 mois).
- Milieu réactionnel (MR) : 50 ml Imidazole 40 mM pH 7 ;
15 μl EDTA 200mM.
- NADH 23 mM préparé dans l'eau.
- Acéto-acétyl CoA 5 mM préparé dans l'eau.

4. Dilutions :

Des dilutions à 1/10^{ème} ont été préparées au moment de l'emploi à partir de l'extrait tissulaire dans le tampon d'extraction.

5. Mesures d'activité :

Le dosage est effectué sur 1 ml du milieu réactionnel auquel sont rajoutés 30 μl d'échantillon + 10 μl du NADH + 10 μl d'acéto-acétyl-CoA 5 mM.

La disparition du NADH du milieu est mesurée par lecture de son absorbance à 340 nm à une température de 25 °C, pendant 6 minutes (le dosage est réalisé le jour de l'extraction).

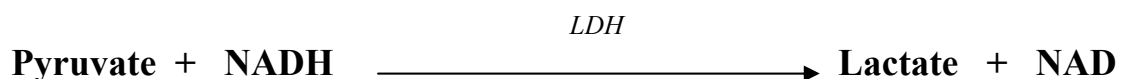
Le blanc est constitué de 1 ml du milieu réactionnel + 30 μl d'échantillon.

Calcul : [(Δ DO/min) / coefficient d'extinction molaire (= 6,3 mM/cm)] x facteur pour ramener le volume à 1ml x facteur de dilution de l'échantillon x facteur pour ramener au gramme de tissu.

B/ Dosage de la lactate déshydrogénase (LDH)

1. Principe :

La lactate deshydrogénase (LDH) réduit le pyruvate en lactate en oxydant le NADH. Le principe de la réaction est le suivant :



2. Extraction :

Le broyage se fait avec un Polytron dans 1 ml de tampon d'extraction (50mg/1ml) à 9500 t/min à 4 °C pendant 30 secondes. L'échantillon ainsi préparé repose pendant une heure dans la glace. Il est ensuite centrifugé à 2 °C pendant 30 secondes à 672 g , puis dilué dans le même tampon au moment de l'emploi.

3. Réactifs :

- Tampon d'extraction : tampon phosphate 300mM pH 7,7 ;
Sérum Albumine bovine (BSA) à 0,5%
(conservation à 4°C pendant 1 mois).
- Tampon phosphate 300mM (PH 7,7) : 1 volume KH_2PO_4 300mM +
1 volume de K_2PO_4 300mM
(conservation à 4°C pendant 1 mois).
- Milieu réactionnel (50 ml) : 25 ml Imidazole 40 mM (20 mM final) pH 7 ,
100 μl BSA 10 % (0,02 %), 25 ml eau
(conservation à 4 °C pendant 2 à 3 jours).
- Solution de NADH 23 mM préparée dans l'eau le jour du dosage.
- Solution de Pyruvate 100 mM préparée dans l'eau le jour du dosage.

4. Dilutions :

Des dilutions à $1/30^{\text{ème}}$ ont été préparées au moment de l'emploi à partir de l'extrait tissulaire dans le tampon d'extraction.

5. Mesures d'activité :

Le dosage est effectué à 25 °C sur 1 ml du milieu réactionnel auquel sont rajoutés 10 μl d'échantillon dilué + 10 μl du NADH 23 mM + 10 μl pyruvate 100 mM.

La cuve de référence contient 1 ml du milieu réactionnel auquel sont rajoutés 10 μl d'échantillon dilué.

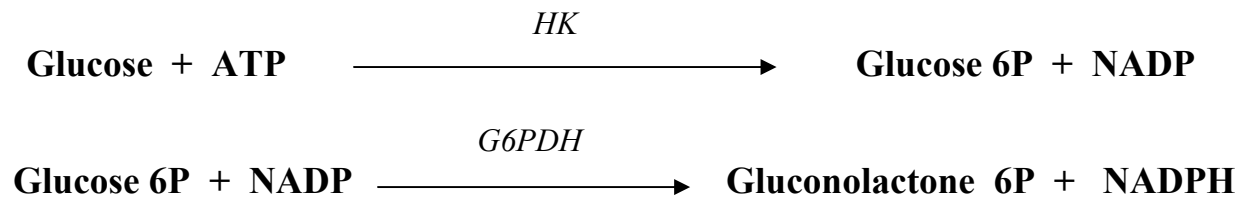
La décroissance de la DO à 340 nm est mesurée toutes les minutes pendant 5 à 6 minutes.

Le calcul est le même que précédemment (coefficient d'extinction molaire = 6,3 mM/cm)

C/ Dosage de l'hexokinase (HK) :

1. Principe :

Le principe de la réaction enzymatique est le suivant :



2) Extraction :

Le broyage se fait avec un Polytron dans 1 ml de tampon d'extraction (50mg/1ml) à 9500 tours/minute à 4 °C pendant 30 secondes. L'échantillon ainsi préparé repose pendant une heure dans la glace. Il est ensuite centrifugé à 2 °C pendant 30 secondes à 672 g , puis dilué dans le même tampon au moment de l'emploi.

3. Réactifs :

- Tampon d'extraction : tampon phosphate 300mM, pH 7,7 ;
Sérum Albumine bovine (BSA) à 0,5%
(conservation à 4°C pendant 1 mois).
- Tampon phosphate 300mM (PH 7,7) : 1 volume KH_2PO_4 300mM +
1 volume de K_2PO_4 300mM
(conservation à 4°C pendant 1 mois).
- Milieu réactionnel (MR) : 1 ml de tampon Tris HCl 1 M (100 mM final) pH 8
80 μl MgCl_2 1 M (8 mM) , 45 μl NADP 100 mM (0,4 mM)
10 μl Dithiothréitol (DTT) 10% (0,01% final)
200 μl Glucose 100mM (2 mM final)
20 μl Glucose-6P Déshydrogénase 1000 U/ml(3,5 U/ml final)
dans l'eau qsp 10 ml faite le jour du dosage.
- ATP 1000 mM

4. Dilutions :

Des dilutions à $1/10^{\text{ème}}$ ont été préparées au moment de l'emploi à partir de l'extrait tissulaire dans le tampon d'extraction.

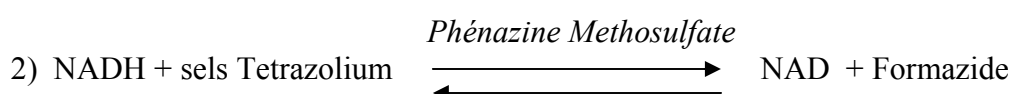
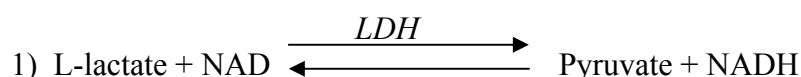
5. Mesures d'activité :

La lecture de la DO à 340 nm et 25 °C est effectuée toutes les trois minutes pendant 30 minutes sur 0,9 ml du milieu réactionnel + 100 μl d'échantillon + 10 μl ATP 1000 mM. Le blanc est constitué de 0,9 ml du milieu réactionnel + 100 μl d'échantillon. Le calcul reste le même que précédemment.

IV/ Séparation et quantification des isoformes de la LDH

La séparation et la quantification des isoenzymes de la lactate deshydrogénase se fait par électrophorèse sur gel d'agarose selon le protocole décrit pour le kit d'électrophorèse TITAN GEL LD Isoenzyme de la fabrication Helena Laboratories®.

Ce kit permet de séparer les différents isoenzymes de la LDH selon leurs mobilités respectives dans le gel d'agarose. Les bandes sont visualisées après révélation par un réactif colorimétrique selon la réaction suivante :



Après avoir déposé 3µL d'homogénat dilué dans chaque puit du gel d'agarose, nous laissons s'imprégner le gel pendant 3 minutes. Ensuite, le gel est placé dans la cuve à électrophorèse contenant le tampon barbital livré avec le kit. Le gel est alors soumis à 15 minutes d'électrophorèse à une tension de 100 V, puis le réactif est appliqué sur le gel durant 15 secondes et nous plaçons le tout dans une chambre d'incubation pendant 25 minutes à 45°C.

Après incubation, le gel est séché au moyen d'un papier filtre, puis il est placé dans un bain d'acide acétique à 10% sous agitation lente pendant 2 minutes. De nouveau, un papier filtre imbibé d'acide acétique à 10% est placé sur le gel, lui-même est recouvert de papier buvard. Un poids à développement est alors appliqué sur l'ensemble, pendant 3 à 5 minutes. Enfin, nous réalisons un ultime lavage dans l'acide acétique à 10 % et nous séchons le gel. Les gels sont placés dans l'obscurité en attendant d'être « scannés » et interprétés.

Les 5 isoenzymes sont visualisés sous forme de bandes quantifiables grâce à un logiciel informatique qui fait usage de densitomètre. Le plus rapide LD1 migre dans la zone des alphas 1 et le plus lent LD5 dans celle des gammas. Les trois autres isoenzymes ont des mobilités intermédiaires.

L'aire sous la courbe est calculée par analyse gaussienne et la proportion relative de chaque isoenzyme est exprimée en pourcentage par rapport au total.

V/ Statistiques

Toutes les activités enzymatiques sont exprimées en unité d'activité enzymatique par gramme de poids frais de tissu, une unité correspondant à 1 µmole de substrat transformée par minute.

Tous les résultats sont présentés sous forme de moyenne ± SEM (erreur standard à la moyenne). L'ensemble des résultats numériques est donné en annexe. Les moyennes propres à chaque groupe sont comparées au moyen d'une ANOVA à une voie réalisée par le logiciel informatique Systat®. La signification statistique est fixée $p < 0,05$.

RESULTATS

I/ Le modèle expérimental d'hypoxie : conséquences sur la croissance des animaux, l'érythropoïèse et le poids du cœur

Rappelons que lors de nos expériences, nous avons utilisé trois lots d'animaux (rats femelles de 1 mois, de souche Wistar, pesant entre 100 et 140 g) et que l'un des lots d'animaux a été placé dans des conditions d'hypoxie normobare ($FO_2 = 10\%$) pendant une durée de trois jours, les autres lots *Témoin* et *Pair-fed* étant quant à eux dans une atmosphère normoxique ($FO_2 = 21\%$). Les témoins et les hypoxiques ont eu libre accès à la nourriture et à l'eau de boisson.

A) Evolution de la masse corporelle des rats au cours de l'exposition à l'hypoxie

Au cours de ces trois jours, la quantité d'aliment ingérée a été pesée quotidiennement afin de confirmer ou d'infirmer l'existence du phénomène d'anorexie ou plutôt d'hyporexie sur une courte période d'exposition à l'hypoxie. Ainsi, nous avons pu comparer la quantité d'aliment ingérée moyenne au sein des deux lots *Hypoxique* et *Témoin*, c'est-à-dire entre des animaux en situation d'hypoxie et de normoxie. L'ensemble des résultats sont représentés dans la figure n°8.

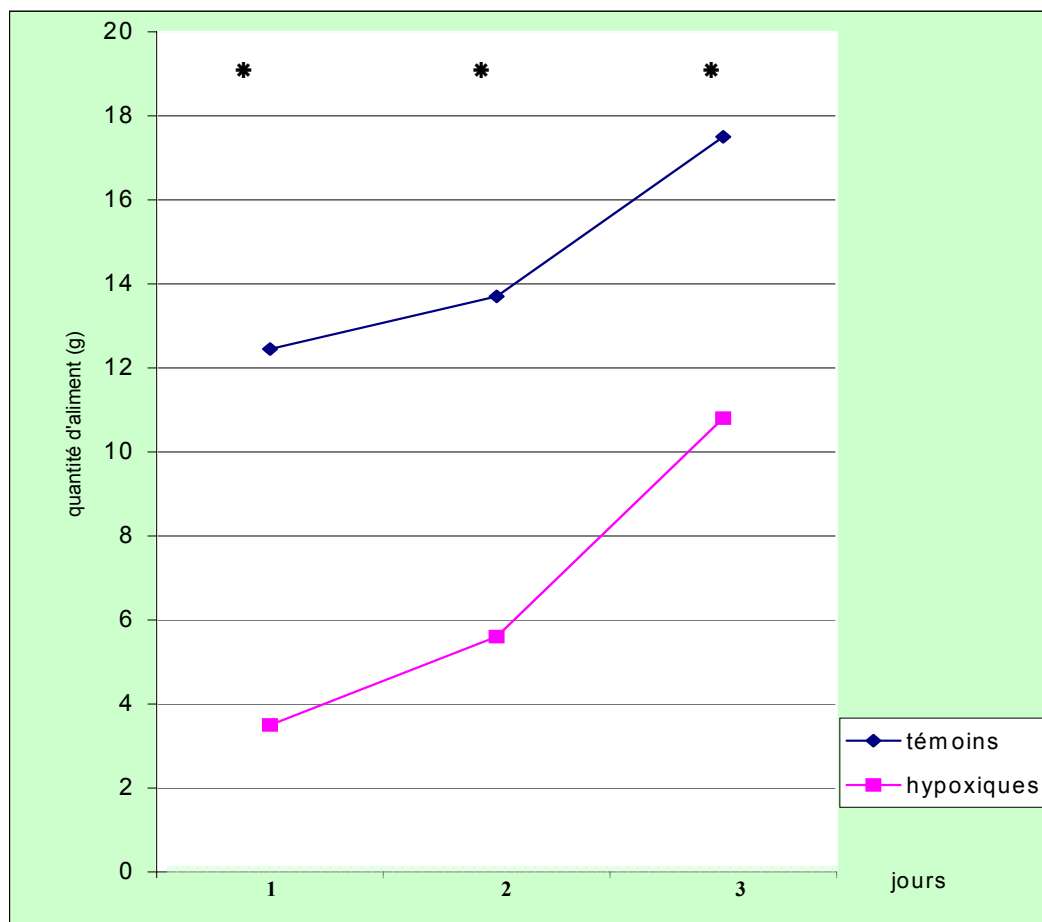


Fig n°8 : Quantité moyenne d'aliment ingérée par les lots hypoxique et normoxique durant les trois jours de conditionnement (* : significativement différent $p < 0,05$)

Nous observons dès les premiers jours d'exposition à l'hypoxie une diminution de la quantité moyenne d'aliment ingérée par les rats.

Nous avons pu noter par ailleurs que l'activité physique diminue de façon notable et hétérogène au sein du lot *Hypoxique*. Certains animaux du lot ne se nourrissent quasiment plus, tandis que d'autres semblent moins affectés par la diminution de la FO₂. En effet, les quantités d'aliment ingérées varient énormément d'un rat à l'autre. Si la majorité des rats connaissent une phase d'hyporexie sévère (voire d'anorexie) et précocement puis un retour à la normale à partir du deuxième jour, d'autres demeurent anorexiques ou le deviennent le deuxième jour avant de retrouver des valeurs normales pour le reste du lot. Cette variabilité individuelle de la réponse au stress hypoxique est susceptible, nous le verrons en discussion, d'interférer avec nos résultats sur une période courte d'hypoxie.

Par ailleurs, nous avons mesuré quotidiennement la masse corporelle de tous les animaux, afin de pouvoir établir une courbe de croissance moyenne pour chacun des lots, et de pouvoir les comparer entre elles (figure n°9).

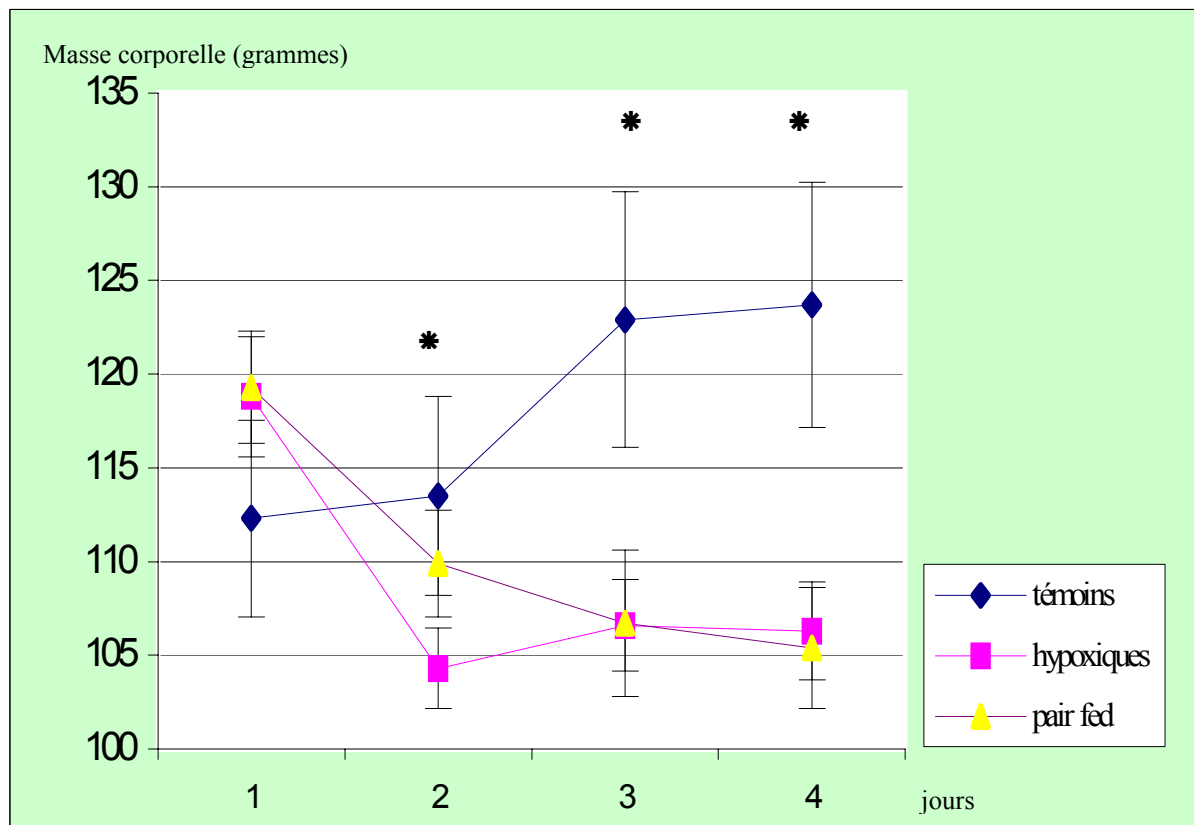


Fig n°9 : Courbe de croissance moyenne des trois lots durant les trois jours d'exposition à l'hypoxie normobare (Moyenne \pm ESM ; * : significativement différent des témoins ; $p < 0,05$)

Nous observons une perte de poids au cours des trois premiers jours d'exposition à l'hypoxie. Cette perte de poids est également bien connue chez l'homme, on parle d'**anorexie d'altitude** (Guiland et Klepping, 1985). Ainsi, le poids moyen des animaux hypoxiques est inférieur de 14% à celui des animaux normoxiques en fin d'expérience. Ces résultats sont en accord avec les travaux effectués dans ce même laboratoire sur une période de trois semaines. En poursuivant notre expérience, nous aurions pu montrer que la courbe des rats hypoxiques redevient ensuite parallèle à celle des rats normoxiques.

Cette perte de poids s'explique en grande partie par l'hyporexie. En effet, les rats *pair-fed* ayant reçu la quantité de nourriture ingérée par leurs homologues hypoxiques suivent une croissance identique à celle des hypoxiques et connaissent la même perte de poids initiale. L'hypoxie est donc à l'origine de l'hyporexie qui est elle-même à l'origine d'une perte de poids.

Les rats *Témoins*, quant à eux, connaissent une croissance pondérale normale.

B) Evolution des valeurs d'hématocrite

Les valeurs d'hématocrite sont représentées dans la graphique suivant :

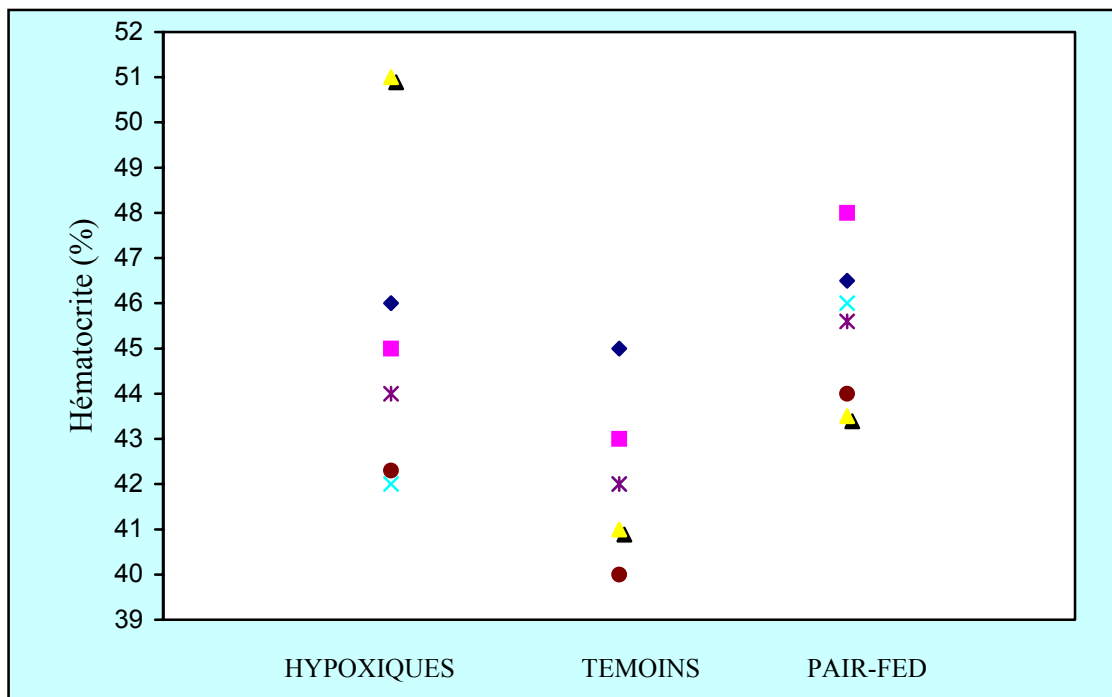


Fig n°10 : Valeurs individuelles de l'hématocrite au sein des trois lots à l'issue des 3 jours de conditionnement (* : significativement différent entre lots ; $p < 0,05$)

L'analyse de ces résultats permet de conclure à l'absence d'effet significatif de l'exposition à l'hypoxie sur l'érythropoïèse au bout de trois jours. Nous n'observons pas de différence significative entre les trois lots bien que des études menées sur des périodes plus longues aient pu mettre en évidence une polyglobulie lors d'hypoxie.

C) Conséquences de l'exposition à l'hypoxie sur la morphologie cardiaque

Le tableau n°2 présente les valeurs moyennes des masses des ventricules droits (VD) et ventricules gauches + septums (VG + septum) isolés à partir des cœurs au bout des trois jours de conditionnement ainsi que les moyennes des rapports des masses des VD et VG à la masse corporelle. Les figures 11, 12, et 13 donnent les valeurs individuelles de ces rapports afin d'illustrer la variabilité des données.

Tableau n°2: Masses des ventricules droit, gauche + septum et masse corporelle des rats
(Moyenne \pm ESM ; * : significativement différent des témoins ; $p < 0,05$)

	Masse (mg) VG + Septum	Masse (mg) VD	Masse (mg) Cœur	Masse (g) Corps	Masse cœur* 10^3 /masse corps
Témoins	308,7 \pm 15.5	67,3 \pm 6.2	376 \pm 20.7	123,7 \pm 6.5	3,03 \pm 0.113
Hypoxiques	289,8 \pm 14.6	97,2 \pm 4.3*	387 \pm 16.7*	106,3 \pm 2.6*	3,64 \pm 0.093*
Pair-Fed	266,9 \pm 13.2	58,3 \pm 5.4	325,2 \pm 17.4	105,4 \pm 3.2	3,08 \pm 0.125

Le tableau 2 montre que le poids du VD est significativement accru chez les rats hypoxiques par rapport à celui des rats témoins, cet effet se répercute au niveau du poids global du cœur.

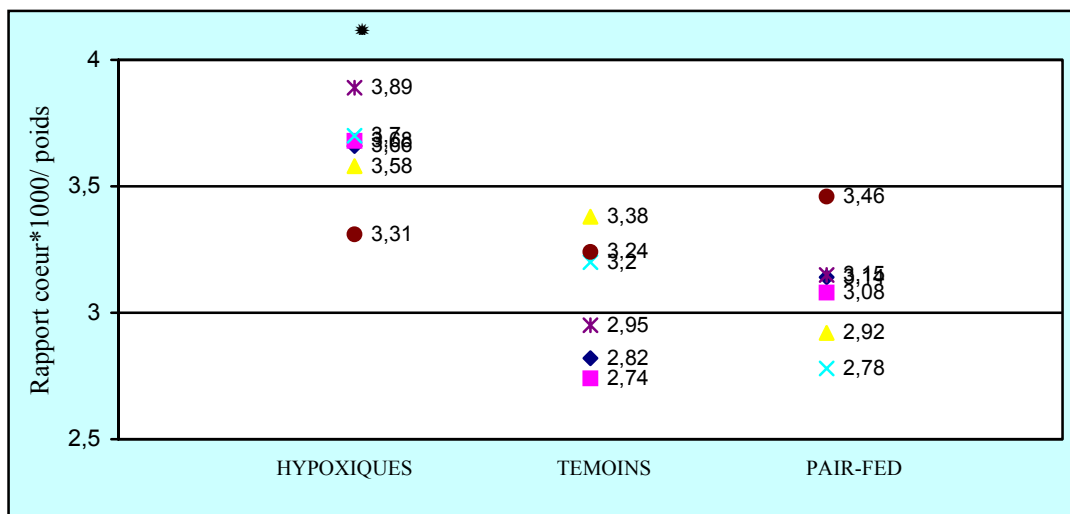


Fig n°11 : Rapports entre masse cardiaque* 10^3 /masse corps, valeurs individuelles
(* : significativement différent entre les moyennes des trois lots ; $p < 0,05$)

L'étude du rapport entre la masse cardiaque globale et le poids de l'animal confirme l'existence de différences significatives entre lots. Ainsi ce rapport dans le lot *Hypoxique* est significativement supérieur à celui des deux autres lots. Cette différence n'est pas seulement le fait d'une diminution du poids des animaux, puisque le lot *Pair-fed* conserve un rapport identique à celui du lot *Témoin*. Cette différence significative donc est principalement le fait d'une augmentation de la masse cardiaque globale.

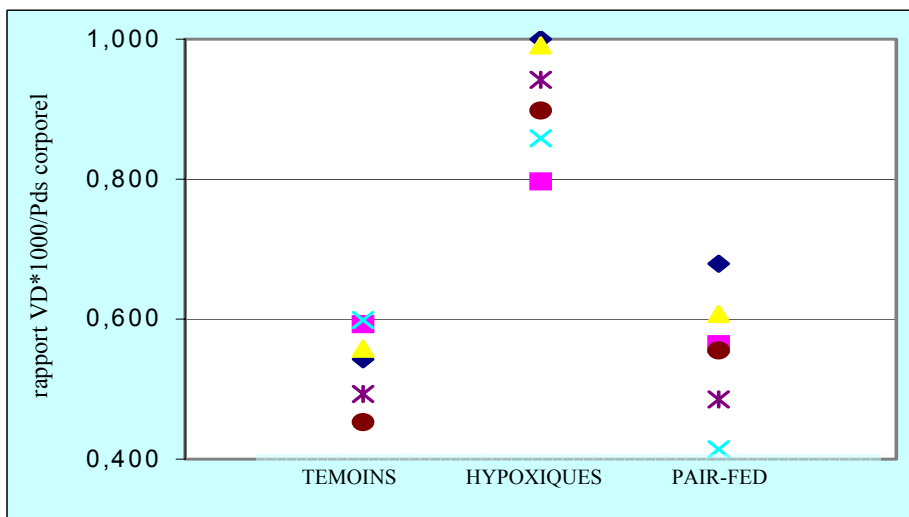


Fig n°12 :
Rapports entre la masse du ventricule droit et la masse corporelle.
(* : significativement différent entre les moyennes des trois lots ; $p < 0,05$)

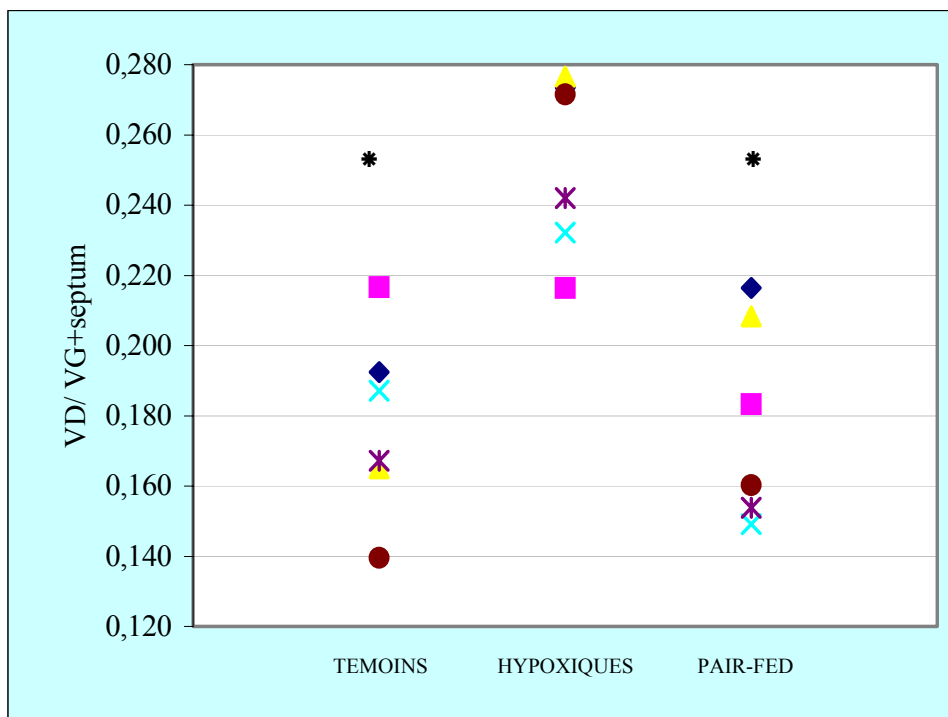


Fig n°13: Rapports entre la masse du ventricule droit et le reste du coeur (valeurs individuelles)
 (* : moyenne significativement différente de celle des témoins ; $p < 0,05$)

L'étude des rapports entre le ventricule droit et le reste du coeur, ou entre ventricule droit et le poids de l'animal montre là encore des différences significatives entre le lot *Hypoxique* et les deux autres lots. Il apparaît donc que l'un des effets les plus marquants de l'hypoxie chronique sur le muscle cardiaque est une importante hypertrophie du ventricule droit. En effet, une exposition de trois jours suffit à provoquer chez les rats hypoxiques une hypertrophie de près de 70% du ventricule droit par rapport aux rats normoxiques. En revanche, le ventricule gauche ne subit aucune variation morphologique.

Nous n'observons pas non plus de changements significatifs concernant les variables pondérales du coeur des rats *Pair-Fed*.

Ceci conduit chez les rats hypoxiques à une augmentation significative du rapport : masse du ventricule droit / masse ventricule gauche + septum, ainsi que du rapport : masse du ventricule droit / masse du corps.

II/ Le métabolisme énergétique du muscle cardiaque en hypoxie chronique

Dans ce chapitre, nous étudions les modifications du métabolisme énergétique des cellules cardiaques après trois jours d'exposition à l'hypoxie. L'intérêt de ces mesures était de savoir si les résultats enregistrés sur trois jours coïncident avec ceux observés lors de travaux antérieurs sur des périodes d'hypoxie de trois semaines.

A) Mesure des activités de la LDH, de l'HK et de la HAD des cellules cardiaques

Nous avons donc mesuré les activités enzymatiques des trois enzymes, aussi bien dans le ventricule gauche que dans le ventricule droit pour chacun des lots, l'ensemble des résultats numériques est reporté dans les tableaux n°3 et n°4.

- Résultats dans le ventricule droit :

Tableau n°3 : Activités enzymatiques des enzymes LDH, HK, HAD dans les ventricules droits des trois lots
(Moyenne \pm SEM ; * : significativement différent des témoins ; $p < 0,05$)

Activités enzymatiques exprimées en U/g	TEMOINS	HYPOXIQUES	PAIR-FED
LDH	277,8 \pm 15,7	297,9 \pm 17,8	277,4 \pm 17,1
HK	5,2 \pm 0,38	4,9 \pm 0,22	4,2 \pm 0,30 *
HAD	36,1 \pm 1,62	33,4 \pm 2,62	37,6 \pm 2,07

- Résultats dans le ventricule gauche :

Tableau n°4 : Activités enzymatiques des enzymes LDH, HK, HAD dans les ventricules gauches des trois lots
(Moyenne \pm SEM ; * : significativement différent des témoins ; $p < 0,05$)

Activités enzymatiques exprimées en U/g	TEMOINS	HYPOXIQUES	PAIR-FED
LDH	341,8 \pm 20,2	303,2 \pm 9,5 *	355,4 \pm 13,3
HK	7,0 \pm 0,38	6,4 \pm 0,47	5,1 \pm 0,34*
HAD	45,7 \pm 3,49	47,0 \pm 1,54	50,6 \pm 3,57

Les activités enzymatiques pour ces trois enzymes n'apparaissent pas toutes significativement différentes dans les trois groupes d'animaux et ne laissent pas encore entrevoir les modifications majeures observées sur une période plus longue. Les modifications dues à l'*acclimatation* à l'hypoxie, à savoir une hausse des activités enzymatiques de la lactate deshydrogénase (LDH) et de l'hexokinase (HK) et une baisse de l'activité enzymatique de la HAD pour le ventricule droit, ne sont donc pas observables les premiers jours d'exposition à l'hypoxie. Les seules variations significatives sont la diminution d'activité de la lactate deshydrogénase pour le lot *Hypoxique* dans le ventricule gauche ainsi que celle de HK pour le lot *Pair-Fed* au sein des deux ventricules.

D'après l'étude des rapports entre enzymes, il n'apparaît pas non plus de différences significatives entre les lots.

Tableau n°5: Rapports d'activités enzymatiques dans le ventricule gauche (U/g)
(Moyenne \pm ESM ; * : significativement différent des témoins ; $p < 0,05$)

Ventricule gauche	TEMOINS	HYPOXIQUES	PAIR-FED
LDH/HK	49,46 \pm 4,02	49,01 \pm 4,58	70,3 \pm 4,72 *
LDH/HAD	7,72 \pm 0,93	6,51 \pm 0,36	7,22 \pm 0,67
HAD/HK	6,57 \pm 0,51	7,56 \pm 0,61	9,91 \pm 0,73 *

Tableau 6 : Rapports d'activités enzymatiques dans le ventricule droit
(Moyenne \pm ESM ; * : significativement différent des témoins ; $p < 0,05$)

Ventricule droit	TEMOINS	HYPOXIQUES	PAIR-FED
LDH/HK	54,98 \pm 4,98	60,68 \pm 3,70	67,72 \pm 5,67 *
LDH/HAD	7,74 \pm 0,48	9,15 \pm 0,89	7,44 \pm 0,50
HAD/HK	7,08 \pm 0,40	6,83 \pm 0,65	9,19 \pm 0,73 *

L'étude des rapports d'activités entre enzymes apporte peu d'éléments nouveaux. On remarque toutefois que les rapports LDH/HK et HAD/HK sont supérieurs au lot *TEMOIN* chez les *PAIR-FED* de façon significative dans les deux ventricules, ce qui pourrait s'expliquer par l'augmentation d'activité de LDH et de HAD, mais surtout la diminution d'activité de l'hexokinase due à la restriction alimentaire. Par ailleurs, le rapport LDH/HAD est augmenté de façon non significative chez les rats hypoxiques dans le ventricule droit, ceci s'explique par une faible augmentation de l'activité de la LDH dans le ventricule droit.

Malgré ces faibles différences, nous pouvons conclure qu'au bout de trois jours d'hypoxie chronique normobare, les modifications du métabolisme énergétique ne sont pas encore mises en place, et qu'il s'agit probablement d'un mécanisme plus lent.

B) Proportions relatives des isoenzymes de la LDH

Les différentes isoenzymes de la lactate deshydrogénase sont donc séparées selon leur mobilité dans le gel d'agarose et sont visualisées après révélation et incubation sous forme de bandes quantifiables grâce à un logiciel informatique faisant office de densitomètre.

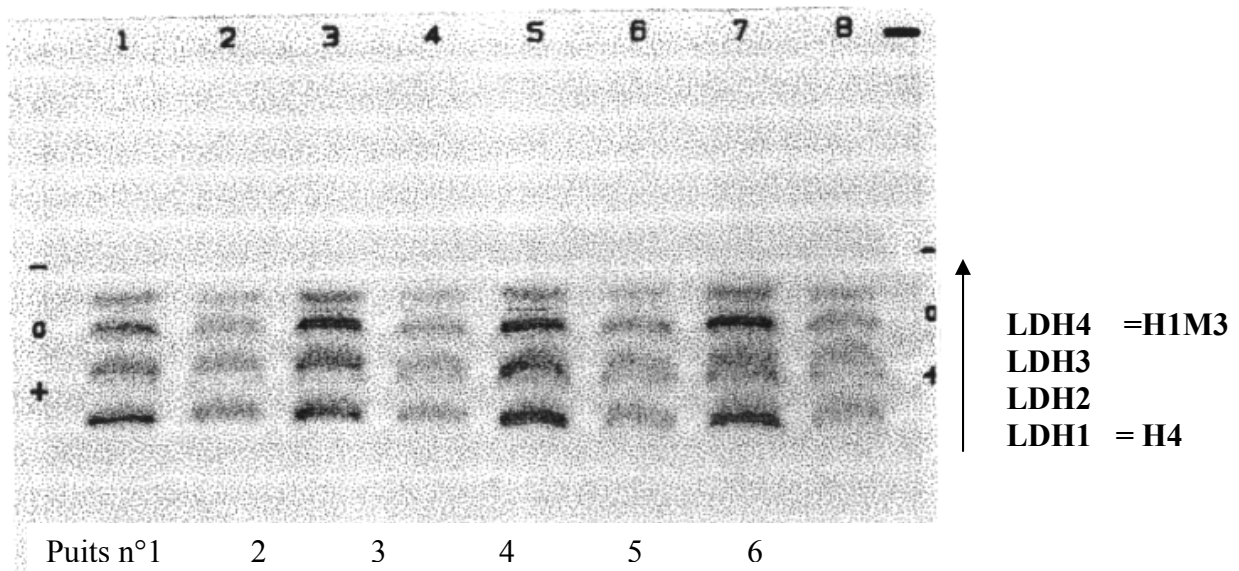


Fig n°13: Exemple de profil électrophorétique obtenu après révélation et incubation

Tableau n°7 : Pourcentages des différents isoformes de la LDH dans les ventricules droit et gauche
(Moyenne \pm SEM ; * : significativement différent des témoins ; $p < 0,05$)

VG	TEMOINS	HYPOXIQUES	PAIR-FED
H1M3	13,0 \pm 1,25	18,5 \pm 1,33*	11,5 \pm 1,20*
H2M2	33,7 \pm 1,84	33,8 \pm 1,21	29,8 \pm 0,31
H3M1	35,1 \pm 0,87	31,8 \pm 0,59*	35,0 \pm 1,11
H4	18,2 \pm 1,35	15,9 \pm 0,92	23,7 \pm 0,86*
VD	TEMOINS	HYPOXIQUES	PAIR-FED
H1M3	13,0 \pm 0,85	13,9 \pm 1,45	12,3 \pm 3,06
H2M2	34,1 \pm 3,00	36,3 \pm 2,72	31,1 \pm 2,00
H3M1	32,7 \pm 1,74	33,4 \pm 2,09	35,8 \pm 2,17
H4	20,2 \pm 1,16	16,4 \pm 1,18*	20,8 \pm 2,00

Les résultats observés au terme de la quantification ne montrent pas de différences significatives pour chacun des isoenzymes entre les lots. Toutefois, nos résultats semblent en faveur d'une augmentation significative des isoenzymes LDH4 et des formes « M » dans l'ensemble. Les études antérieures au sein du laboratoire, suivant un protocole semblable, mais sur une durée plus longue, mettent en évidence une augmentation des isoformes riches en sous-unités « M » chez les rats placés en hypoxie pendant trois semaines. Les expériences de Barrie et Harris (1976) précisent que la restriction alimentaire et l'hypertrophie ventriculaire entraînent une augmentation des formes « M ». Lors de nos expériences, la forte variabilité à l'intérieur de chaque lot estompe quelque peu les différences entre lots. Toutefois, si nous considérons les caractères en gras du tableau, il semble qu'il y ait une légère évolution vers les formes « M ».

Par ailleurs, si nous calculons la proportion de « H » et de « M » dans les ventricules gauche et droit, on trouve respectivement pour les *TEMOINS*, les *HYPOXIQUES* et pour les *PAIR-FED* les résultats du tableau suivant :

Tableau n°8 : Activités relatives des formes H et M dans les ventricules droit et gauche.

	VD H	VD M	H/M %M	VG H	VG M	H/M %M
TEMOINS	177,0	100,7	1,75 36,2	220,2	121,6	1,81 35,6
HYPOXIQUES	181,2	116,7	1,55 39,2	194,3	108,8	1,78 35,9
PAIR-FED	196,3	101,7	1,93 34,1	239,5	115,8	2,07 32,6

En reconsidérant les résultats d'activités en valeurs absolues pour les formes H et M, il semble en effet que l'évolution du rapport H/M se fasse vers une augmentation de M non significative, et ce à partir de trois jours d'hypoxie.

DISCUSSION

I/ Le modèle expérimental d'hypoxie

La pression partielle de l'oxygène dans l'air s'exprime par la formule suivante : $PO_2 = (P_b - P_{H_2O}) * FO_2$ avec P_{H_2O} correspondant à la pression de la vapeur d'eau (soit 47 mmHg dans l'air trachéal saturé en vapeur d'eau), P_b exprimant la pression barométrique (760 Torr au niveau de la mer) et PO_2 correspondant à la pression partielle en oxygène.

Il existe ainsi deux façons de créer des conditions hypoxiques :

- soit en diminuant la pression barométrique (P_b), c'est ce qui se produit en altitude, il s'agit d'une « *hypoxie hypobare* » ;
- soit en diminuant la fraction en O_2 , il s'agit alors d'une « *hypoxie normobare* ». C'est cette technique que nous avons utilisée lors de nos expériences, à l'aide d'une cage d'hypoxie.

La FO_2 dans l'air ambiant est égale à 0,21 quelle que soit l'altitude. Si elle est réduite à 0,10 en augmentant la proportion de l'azote (10% d'oxygène dans le mélange gazeux inspiré), il en résulte alors une PIO_2 (pression partielle inspirée en O_2) de: $(760 - 47) * 0,1 = 71,6$ Torr.

Cette hypoxie est équivalente à celle que nous obtiendrions en réduisant la pression barométrique à 388 mmHg, ce qui correspond à une altitude de 5500 mètres, comme le montre le calcul suivant : $PO_2 = (388 - 47) * 0,21 = 71,6$ Torr

Paul Bert publia en 1878 l'ouvrage intitulé « La pression barométrique : recherches de physiologie expérimentale ». Il écrivit que l'effet physiologique fondamental d'une diminution de la P_b est la variation concomitante de la pression partielle en oxygène. Ainsi, lorsque la pression barométrique diminue, la diminution de la pression partielle en oxygène qui en résulte est responsable d'une diminution de la concentration en O_2 du sang artériel.

Selon cet auteur, les effets de la baisse de la pression atmosphérique sont liés spécifiquement à la baisse de la pression en oxygène. Toutefois, des expériences menées depuis ont mis en évidence trois autres conséquences de l'hypoxie hypobarique (Dejours et Dejours, 1992):

- une faible densité de l'air inhalé (à 5500 m, la densité de l'air inspiré est divisée par deux);
- une augmentation de la diffusibilité des gaz pouvant jouer un rôle non négligeable lors de l'hématose, en permettant une meilleure homogénéité du gaz alvéolaire;
- une diminution de la pression partielle du gaz carbonique, qui, en raison de la faible proportion de CO_2 dans l'air ambiant, reste négligeable.

Les deux modèles d'hypoxie ne sont donc pas rigoureusement identiques quant à leurs conséquences physiologiques, toutefois, en terme d'hypoxie, les pressions partielles en O_2 sont les mêmes. Il faut ajouter que lors des expériences menées en altitude d'autres facteurs sont susceptibles d'interférer. Des contraintes environnementales s'associent à l'hypoxie, telles que le froid, l'humidité et modifient les réponses physiologiques. Mais reconstituer un modèle parfait d'hypoxie est difficile, à moins de travailler soi-même en altitude au sein d'un observatoire d'altitude. Par ailleurs, ces expériences en altitude ont montré que le principal facteur intervenant en altitude était l'hypoxie causée par la diminution de la pression barométrique. Ainsi, lors d'une expérience en altitude simulée, notre dispositif parvient à reproduire un bon modèle d'hypoxie d'altitude, même si nous ne sommes pas en mesure de dire s'il est strictement équivalent dans le cas normobare et dans le cas hypobare.

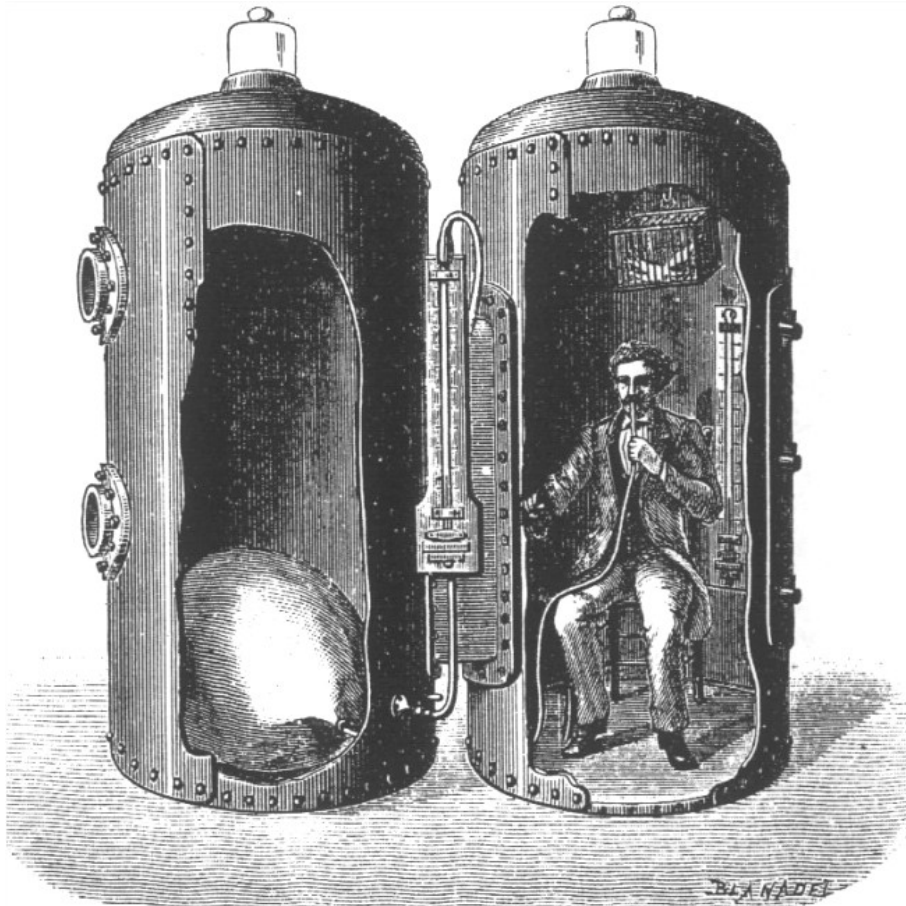


Fig n°14: la cloche à hypoxie hypobarique du physiologiste Paul Bert (1870). En baissant progressivement la pression de l'air dans la cloche, il observait les réactions de l'organisme: accélération du rythme cardiaque, nausées. Il constate qu'en inhalant de l'air enrichi en oxygène mais à la même pression, les effets disparaissent.

II/ Le modèle de restriction alimentaire :

La restriction alimentaire est un facteur qui a été pris en compte lors de nos expériences. Comme nous avons pu le rappeler en introduction, l'exposition à l'hypoxie s'accompagne toujours, que ce soit chez l'homme ou chez l'animal, d'une modification du comportement alimentaire qui se traduit par une période d'anorexie pendant les quatre à cinq premiers jours d'hypoxie. Après cette période, les rats reprennent une croissance normale.

Lors de notre conditionnement hypoxique de trois jours, il était impératif de distinguer les effets respectifs de l'hypoxie et de la restriction alimentaire, puisque cette dernière est à son paroxysme.

En exprimant les résultats sous forme de courbe (figure n°9), il apparaît que la courbe de croissance des rats hypoxiques est parallèle à celle des témoins, mais décalée vers le bas. Plusieurs travaux se sont attachés à montrer l'importance du facteur nutritionnel sur les réponses métaboliques au cours de l'adaptation à l'hypoxie. Dans le cadre de notre travail, nous avons pris en compte ce paramètre en observant pendant trois jours un lot *Pair-Fed*, c'est-à-dire un lot de rats non soumis à l'hypoxie, mais dont l'alimentation était restreinte.

Ainsi ces rats ont été soumis aux mêmes effets de la restriction alimentaire que lors d'une anorexie d'altitude.

Les jeunes rats femelles étant en phase de croissance, il serait normal d'observer une augmentation linéaire du poids de celles-ci dans le lot *Témoin*. Toutefois, la comparaison des moyennes pondérales à J0, J1, J2 et J3 met en évidence une croissance de seulement +1,06% le premier jour, puis de +8,24% à J2. Ce ralentissement de la croissance au sein du lot *Témoin* traduit la brusque baisse de prise alimentaire observée dans ce lot le premier jour. En effet, à J3, les rats ingèrent en moyenne 17,45 grammes et seulement 12,45 grammes à J1. Une hyporexie au sein d'un lot non soumis au conditionnement hypoxique peut s'expliquer par le stress dû à la séparation des animaux et leur répartition dans des cages individuelles. Celle-ci est susceptible d'interférer dans l'interprétation des effets de la restriction alimentaire sur le métabolisme énergétique et les différents paramètres étudiés.

En ce qui concerne les autres lots, nous observons une croissance complètement différente au sein du lot *Hypoxique* et ***Pair-Fed*** (en caractère gras): -12,20% (**-7,92%**) le premier jour, puis +2,20% (**-2,84%**) à J2 et de nouveau -0,30% (**-1,28%**) à J3. Les croissances de ces deux lots demeurent relativement différentes sur une période aussi courte que celle étudiée. Nous pouvons d'ailleurs nous poser la question de savoir si le modèle de restriction alimentaire est pertinent. Toutefois, en comparant l'évolution des masses corporelles des rats au-delà de ces trois jours d'hypoxie, sur la base de résultats d'expériences ultérieures sur trois semaines (figure n° 15), nous constatons que les rats *Pair-fed* suivent à peu près la même évolution que les rats *hypoxiques*, ils reproduisent donc bien la situation nutritionnelle des hypoxiques à l'issue des quatre premiers jours d'hypoxie. Notre modèle d'« anorexie d'altitude » est bon au-delà de quatre jours et approximatif sur trois jours, il est délicat de dissocier les modifications dues à l'exposition à l'hypoxie de celles dues à l'anorexie ou au stress.

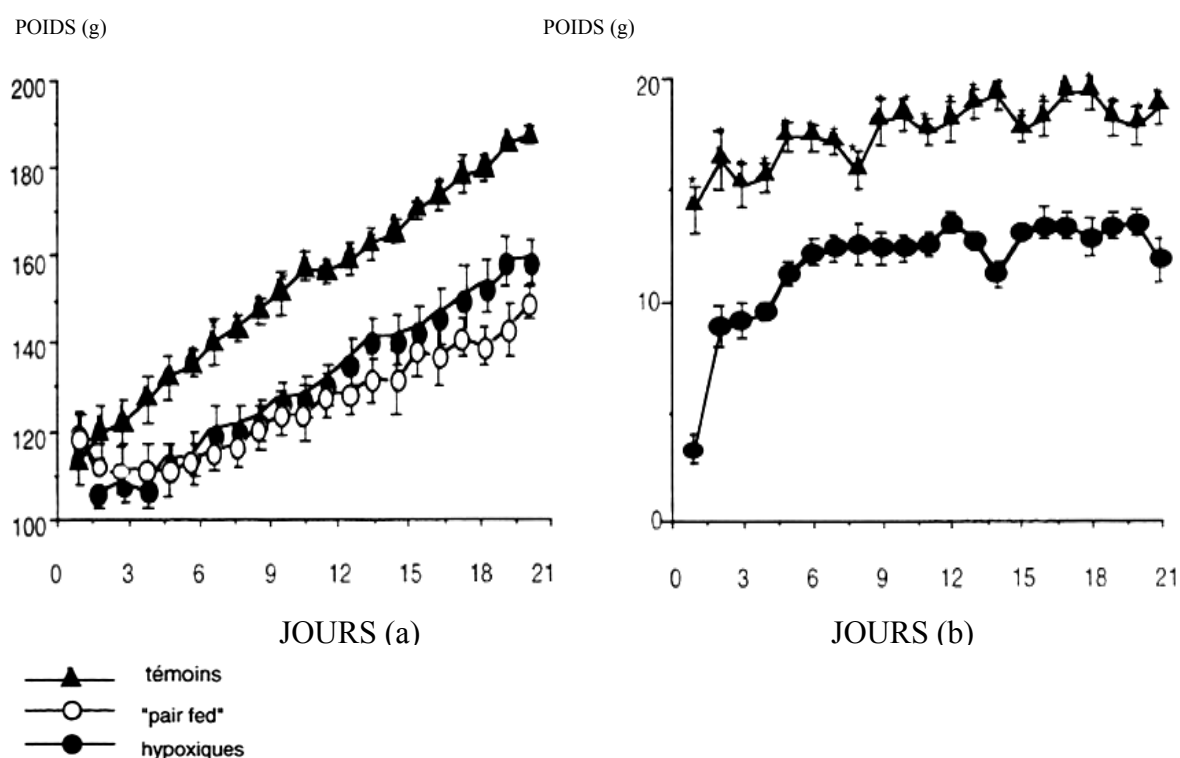


Fig n°15 : Courbes d'évolution du poids corporel (a) et de la prise alimentaire (b) au sein des trois lots, sur une période de trois semaines. Moyennes +/- SD (d'après Daneshrad et coll. 1999).

Enfin, l'analyse de la courbe de la figure n°15 permet de rajouter que la baisse de prise alimentaire observée sur trois jours, à savoir 17,45 grammes par jour en moyenne pour les rats *Témoins* contre 8,50 grammes par jour pour les rats *Hypoxiques* à J3 est quasiment acquise à l'issue des trois jours et se maintient sur une période de trois semaines.

La réduction du poids corporel et de la prise alimentaire au sein du lot de rats hypoxiques est en accord avec les données de la littérature observées sur des périodes d'hypoxie plus longues ou sur des rats d'âge et de sexe différents (Bigard et coll. 1996 ; Abdelmalki et coll. 1996).

III/ Effet de l'hypoxie et de la restriction alimentaire sur l'hématocrite :

Au terme des trois jours de conditionnement, il ne semble pas y avoir de différences significatives entre les hématocrites des trois lots de rats. Nous avons fait apparaître dans la figure n°16 les valeurs moyennes d'hématocrite obtenues au sein des trois lots dans les mêmes conditions expérimentales sur une période de trois semaines. Après trois semaines d'hypoxie, une élévation de 54% de l'hématocrite est enregistrée. L'analyse de nos résultats permet de conclure à l'absence d'effet significatif de l'hypoxie sur l'hématocrite au bout de trois jours. Ainsi, les répercussions sanguines de l'hypoxie sont plus lentes à se mettre en place. Ce constat a un intérêt double:

- si les effets de l'hypoxie sur l'hématocrite ne sont pas décelables au bout de trois jours, nous ne pouvons pas pour autant en déduire l'absence d'effet sur l'érythropoïèse. En effet, dans la moelle osseuse, une cellule souche indifférenciée se transforme tout en se divisant en hématies jeunes ou réticulocytes qui sont libérés dans la circulation sanguine pour finir leur transformation dans la rate. Le délai de maturation avant libération dans la circulation sanguine est d'environ cinq jours. Ainsi, il est légitime de ne pas observer de répercussion sanguine au terme de l'expérience. La synthèse d'érythropoïétine peut néanmoins déjà avoir été influencée;
- si certains auteurs ont prétendu que l'augmentation de la viscosité du sang pouvait être à l'origine d'une augmentation de la charge de travail et provoquer l'hypertrophie cardiaque, nous pouvons déduire de notre étude que la polyglobulie n'est pas la cause première et qu'un autre mécanisme intervient.

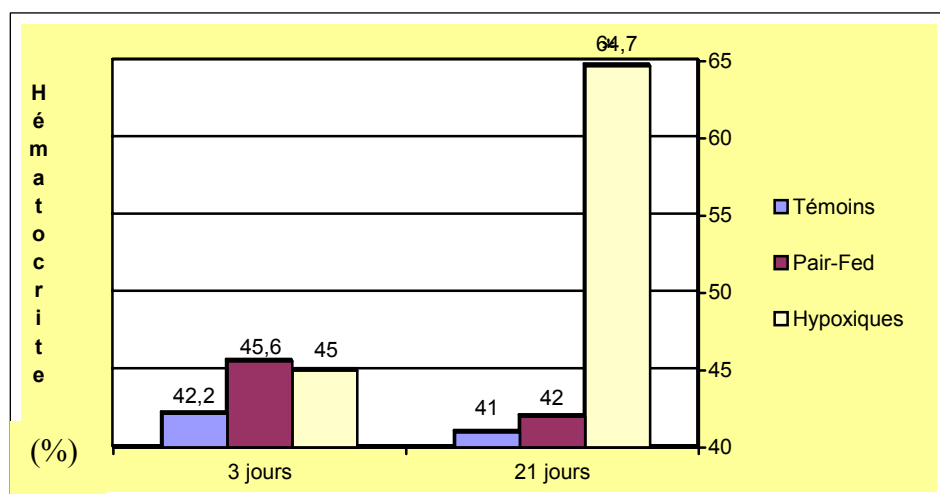


Fig n°16: Comparaison des effets de l'hypoxie et de la restriction alimentaire sur l'hématocrite de rats femelles en croissance sur une période courte de conditionnement et sur 21 jours (Daneshrad et coll. 1999)

IV/ Les caractéristiques morphologiques cardiaques droite et gauche en hypoxie chronique :

Au terme des trois jours de conditionnement, les cœurs ont été prélevés, pesés puis disséqués en ventricule droit, ventricule gauche et septum afin d'étudier les répercussions histologiques de l'hypoxie et de la restriction alimentaire sur le muscle cardiaque. Les résultats numériques figurent en annexe, la figure n°17 donne les valeurs absolues du poids total du cœur, du ventricule droit et du ventricule gauche + septum.

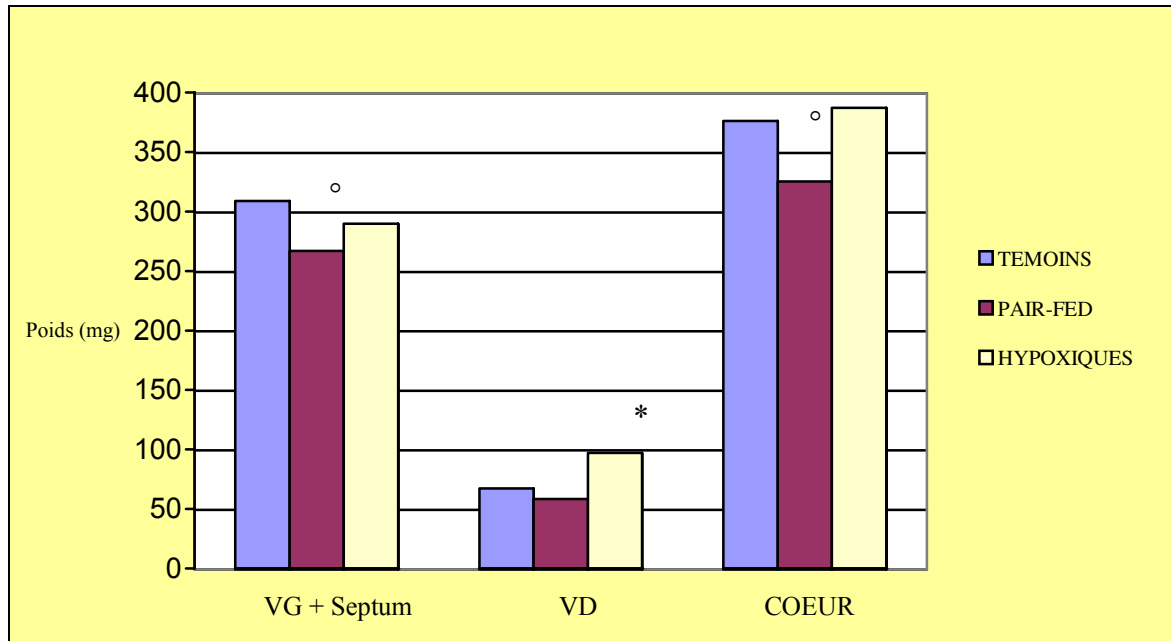


Fig n°17: Effets de l'hypoxie et de la restriction alimentaire sur la masse myocardique de jeunes rats femelles lors d'un conditionnement de trois jours.

Les résultats sont exprimés en moyenne ($p < 0,05$) * H vs T, PF et ° PF vs T

Le septum appartient normalement aux deux ventricules droit et gauche. Lors de notre expérience, le muscle cardiaque a été réparti en ventricule droit et ventricule gauche + septum dans un souci de reproductibilité des dissections. Nous étudions les évolutions de chacun des ventricules dans les chapitres suivants.

A) La masse ventriculaire droite:

Les mesures des variables pondérales que nous avons réalisées montrent que l'exposition à une hypoxie normobare pendant trois jours consécutifs entraîne d'importantes modifications morphologiques au niveau du ventricule droit. Nous avons pu mettre en évidence une augmentation de la masse du ventricule de + 44% dans le lot des rats hypoxiques en comparaison aux lots *Témoin* et *Pair-Fed*.

Cette augmentation de masse est à rattacher à une augmentation des performances ventriculaires maximales. En effet, les travaux de Kolar et Ostradal (1991) ont prouvé qu'il existait une relation linéaire entre la performance ventriculaire maximale et le poids du ventricule chez des rats soumis pendant cinq semaines à une hypoxie hypobare. Ces mesures des fonctions contractiles cardiaques ont été réalisées lors de travaux antérieurs au sein du

laboratoire en soumettant des rats à une hypoxie normobare sur une période de trois semaines. Elles avaient permis de conclure que l'augmentation de masse est en rapport avec une élévation de la contractilité du ventricule. Par ailleurs, Kolar (1991) a montré que cette augmentation des performances du ventricule droit hypertrophié était associée à une élévation de la pression sanguine dans l'artère pulmonaire. L'hypertension artérielle pulmonaire déjà mise en place dès les premiers jours d'exposition à l'hypoxie serait principalement due à une vasoconstriction pulmonaire. Si on prolonge l'exposition, des modifications structurales des artéioles pulmonaires consistant principalement en un épaississement de la musculature viennent s'ajouter au phénomène de vasoconstriction pulmonaire.

Ainsi donc nos expériences permettent d'attester de la précocité des modifications morphologiques et fonctionnelles. Les différences observées entre les différents lots sont déjà significatives.

De plus, d'après les résultats obtenus, l'hypertrophie ventriculaire est le seul fait de l'hypoxie et ne peut en aucun cas être liée à la restriction alimentaire car la masse moyenne des ventricules droits du lot *Pair-fed* est au contraire discrètement diminuée si on la compare au lot *Témoin*, mais de façon non significative.

Enfin nous pouvons rappeler que l'hypertension artérielle pulmonaire chronique qui apparaît lors du processus d'acclimatation à l'hypoxie et qui engendre l'hypertrophie ventriculaire n'est pas forcément une réponse favorable pour l'organisme. En effet, elle est à l'origine de pathologies caractéristiques telles que l'œdème aigü du poumon. De plus, nous avons indiqué en introduction que cette réponse de l'organisme n'était pas obligatoire, puisqu'elle est très atténuée chez des populations d'individus vivant en permanence en haute altitude.

B) La masse ventriculaire gauche:

En ce qui concerne les caractéristiques morphologiques et fonctionnelles du ventricule gauche, nous avons observé que le comportement de ce ventricule était totalement différent de celui du ventricule droit. Nous n'avons observé aucune modification de la masse du ventricule après trois jours d'exposition à l'hypoxie au sein du lot *Hypoxique*. Cependant l'absence d'hypertrophie du ventricule gauche reste une question très controversée. Ainsi, Schneider et coll. (1987) ont montré un accroissement de la masse de 30% du VG chez des rats exposés durant quatre semaines à une altitude de 6000 mètres. Nous pouvons tenter d'expliquer cette hypertrophie par un processus de régulation visant à rétablir le rapport d'un tiers existant dans les conditions physiologiques entre les deux ventricules. Une autre théorie expliquerait cette hypertrophie du ventricule gauche par une hypertension systémique consécutive à l'augmentation de la viscosité sanguine (polyglobulie liée à l'hypoxie) et à l'augmentation du tonus vasomoteur.

Dans tous les cas, nous n'avons pas observé d'hypertrophie ventriculaire dans notre modèle, et nos résultats sont en accord avec ceux observés auparavant dans notre laboratoire lors d'une exposition de trois semaines à l'hypoxie.

Nous observons en revanche des effets significatifs de la restriction alimentaire sur la morphologie cardiaque. Les rats du lot *Pair-fed* présentent des variables pondérales significativement diminuées par rapport au lot *Témoin*. Nous avons noté une baisse de 13,5% pour le ventricule gauche + septum et l'ensemble du cœur. Toutefois, cette diminution de la masse cardiaque n'est pas significative au sein du ventricule droit. Les rats du lot *Hypoxique* subissent la même restriction alimentaire, mais dans ce lot la diminution de masse observée au sein du ventricule gauche n'est pas significative. Nous pouvons donc supposer que l'*effet hypoxie* s'oppose à l'*effet restriction alimentaire* au sein du ventricule gauche.

C) Comparaison de nos résultats aux études antérieures menées sur trois semaines d'hypoxie :

Il est intéressant de comparer nos résultats obtenus sur trois jours à ceux obtenus dans les mêmes conditions expérimentales sur trois semaines. La figure n°18 met en évidence une augmentation de 34% de la masse totale du cœur sous l'effet de l'hypoxie. Elle n'était que de 13,5% au bout de trois jours. Par ailleurs, nous pouvons observer une hypertrophie ventriculaire gauche et droite de 18% et de 170% respectivement après trois semaines d'hypoxie. Notre expérience n'a pas montré d'augmentation de la masse du ventricule gauche et l'augmentation de masse du ventricule droit n'était que de 44%. Ces résultats nous confortent dans l'hypothèse que les effets restriction alimentaire et hypoxie se compensent durant ces premiers jours de conditionnement au niveau du ventricule gauche, puisque la restriction alimentaire est à son paroxysme les trois ou quatre premiers jours. L'hypertrophie ventriculaire droite est, semble-t-il, un phénomène dont l'intensité est dépendante du temps.

Enfin, la restriction alimentaire n'avait aucun effet significatif lors de cette expérience sur trois semaines, il est légitime de penser que, passée la phase paroxystique de restriction alimentaire durant laquelle certains rats ne s'alimentaient pas du tout, la prise d'aliment se stabilise à des valeurs plus élevées et n'ayant plus d'effet significatif sur le myocarde.

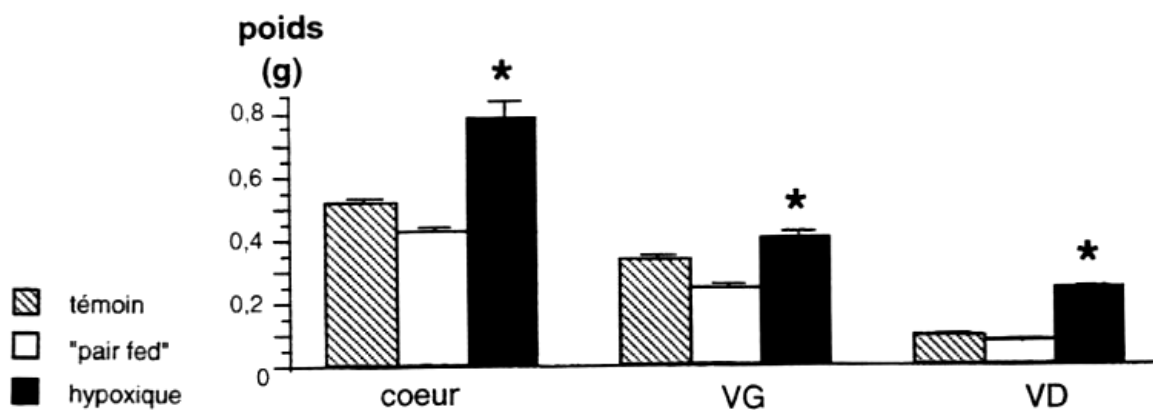


Fig n°18 : Effets de l'hypoxie et de la restriction alimentaire sur la masse myocardique de jeunes rats femelles durant trois semaines de conditionnement. (Daneshrad et coll. 1999).
Les résultats sont exprimés en moyenne ($p < 0,05$) * H vs T, PF

En conclusion, nous avons étudié le poids des parties du cœur rapporté au poids total du cœur. Au bout de trois jours, les proportions du ventricule droit et ventricule gauche+septum sont respectivement de 25% et 75% pour le lot *Hypoxique* contre 18% et 82% pour les deux autres lots. A l'issue de trois semaines de conditionnement, les modifications morphologiques sont encore plus manifestes puisque les proportions ventricule droit/ ventricule gauche + septum sont cette fois de 38% et 62% (Daneshrad et coll.1999).

L'hypoxie provoque une augmentation de la masse musculaire cardiaque, notamment dans le ventricule droit, tandis que la restriction alimentaire tend au contraire à la diminuer. Cette opposition est particulièrement importante durant les premiers jours d'hypoxie. Par la suite, la restriction alimentaire perd de son importance et l'effet *hypoxie* prend le dessus. Nous verrons dans le chapitre suivant que cette opposition peut également avoir des conséquences métaboliques.

V/ Adaptations métaboliques à l'hypoxie chronique

A) Adaptation des enzymes à l'hypoxie au sein des cellules myocardiques

Nous n'observons pas de variations significatives des activités des enzymes lactate deshydrogénase, hexokinase et β -Hydroxy-acyl-CoA deshydrogénase. Toutefois, nous pouvons observer des tendances qui semblent en accord avec les résultats observés lors d'expériences antérieures au sein du laboratoire. En effet, l'exposition de rats à une hypoxie normobare durant trois semaines et selon le même protocole a permis de mettre en évidence des variations significatives des enzymes du myocarde, à savoir :

- La *restriction alimentaire* entraîne une augmentation de l'activité de LDH dans le ventricule gauche et peu d'effets sur les autres enzymes ;
- L'*hypoxie* provoque une forte augmentation de l'activité de l'hexokinase et une diminution de l'activité de la HAD dans les deux ventricules.

Les seules variations significatives que nous observons sont la diminution d'activité de la lactate deshydrogénase pour le lot *Hypoxique* dans le ventricule gauche ainsi que la baisse d'activité enzymatique de l'hexokinase pour le lot *Pair-fed* au sein des deux ventricules.

Lors de nos expériences, nous avons pu mettre en évidence une augmentation des rapports LDH/HK et HAD/HK pour le lot *Pair-fed*. Cette augmentation, bien que non significative, peut s'expliquer par l'augmentation de l'activité de la LDH et surtout par la diminution de l'activité de l'hexokinase. Les travaux de Barrie et Harris (1976) ont montré que la restriction alimentaire était à l'origine d'une baisse d'activité de l'hexokinase. Par ailleurs, le rapport LDH/HAD est augmenté chez les rats hypoxiques dans le ventricule droit, ceci s'explique par une faible augmentation de l'activité de la LDH optimisée par une faible diminution de l'activité enzymatique de la HAD dans le ventricule droit.

Malgré ces faibles différences, nous pouvons conclure qu'au bout de trois jours d'hypoxie chronique normobare, les modifications du métabolisme énergétique ne sont pas encore mises en place, et qu'il s'agit probablement d'un mécanisme plus lent.

B) Changements de composition de la lactate deshydrogénase

Les variations observées ne sont là encore pas significatives. Les travaux de Barrie et Harris (1976) précédemment cités ont également montré que la restriction alimentaire et l'hypertrophie ventriculaire entraînaient une augmentation des sous-unités « M » de la LDH, tandis que l'hypoxie chronique est plutôt à l'origine d'une augmentation des sous-unités « H ».

Nos résultats ne montrent pas de différences flagrantes entre les lots, mais une faible diminution de la proportion de sous-unités « H » dans les deux ventricules, qui permettrait d'entrevoir une lente dérive vers une métabolisme moins aérobie. On peut se demander si les résultats n'auraient pas été plus significatifs avec des rats adultes, plutôt qu'avec des rats d'un mois. En effet, on sait qu'il y a chez les adultes une évolution vers plus de sous-unités « H ». Ainsi, le métabolisme n'étant pas parfaitement mature, les isoformes « H » sont moins prépondérants chez les rats témoins, et les différences avec le lot *Hypoxique* sont moins significatives.

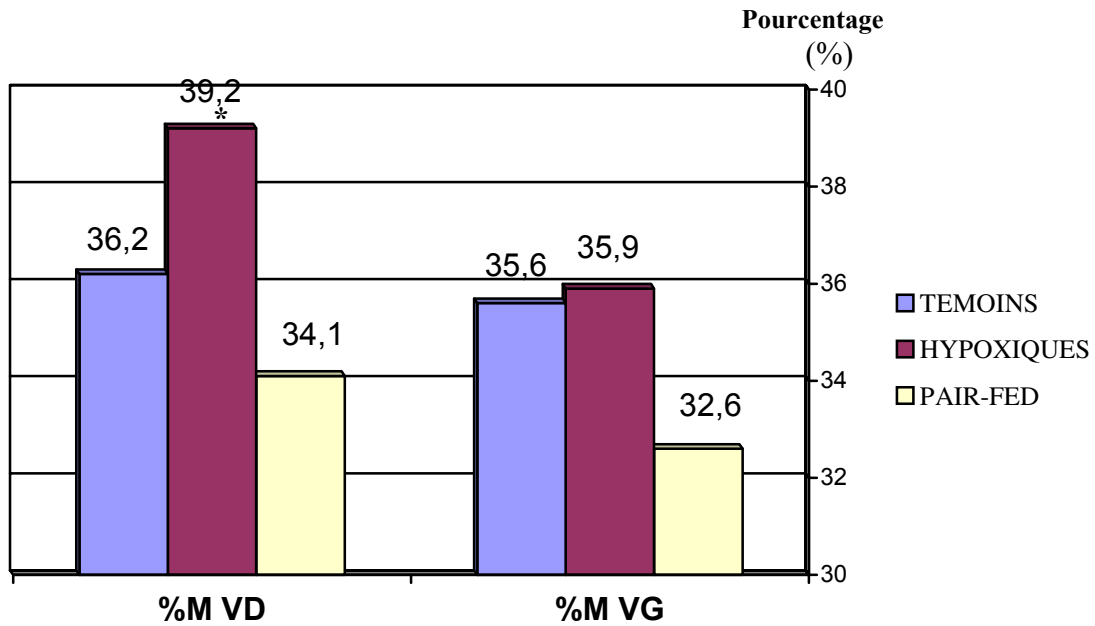


Fig n°19 : Proportions moyennes de l'isoforme M au sein des ventricules droit et gauches pour les trois lots.
 Les résultats sont exprimés en moyenne ($p < 0,05$) * H vs T, PF

La réponse fonctionnelle est bien évidemment rapidement mise en route par le jeu de régulation végétative à temps de réponse très bref. Les réponses concernant le métabolisme énergétique sont plus longues à se mettre en place ce qui n'est pas surprenant. Plus inattendue en revanche est la rapidité des modifications de la masse ventriculaire droite; en effet, cet ajustement fait aussi appel à des processus de synthèse eux-mêmes dépendants du métabolisme énergétique.

Conclusion :

L'intérêt de développer les recherches pour mieux comprendre les stratégies cellulaires de défense contre l'hypoxie n'est plus à démontrer. En effet, ces études trouvent des applications directes dans bien des domaines, en physiologie fondamentale grâce au développement de la physiologie du sport, afin de mieux connaître les réactions de l'organisme à un environnement extrême, mais également en clinique, où l'hypoxie concerne les patients souffrant d'insuffisance respiratoire chronique ou encore d'anémie. La compréhension des mécanismes mis en place peut donc conduire au développement de nouvelles stratégies thérapeutiques.

A partir d'un modèle animal, des rats exposés à trois jours d'hypoxie normobare, nous nous sommes intéressés aux modalités d'adaptation à l'hypoxie, aussi bien systémiques que myocardiques.

Ainsi, à l'échelle de l'organisme, l'hypoxie entraîne très précocement une diminution de la croissance et de la consommation d'aliment chez des individus jeunes. Nous n'avons en revanche pas observé de polyglobulie à l'issue des trois jours. De même, au niveau du coeur, les résultats de nos travaux permettent d'attester de la précocité des réponses morphologique et fonctionnelle du muscle cardiaque. Nous avons mis en évidence une hypertrophie du ventricule droit après trois jours d'hypoxie sans rapport avec le phénomène d'anorexie. Le ventricule gauche ne semble pas pour sa part subir de modifications significatives, contrairement à ce qui a été montré sur des périodes plus longues de conditionnement. Il en ressort que l'hypertrophie ventriculaire gauche pourrait s'expliquer en partie par l'augmentation de viscosité du sang et interviendrait ultérieurement dans le mécanisme adaptatif à l'hypoxie.

Enfin, nous avons montré que les mécanismes d'adaptation du métabolisme énergétique étaient, quant à eux, plus lents à se mettre en place. La comparaison de nos résultats à ceux trouvés lors d'une exposition de trois semaines à l'hypoxie normobare permet de déceler une évolution vers un métabolisme moins aérobie afin de préserver les fonctions contractiles, mais les variations ne sont pas encore significatives. Les activités enzymatiques ne sont, pour la plupart, pas significativement altérées. La seule variation enzymatique significative se retrouve au niveau du profil électrophorétique des isoenzymes de la lactate deshydrogénase. L'activité des isoformes « M » augmente au niveau du ventricule droit, mais ne semble, à ce stade, pas altérée dans le ventricule gauche. L'ensemble des tendances observées sont probablement minimisées par la forte variabilité au sein de chaque lot. Nous aurions peut-être observé des résultats plus significatifs en augmentant le nombre d'animaux dans chacun des groupes.

AGREMENT ADMINISTRATIF

Je soussigné, P. DESNOYERS, Directeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, certifie que
M. SAULNIER-TROFF François-Guillaume
a été admis(e) sur concours en : 1997
a obtenu son certificat de fin de scolarité le : 12 juillet 2002 (E.N.V.A.)
n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.

AGREMENT SCIENTIFIQUE

Je soussigné, H. LEFEBVRE, Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,
autorise la soutenance de la thèse de :
M. SAULNIER-TROFF François-Guillaume
intitulée :
« Adaptations morphologique, fonctionnelle et métabolique du muscle cardiaque de jeunes rats soumis à une hypoxie normobare de trois jours »

**Le Professeur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Professeur Hervé LEFEBVRE**



**Vu :
Le Directeur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Docteur Pierre DESNOYERS**



**Vu :
Le Président de la thèse :
Professeur Daniel RIVIERE**



**Vu le : 17 JUIN 2004
Le Président
de l'Université Paul Sabatier
Professeur Jean-François SAUTÉREAU**



BIBLIOGRAPHIE

ABDELMALKI A., FIMBEL S., MAYET-SORNAY M.H., SEMPORE B., FAVIER R., Aerobic capacity and skeletal muscle properties of normoxic and hypoxic rats in response to training. *Pflugers Arch. Eur. J. Physiol.* – 1996, **431**, 671 – 679.

ABRAHAM A.S., KAY J.M., COLE R.B., PINCOCK A.C., Haemodynamic and pathological study of the effect of chronic hypoxia and subsequent recovery on the heart and pulmonary vasculature of the rat. – *Cardiovascular Research* – 1971, **5**, 95- 102.

ARMS K., CAMP P.S., *Biologie Tome II*. Montréal: éditions Etudes Vivantes, 1989. 566 p.

BANCHERO N., Cardiovascular responses to chronic hypoxia. – *Annu. Rev. Physiol.* –1987, **49**, 465-476.

BARRIE S.E. et HARRIS P., Effects of chronic hypoxia and dietary restriction on myocardial enzyme activities. – *Am. J. Physiol.* –1976 , **231**, 1308 – 1313.

BERT P., *La pression barométrique : recherches de physiologie expérimentale*. Paris , Ed Masson , 1978.

BIGARD A.X., DOUCE P., MARINO D., LIENHARD F. et GUEZENNEC C.Y., Changes in dietary protein intake fail to prevent decrease in muscle growth induced by severe hypoxia in rats. – *J. Appl. Physiol* – 1996, **80** (1), 208 – 215.

COSTA L.E., BOVERIS A., KOCH O.R., TAQUINI A.C., Liver and heart mitochondria in rats submitted to chronic hypobaric hypoxia. – *Am. J. Physiol.*- 1988, **255**, 123- 129.

COUDERT J., *La circulation pulmonaire du natif de la haute altitude à la PAZ (3700 mètres)*. In: RUFFIE J., QUILICI J.C., LACOSTE M.C. *Anthropologie des populations andines*. Paris : Inserm, 1996, 305- 317.

DANESHTRAD Z. Distinction des effets du stimulus hypoxie et de ceux de la restriction alimentaire sur le métabolisme énergétique myocardique chez le rat soumis à une hypoxie chronique. Th. D. : Biologie : Joseph Fourier-Grenoble: 1999. 196 p.

DANESHTRAD Z., PILAR GARCIA-RIERA M., VERDYS M., ROSSI A., Differential responses to chronic hypoxia and dietary restriction of aerobic capacity and enzyme levels in the rat myocardium. – *Molecular and Cellular Biochemistry* – 2000, **210**, 159 - 166.

DAVID H., MEYER R., MARX L., GUSKI H. et WENZELIDES K., Morphometric characterization of left ventricular myocardial cells of male rats during postnatal development. – *J. Mol. Cell. Cardiol.* – 1979, **11**, 631 – 638.

DEJOURS P. et DEJOURS S., The effects of barometric pressure according to Paul Bert : the question today.- *Int. J. Sports Med.* – 1992, **13**, suppl.1 : S1 - S5.

DO E., BAUDET S., VERDYS M., TOUZEAU, BAILLY F., LUCAS-HERON B., SAGNIEZ M., ROSSI A., NOIREAUD J., Energy metabolism in normal and hypertrophied right ventricle of the ferret heart. – *J. Mol. Cell. Cardio* – 1997, **29**, 1903- 1913.

FIRTH J.D., HEBERT B.L., RATCLIFFE P.J., Hypoxic regulation of lactate deshydrogenase. – *A. J. Biol. Chem* – 1995, **270**, 21021-21027.

FOX A.C et REED G.E., Changes in lactate deshydrogenase composition of hearts with right ventricular hypertrophy. – *Am. J. Physiol.* – 1969 , **216**, 1026 – 1033.

GLEADLE J.M., EBERT B.L. et RATCLIFFE P.J., Diphenylene iodonium inhibits the induction of erythropoietin and other mammalian genes by hypoxia. Implications for the mechanism of oxygen sensing. – *Eur. J. Biochem.* – 1995 , **234**, 92 – 99.

GRANDJEAN D., DRISS F., SERGHERAERT R., VALETTE J.P., MICHEL A., LUIGI R., Conséquences biologiques et nutritionnelles du travail en haute altitude chez le chien de recherche.- *Recueil de Médecine Vétérinaire* – 1997, **172**, 601 – 621.

GOLDBERG M., DUNNING S., BUNN H.F., Regulation of the erythropoietin gene : evidence that the oxygen sensor is a heme protein. – *Science* – 1988 , **242**, 1412 – 1415.

GUILLAND J.C. et KLEPPING J., Nutritional alterations at high altitude in man. – *Eur. J. Appl. Physiol.* – 1985 , **54**, 517 – 523.

HADDAD F., BODELL W., McCUE S., HERRICK R. et BALDWIN K., Food restriction-induced transformations in cardiac functional and biochemical properties in rats. – *J. Appl. Physiol.* – 1993 , **74**, 606 – 612.

HEATH D., WILLIAMS D., HARRIS P., SMITH P., KRÜGER H., RAMIREZ A., The pulmonary vasculature of the mountain-viscacha (*Lagidium peruanum*). The concept of adapted and acclimatized vascular smooth muscle. – *J. Comp. Path.* – 1981, **91**, 293 - 301.

HEINEMAN P.F. et BALABAN R.S., Control of mitochondrial respiration in the heart in vivo. – *Annu. Rev. Physiol.* – 1990 , **52**, 523 – 542.

HEYMSFIELD S.B., STEVENS V. et NOEL R., Biochemical composition of muscle in normal and semistarved human subjects : relevance to anthropometric measurement. – *Am. J. Clin. Nutr* – 1982 , **36**, 131 – 142.

HOCHACHKA P.W., STANLEY C., SUMAR-KALNUWSKI J., Metabolic meaning of elevated levels of oxidative enzymes in high altitude adaptative animals: an interpretive hypothesis.- *Respir. Physiol.* – 1982, **52**, 303-313.

HOPPELER H., The different relationship of VO₂ max to muscle mitochondria in humans and quadrupedal animals. – *Respir. Physiol.* – 1990 , **80**, 137 – 146.

JONES D.P., KENNEDY F.G., ANDERSSON B.S., AHN T.Y., WILSON E., When is a mammalian cell hypoxic? Insights from studies of cells versus mitochondria. – *Mol. Physiol* – 1985, **8**, 473 – 482.

KAYAR S.N. et BANCHERO N., Myocardial capillarity in acclimatation to hypoxia. – *Pflügers Arch.* – 1985 , **404**, 319 – 325.

- KAYSER B., HOPPELER H., CLAASSEN H., CERRETELLI P., Muscle structure and performance capacity of Himalayan sherpas. – *J. Appl. Physiol.*- 1991, **70**, 1938 - 1942.
- KAYSER B., HOPPELER H., DESPLANCHES D., MARCONI C., BROERS B. et CERRETELLI P., Muscle ultrastructure and biochemistry of lowland Tibetans. – *J. Appl. Physiol* - 1996 , **81**(1), 419 – 425.
- KENNETH S.K., HANNON J.P., Efficacy of food utilisation at high altitude. – *Fed Proce* – 1969, **28**, 944 - 947.
- KOLAR F. et OSTRADAL B., Right ventricular function in rats with hypoxic pulmonary hypertension. – *Pflügers Arch.* – 1991 , **419**, 121 – 126.
- KOOB G., ANNAU Z., RUBIN R. J. et MONTGOMERY M.R., Effect of chronic hypoxia and carbon monoxide on food intake, water intake, and body weight in two strains of rats. – *Life Science* – 1974 , **14**, 1511 – 1520.
- LONGMUIR I.S., Adaptation to hypoxia. – *Adv. Exp. Med. Biol.* – 1987 , **215**, 246 – 253.
- LOWRY O.H., PASSONNEAU J., A flexible system of enzymatic analysis. New-York: Academic Press , 1972.
- MARTI H.H., JUNG H.H., PFEILSCHITER J., BAUER C., Hypoxia and cobalt stimulate lactate dehydrogenase activity in vascular smooth muscle cells. – *Eur. J. Physiol* – 1994, **429**, 216-222.
- MARTIN L., AGUIRRE F., GROSMAN G., SARCHI M.I. et KOCH O., Glucocorticoid response and adrenal lipid peroxidation in rats submitted to chronic hypobaric hypoxia. – *Arch. Int. Physiol. Bioch. Biophys.* – 1993 , **101**, 173 – 177.
- MAGER M., BLATT W.F., NATALE P.J. et BLATTEIS C.M., Effect of high altitude on lactate dehydrogenase isoenzymes of neonatal and adult rats. – *Am. J. Physiol.* – 1968 , **215**, 8 – 13.
- MILLER A.T. et HALE D.M., Organ lactate dehydrogenase in altitude acclimatized rats. – *J. Appl. Physiol.* – 1968 , **25**, 725 – 728.
- MOORE L.G., CURRAN-EVERETT L., DROMA T.S., GROVES B.M., Mc CULLOUGH R.E., Mc CULLOUGH R.G., SUN S.F. et SUTTON J.R., Are tibetans better adapted ? – *Int. J.Sports Med.* – 1992 , **13** (suppl.1), S86 – S88.
- MORET P., Myocardial metabolism : acute and chronic adaptation to hypoxia. – *Medicine Sport Sci.* – 1985 , **19**, 48 – 63.
- NOAKES T.D., OPIE L.H., Substrates for maximum mechanical function in isolated perfused working rat heart. – *J. Appl. Cardiol.* – 1989 , **4**, 391-405.
- PELOUCH V., OSTADAL B., PROCHAZKA J., URBANOVA D. et WIDIMSKY J., Effect of high altitude hypoxia on the protein composition of the right ventricular myocardium. – *Prog. Resp. Res.* – 1985 , **20**, 41 – 48.

- RICHALET JP., L'adaptation à l'altitude. – *La Recherche* – 1987, **194**, 1482-1492.
- RICHALET J.P. et RATHAT C., Pathologie et altitude. Ed.Masson , 1990.
- RICHALET J.P., La physiologie de l'alpiniste. – *Pour la Science : la vie dans les milieux extrêmes.*, - oct.1994 , 16 -22.
- SCHNEIDER M., WIESE S., KUNKEL B., HAUK H.et PFEIFFER B., Development and regression of right heart ventricular hypertrophy : biochemical and morphological aspects. – *Z. Kardiol.* – 1987 , **76** (suppl.3), 1 – 8.
- SOBEL B.E., HENRY P.D., BONNIE J.E., BLOOR M.C. Altered myocardial lactic deshydrogenase isoenzymes in experimental cardiac hypertrophy. – *Lab Invest* – 1970 , **22**, 23 - 27.
- SWYNGHEDAUF B. La cellule myocardique et son métabolisme. In: MEYER P., Physiologie humaine. 2° édition. Paris : Flammarion médecine-sciences, 1983, 640 – 646.
- TUCKER A., Mc PURTRY I.F., REEVES J.T., ALEXANDER A.F., WILL D.H. et GROVER R.F., Lung vascular smooth muscle as a determinant of pulmonary hypertension at high altitude. – *Am. J. Physiol.* – 1975 , **228** , 762 – 767.
- VAN WINKLE W.B., SNUGGS M. et BUJA L.M., Hypoxia-induced alterations in cytoskeleton coincide with collagenase expression in cultured neonatal rat cardiomyocytes. – *J. Mol. Cell. Cardiol.* – 1995 , **27** , 2531 – 2541.
- VERGNES H., Modifications in activities of enzymes in extracts from myocardia of rats living at high altitude. – *Cardiology* –1971, **56**, 222-223.
- YOSHINO M., KATO K., MURAKAM K., KATSUMATA Y., TANAKA M., MORI S., Shift of anaerobic to aerobic metabolism in the rats acclimatized to hypoxia. – *Comp. Biochem. Physiol.*- 1990, **97A**, 341- 344.

ANNEXES

Variables pondérales des cœurs prélevés au sein des trois lots à l'issue des trois jours

ANIMAL	POIDS (g)	PDS VD (mg)	PDS VG (mg)	pds septum (mg)	pds tot (mg)	Ht(%)
T1	140	76	105	213	394	45
T2	140	83	108	192	383	43
T3	120	67	160	179	406	41
T4	127	76	102	228	406	42
T5	109,5	54	95	174	323	42
T6	106	48	61	235	344	40
 						
H1	105	105	135	144	384	46
H2	113	90	172	154	416	45
H3	113	112	157	137	405	51
H4	106	91	113	188	392	42
H5	103	97	175	129	401	44
H6	98	88	130	106	324	42,3
 						
PF1	109	74	157	111	342	46,5
PF2	117	66	197	97	360	48
PF3	107	65	128	119	312	43,5
PF4	99	41	103	131	275	46
PF5	103	50	65	210	325	45,6
PF6	97,3	54	75	208	337	44

Ht = hématoците

Comportement alimentaire et croissance mesurés au sein des trois lots

ANIMAL	PDS J0	PDS J1	PDS J2	POIDS (g)	ALIM J1	ALIM J2	ALIM J3 (g)
T1	120	120	140	140	12,3	?	20
T2	130	130	140	140	12,3	?	20
T3	110	110	120	120	12,3	?	20
T4	114	120,1	125,1	127	12,6	13,7	14,9
T5	100	100,3	106,4	109,5	12,6	13,7	14,9
T6	100	100,7	105,8	106	12,6	13,7	14,9
H1	120	100	100	105	2	0	11
H2	130	110	115	113	0	10	13
H3	120	110	110	113	8	0	15
H4	121	104,8	108	106	2,1	7,2	8,6
H5	112	102,1	104,5	103	5,6	8,1	9,5
H6	110	99,2	102,4	98	3,1	8,2	7,8
PF1	120	110	110	109	3	8	9
PF2	130	120	120	117	3	8	9
PF3	110	110	110	107	3	8	9
PF4	115	100,3	95,3	99	3	2	8
PF5	121	111,2	105,6	103	3	3	8
PF6	120	107,8	99,6	97,3	3	2,9	8

Evolution des poids (en grammes) au sein du lot Témoin, du lot Hypoxique et du lot Pair-Fed

Témoins	PDS J0	PDS J1	PDS J2	POIDS	moy/ani	SD/ animal
1	120	120	140	140	130	10
2	130	130	140	140	135	5
3	110	110	120	120	115	5
4	114	120,1	125,1	127	121,6	5,04
5	100	100,3	106,4	109,5	104,1	4,05
6	100	100,7	105,8	106	103,125	2,79

MoyenneJ0	MoyenneJ1	MoyenneJ2	Moyenne J3
112,33	113,52	122,88	123,75
Ecart-type 0	Ecart-type 1	Ecart-type 2	Ecart-type 3
11,69	11,90	15,25	14,63

Hypoxiques	PDS J0	PDS J1	PDS J2	POIDS	moy/ani	SD/ animal
1	120	100	100	105	106,25	9,46
2	130	110	115	113	117,00	8,91
3	120	110	110	113	113,25	4,72
4	121	104,8	108	106	109,95	7,48
5	112	102,1	104,5	103	105,40	4,51
6	110	99,2	102,4	98	102,40	5,40

MoyenneJ0	MoyenneJ1	MoyenneJ2	MoyenneJ3
118,83	104,35	106,65	106,33
Ecart-type 0	Ecart-type 1	Ecart-type 2	Ecart-type 3
7,17	4,79	5,47	5,85

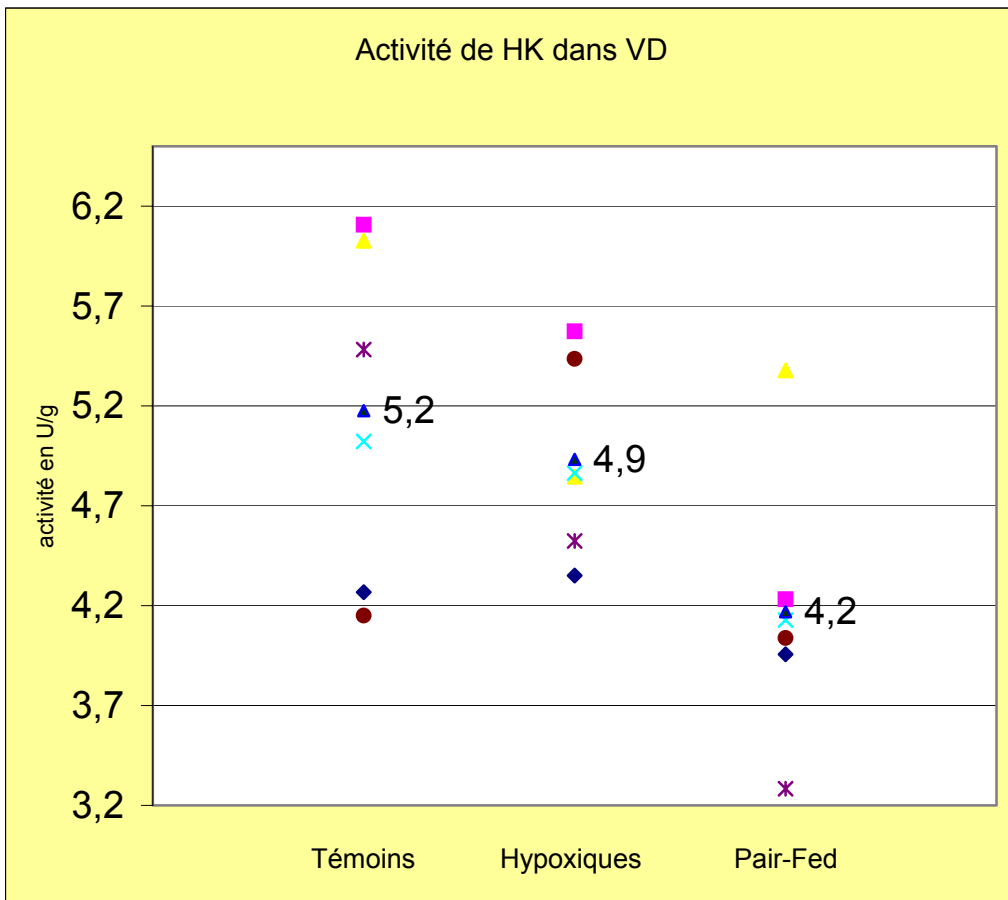
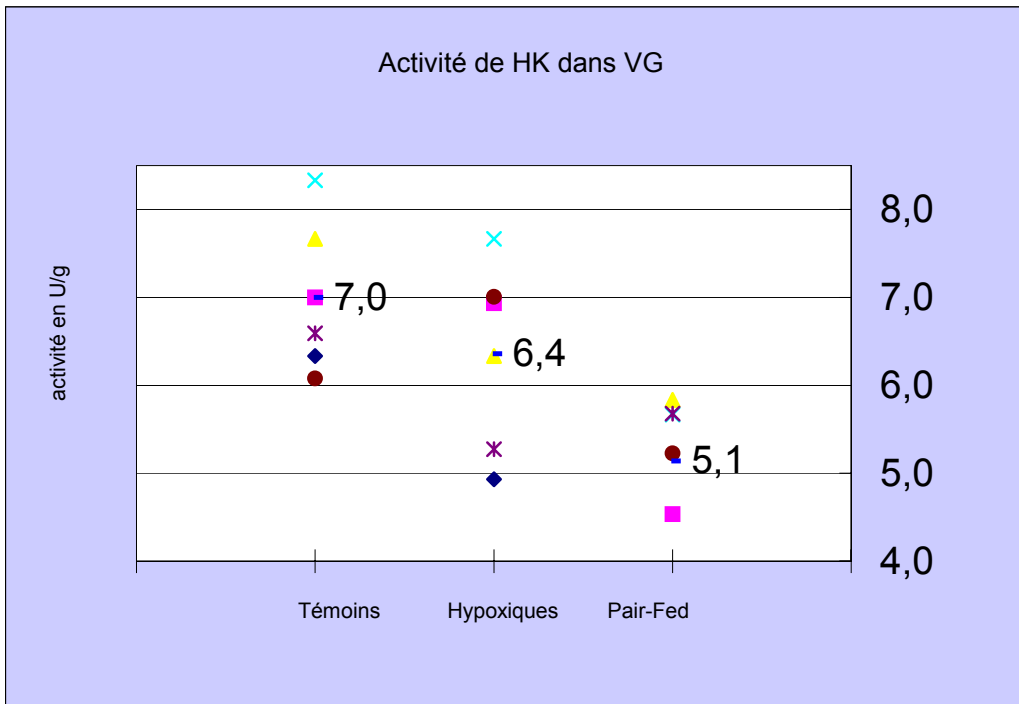
Pair-fed	PDS J0	PDS J1	PDS J2	POIDS	moy/ani	SD/ animal
1	120	110	110	109	112,25	5,19
2	130	120	120	117	117,00	5,68
3	110	110	110	107	109,25	1,50
4	115	100,3	95,3	99	102,40	8,66
5	121	111,2	105,6	103	110,20	7,97
6	120	107,8	99,6	97,3	106,18	10,26

MoyenneJ0	MoyenneJ1	MoyenneJ2	MoyenneJ3
119,33	109,88	106,75	105,38
Ecart-type 0	Ecart-type 1	Ecart-type 2	Ecart-type 3
6,68	6,33	8,72	7,24

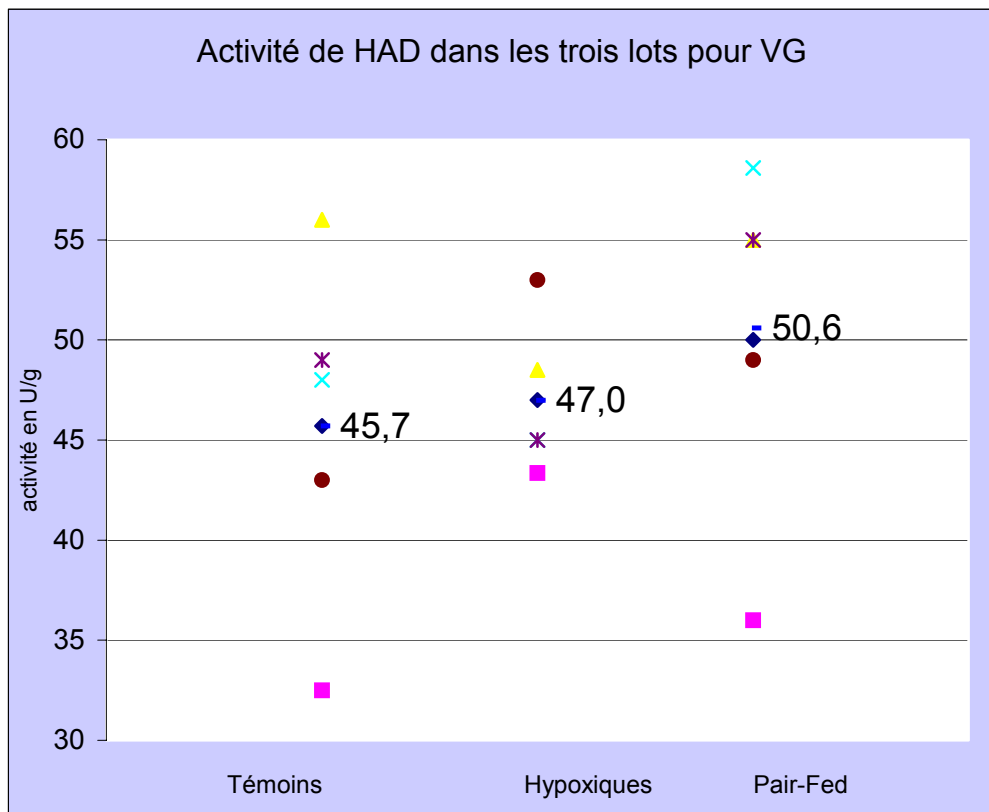
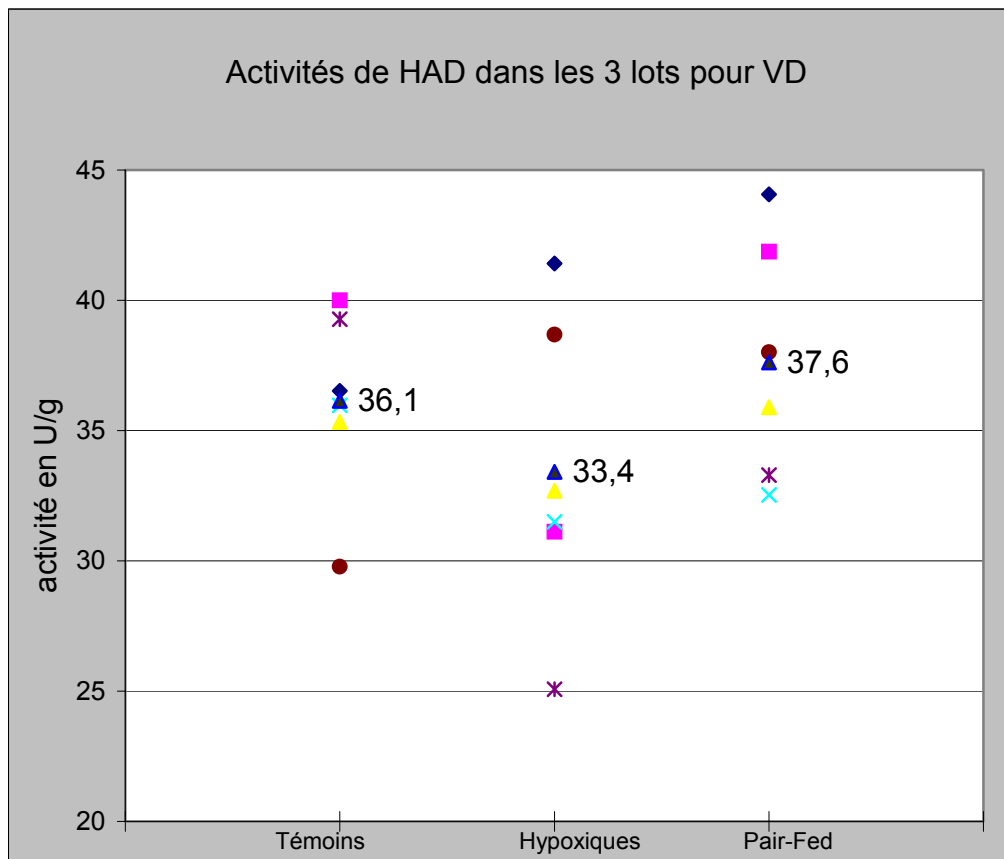
Poids du ventricule droit rapporté au poids total du cœur et au poids de l'animal

ANIMAL	POIDS (g)	PDS VD (mg)	Pds tot (mg)	VD/tot	VD/PDS*1000
T1	140	76	395	0,192	0,543
T2	140	83	383	0,217	0,593
T3	120	67	406	0,165	0,558
T4	127	76	406	0,187	0,598
T5	109,5	54	323	0,167	0,493
T6	106	48	344	0,140	0,453
H1	105	105	384	0,273	1,000
H2	113	90	416	0,216	0,796
H3	113	112	405	0,277	0,991
H4	106	91	392	0,232	0,858
H5	103	97	401	0,242	0,942
H6	98	88	324	0,272	0,898
PF1	109	74	342	0,216	0,679
PF2	117	66	360	0,183	0,564
PF3	107	65	312	0,208	0,607
PF4	99	41	275	0,149	0,414
PF5	103	50	325	0,154	0,485
PF6	97,3	54	337	0,160	0,555

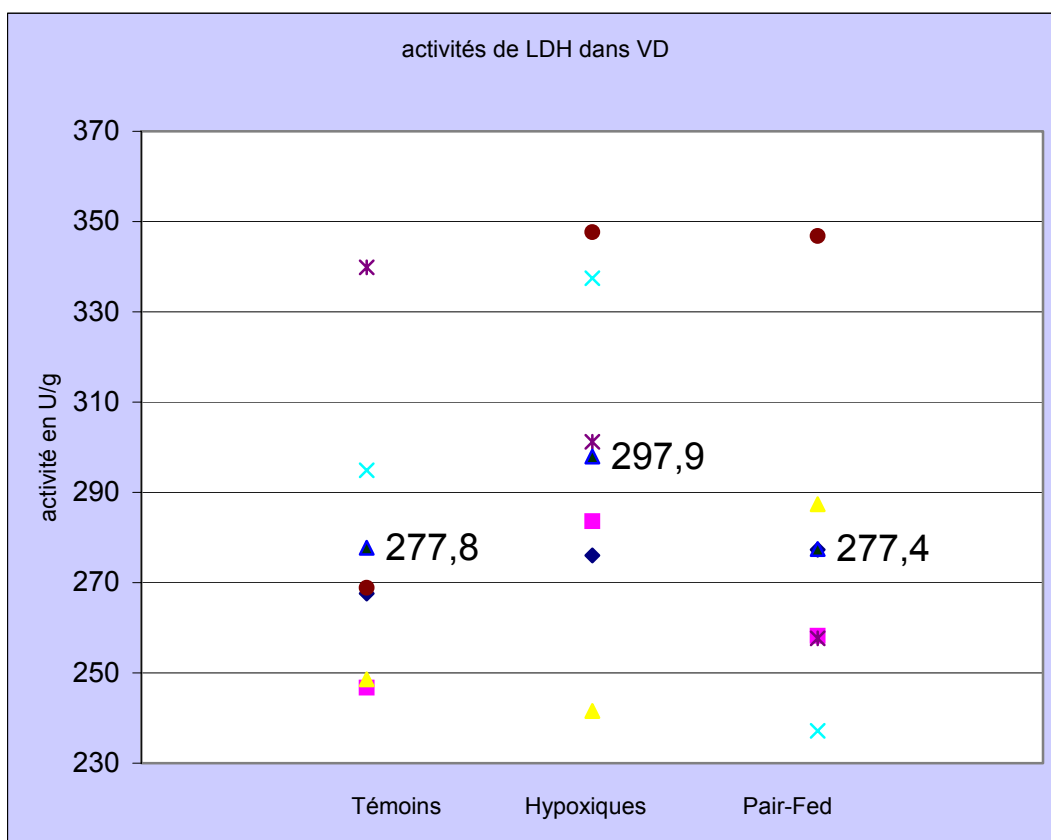
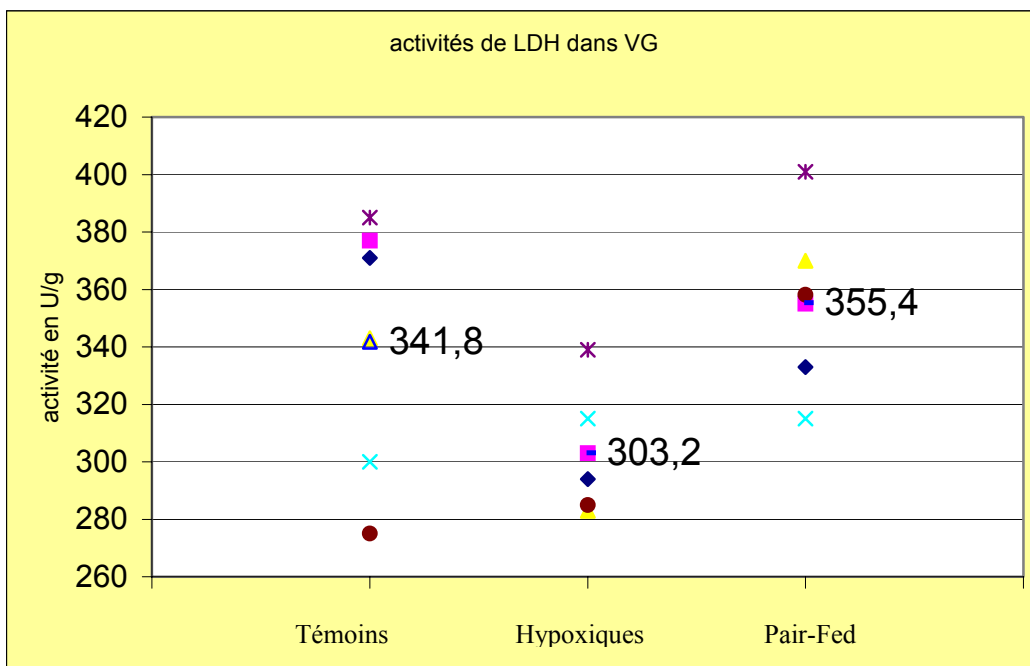
Activités de l'enzyme hexokinase au sein des deux ventricules



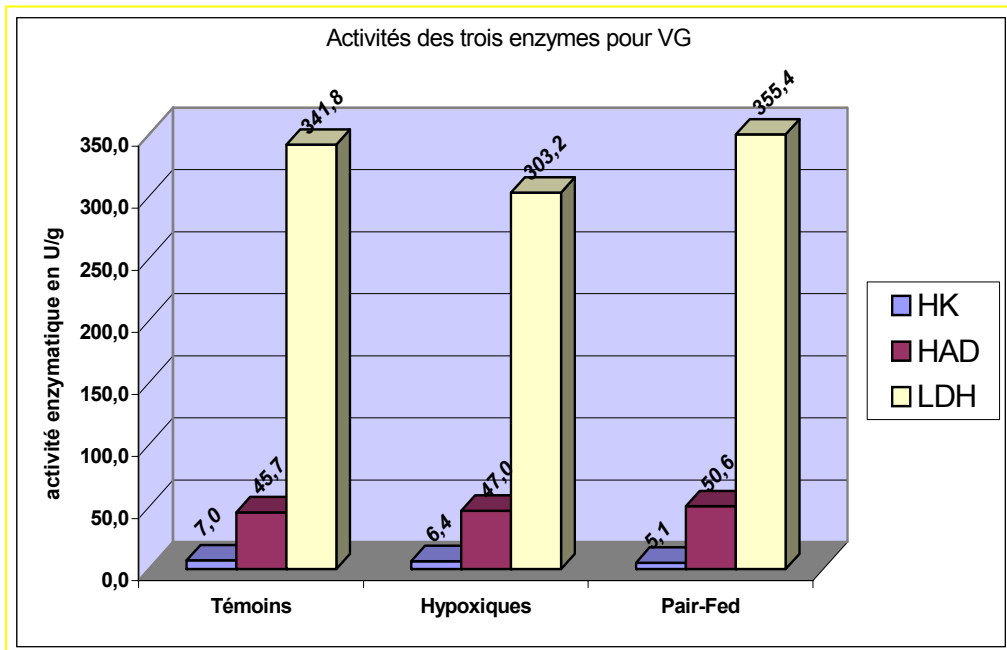
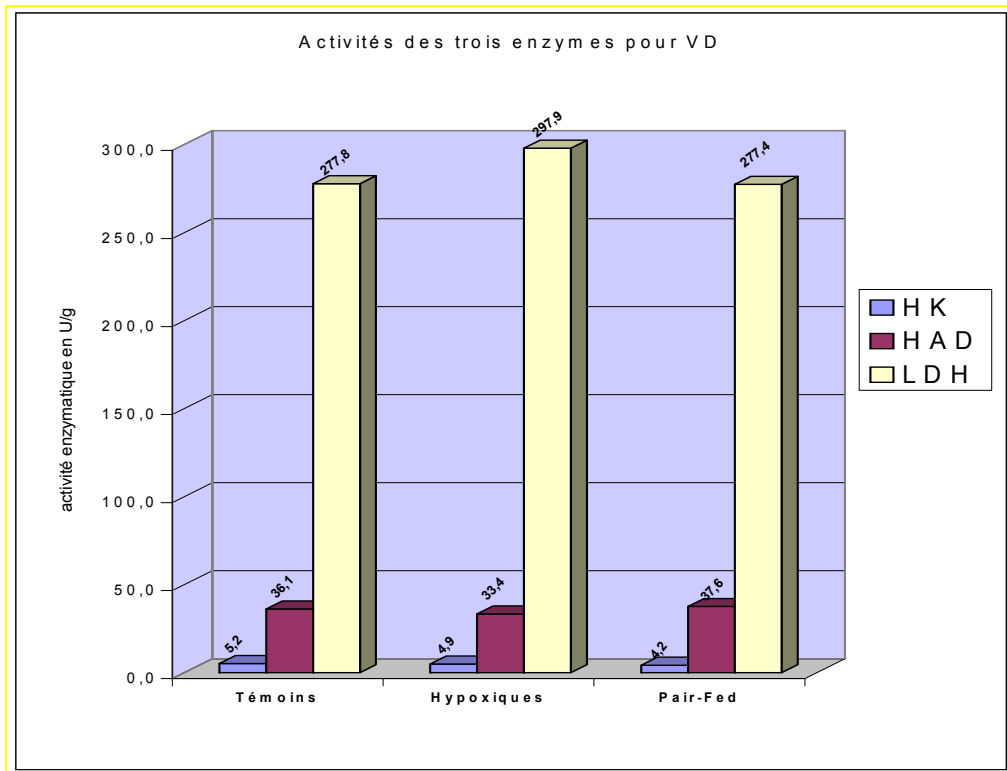
Activités de l'enzyme HAD au sein des deux ventricules



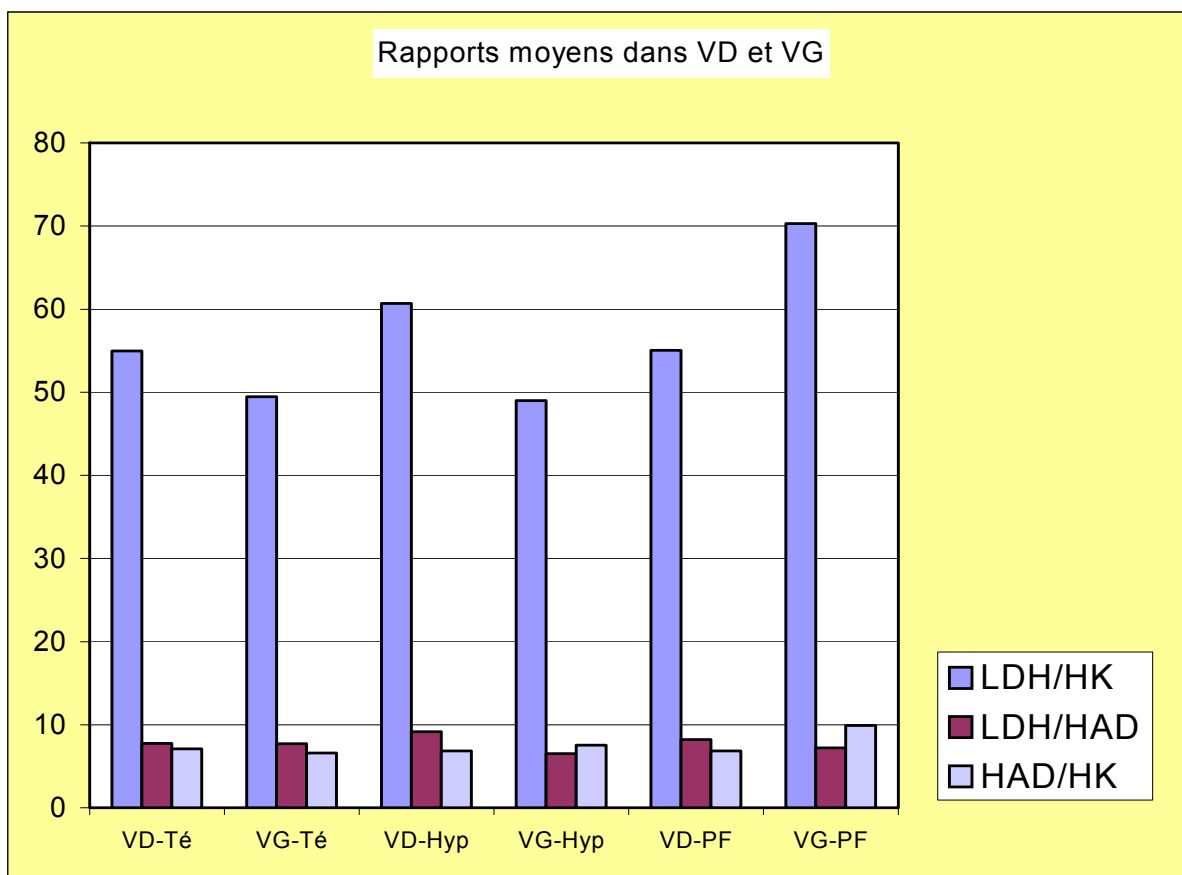
Activités de l'enzyme LDH au sein des deux ventricules



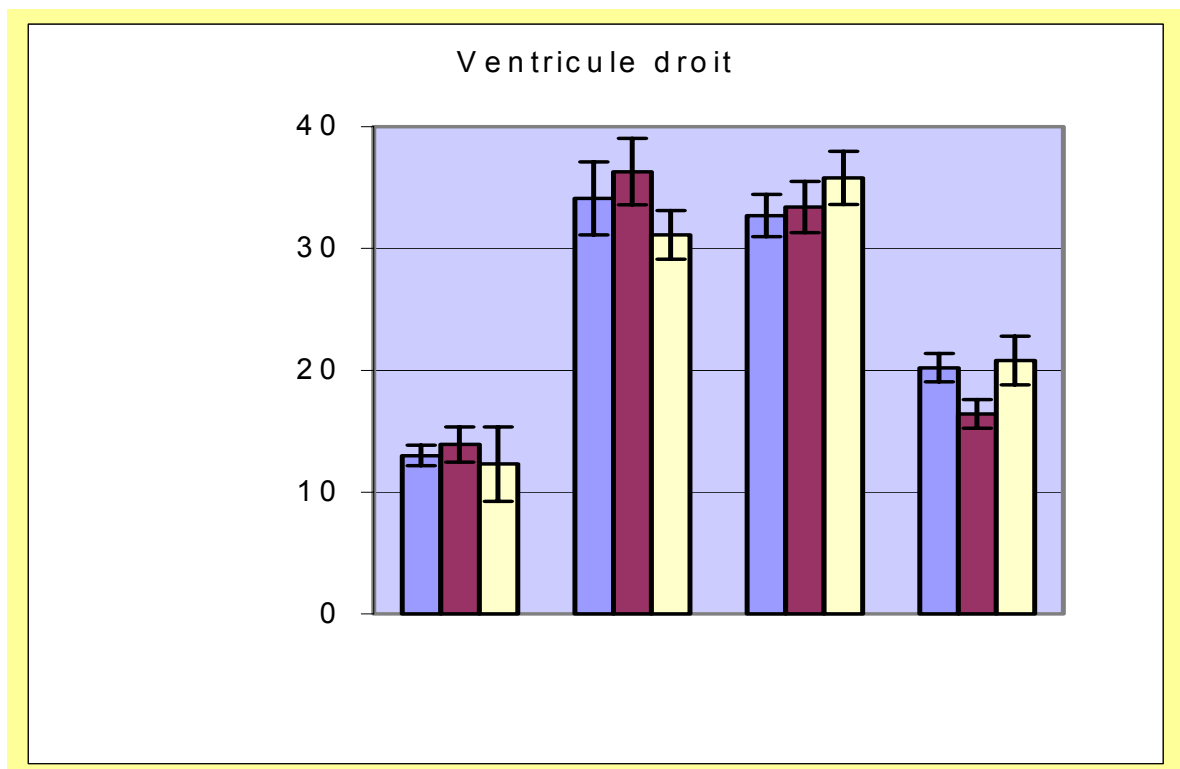
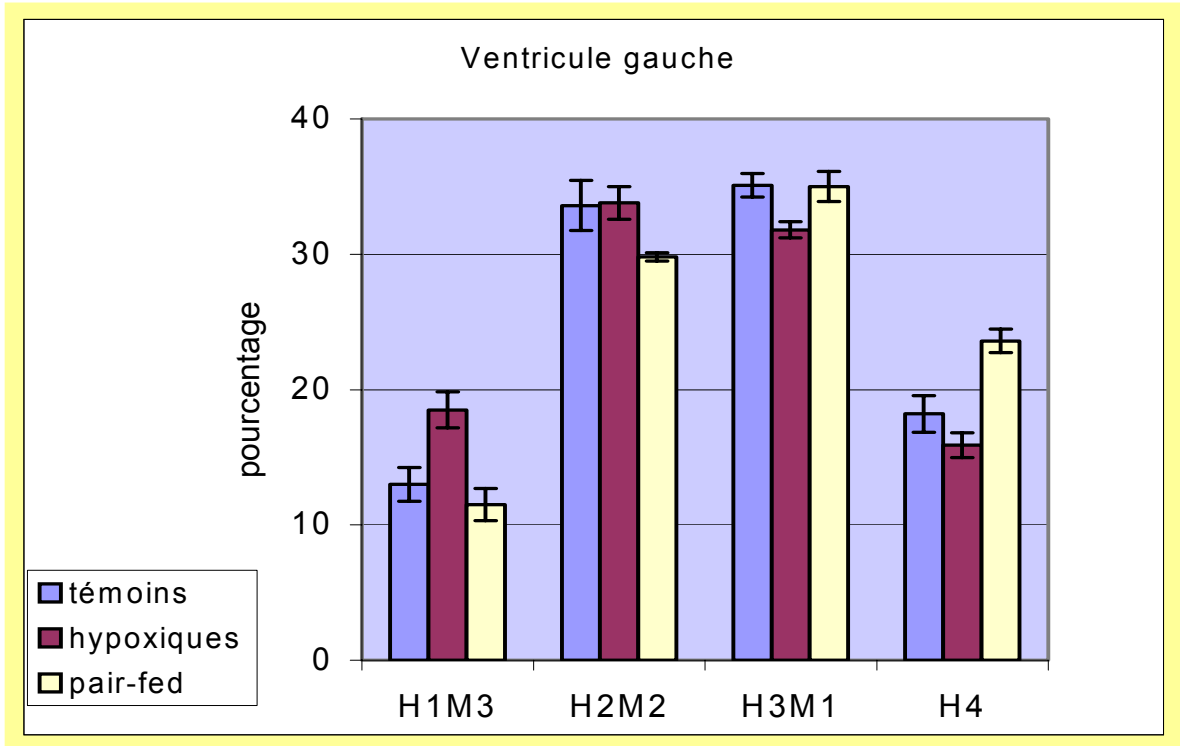
Mesure des activités de la LDH, de l'HK et de la HAD des cellules cardiaques au sein des deux ventricules



Rapports moyens entre enzymes dans chaque ventricule au sein des trois lots

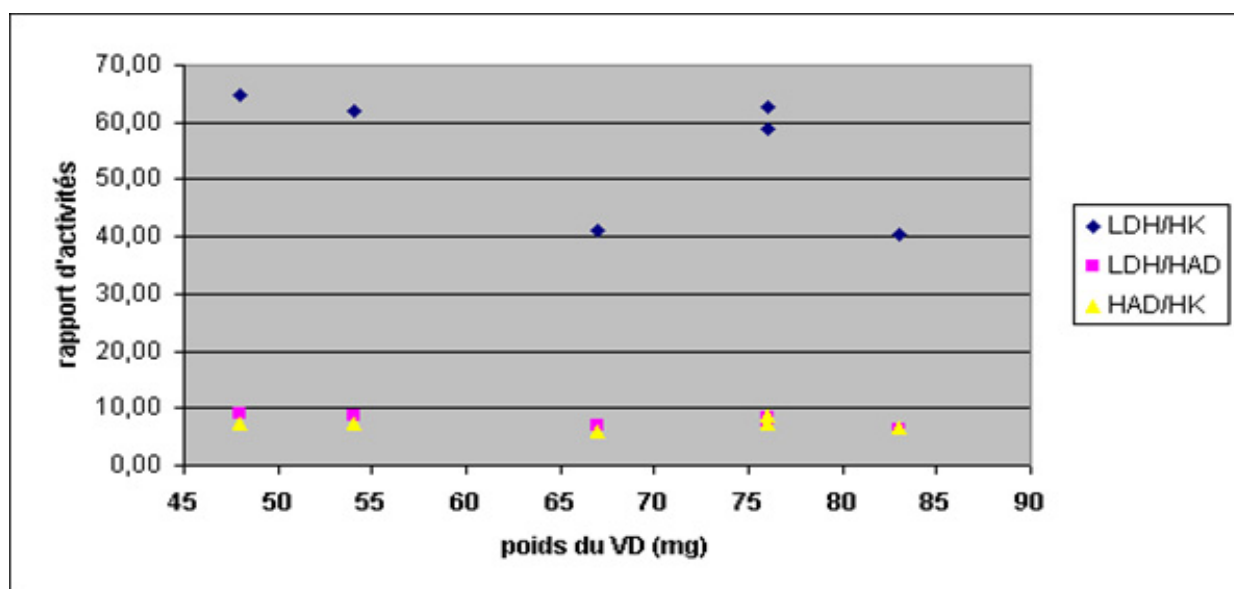
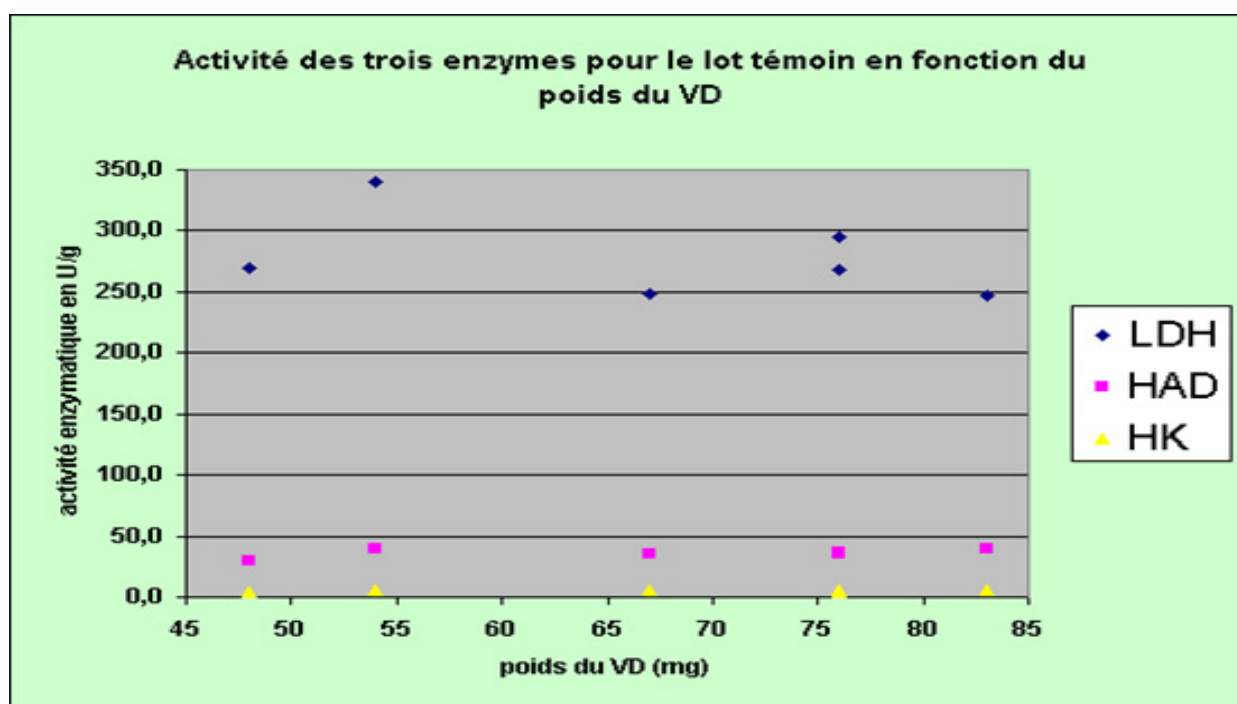


Proportion relative des isoenzymes de la LDH au sein des deux ventricules



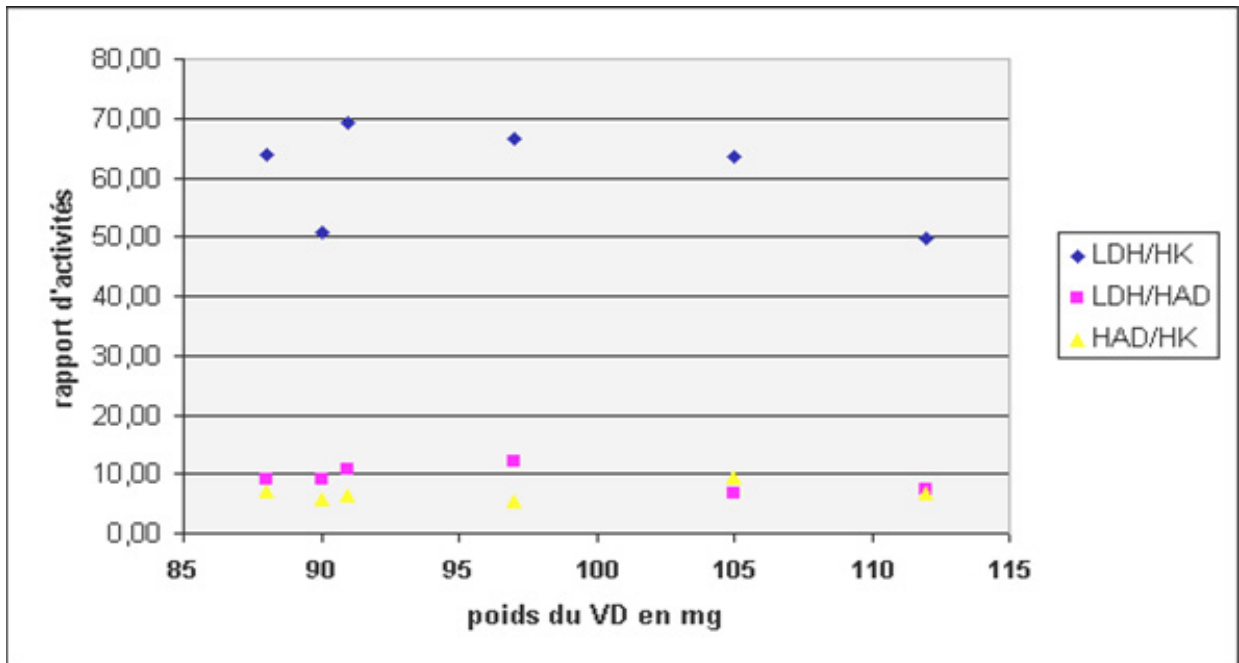
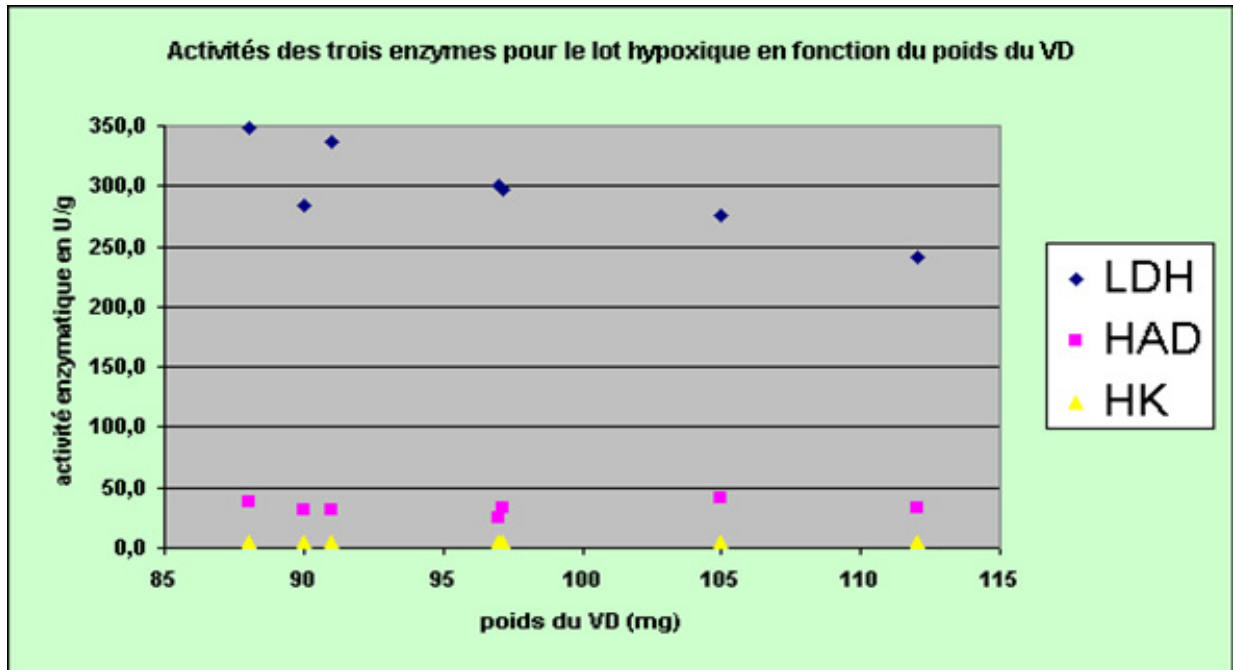
Etude des activités enzymatiques au sein du ventricule droit pour le lot Témoin

	PDS VD	LDH U/g	HAD U/g	HK U/g	LDH/HK	LDH/HAD	HAD/HK
T1	76	267,6	36,5	4,3	62,72	7,33	8,56
T2	83	246,8	40,0	6,1	40,41	6,17	6,55
T3	67	248,6	35,3	6,0	41,24	7,04	5,86
T4	76	294,9	36,0	5,0	58,72	8,20	7,16
T5	54	339,8	39,3	5,5	61,99	8,65	7,16
T6	48	268,9	29,8	4,2	64,78	9,03	7,18
moyenne	67,3	277,8	36,1	5,2	54,98	7,74	7,08
SD	13,76	35,05	3,63	0,85	11,14	1,08	0,89



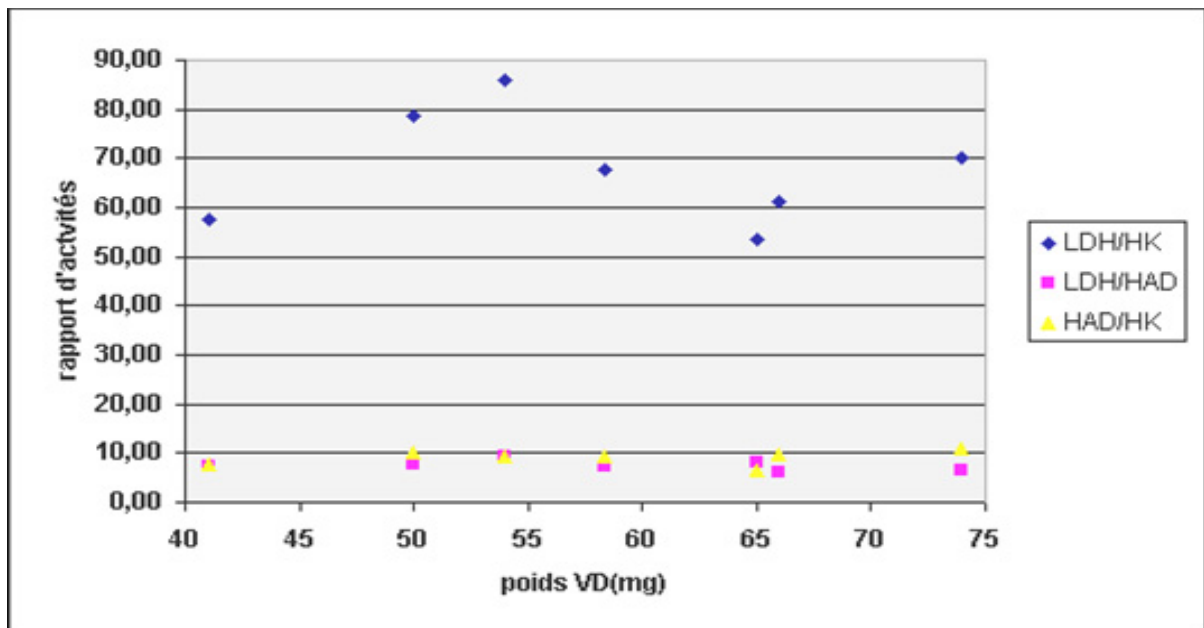
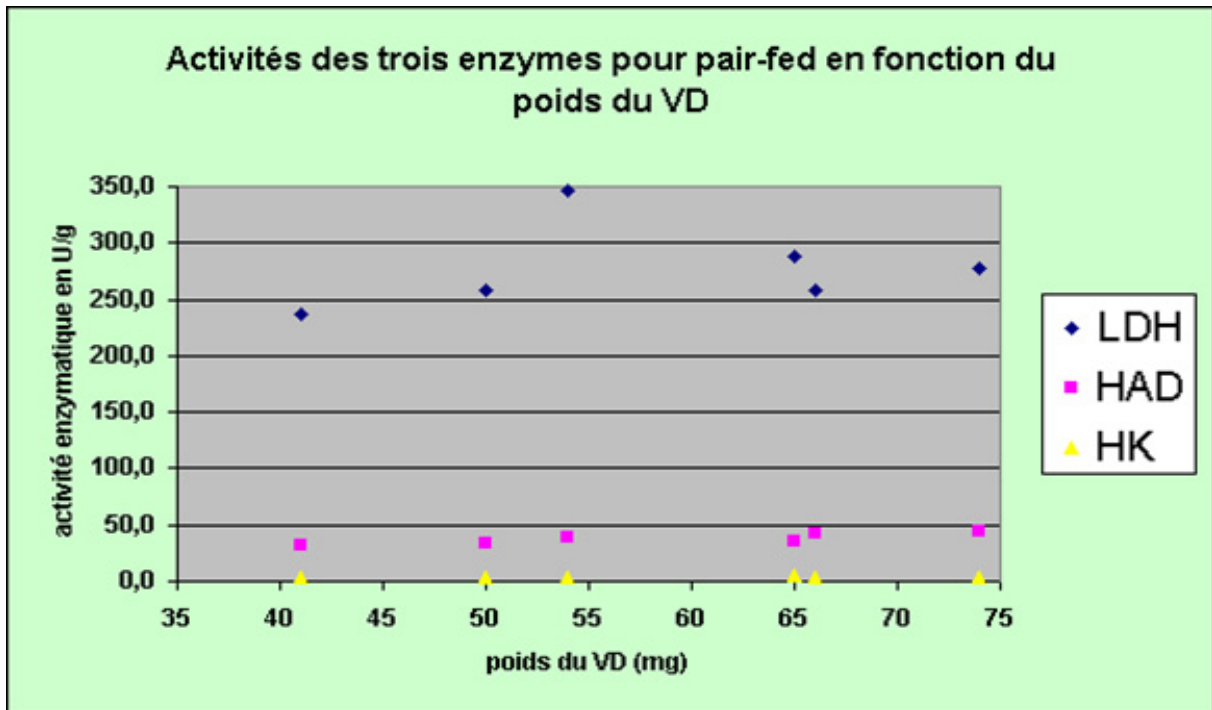
Etude des activités enzymatiques au sein du ventricule droit pour le lot Hypoxique

	PDS VD	LDH U/g	HAD U/g	HK U/g	LDH/HK	LDH/HAD	HAD/HK
H1	105	276,0	41,4	4,4	63,43	6,66	9,52
H2	90	283,6	31,1	5,6	50,88	9,11	5,58
H3	112	241,6	32,7	4,8	49,85	7,39	6,75
H4	91	337,5	31,5	4,9	69,38	10,71	6,48
H5	97	301,2	25,1	4,5	66,57	12,01	5,54
H6	88	347,7	38,7	5,4	63,96	8,99	7,12
moyenne	97,17	297,92	33,41	4,93	60,68	9,15	6,83
SD	9,54	39,78	5,85	0,49	8,27	2,00	1,46



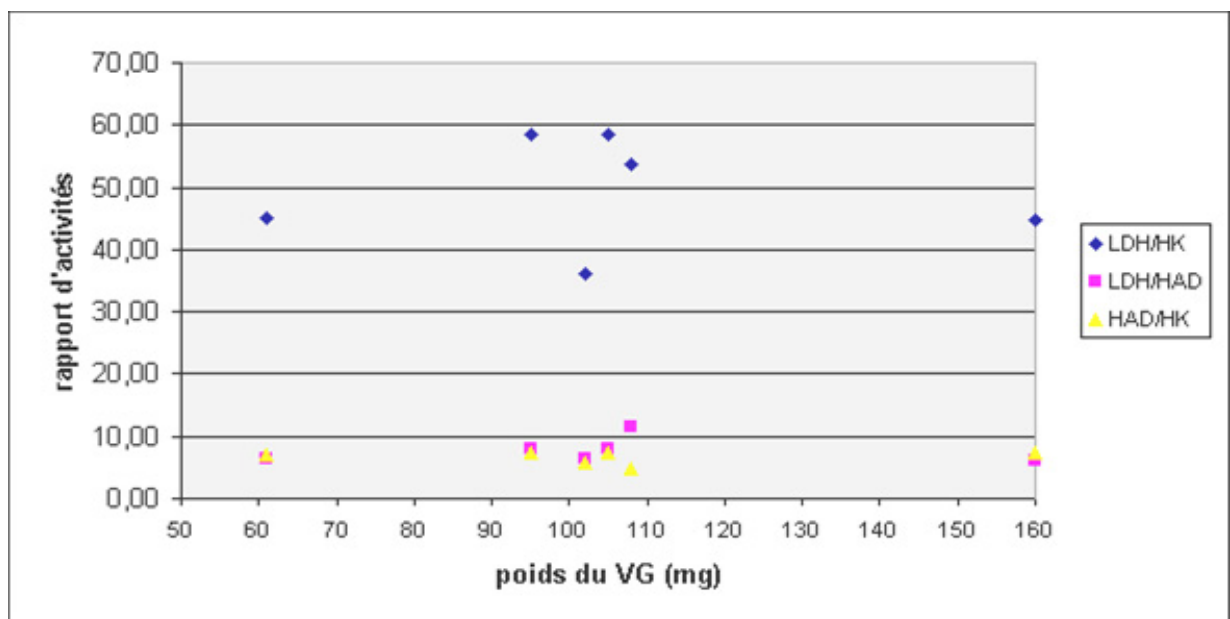
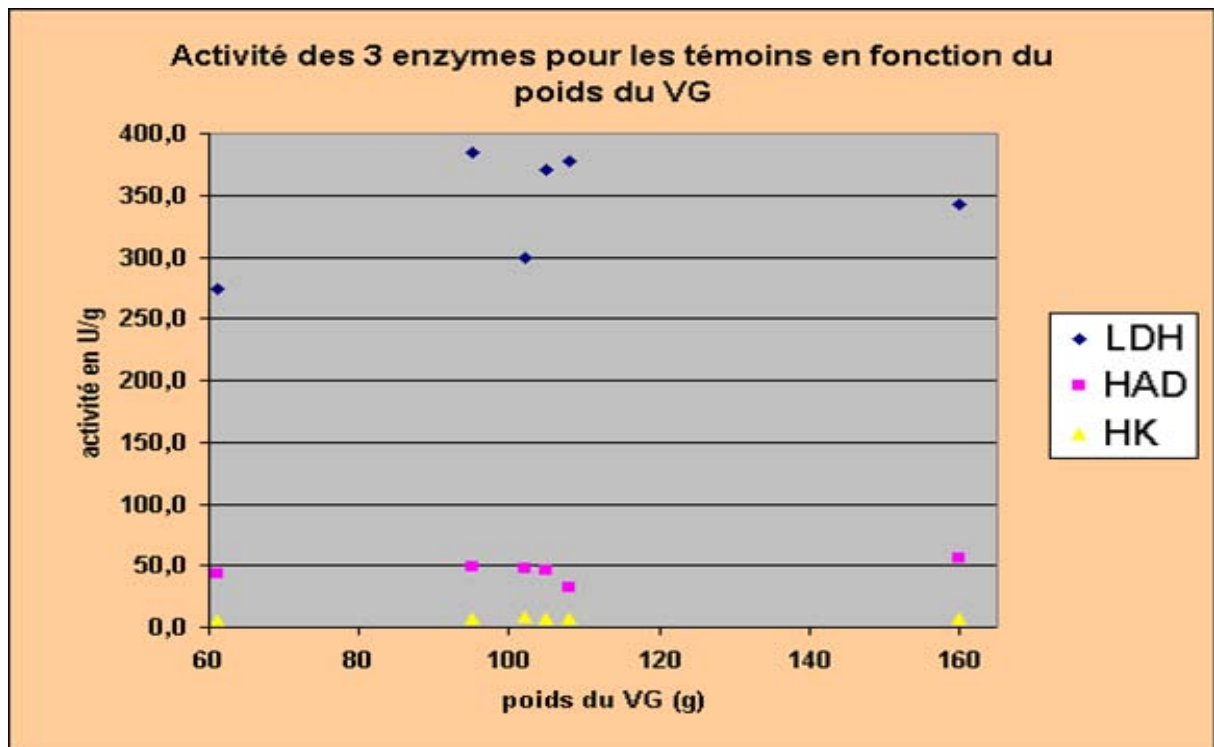
Etude des activités enzymatiques au sein du ventricule droit pour le lot Pair-Fed

	PDS VD	LDH U/g	HAD U/g	HK U/g	LDH/HK	LDH/HAD	HAD/HK
PF1	74	277,3	44,1	4,0	70,08	6,29	11,14
PF2	66	258,2	41,9	4,2	61,02	6,17	9,89
PF3	65	287,4	35,9	5,4	53,43	8,00	6,68
PF4	41	237,2	32,5	4,1	57,45	7,29	7,88
PF5	50	257,6	33,3	3,3	78,45	7,74	10,14
PF6	54	346,8	38,0	4,0	85,89	9,12	9,41
moyenne	58,33	277,41	37,61	4,17	67,72	7,44	9,19
SD	12,14	38,19	4,63	0,68	12,69	1,11	1,63



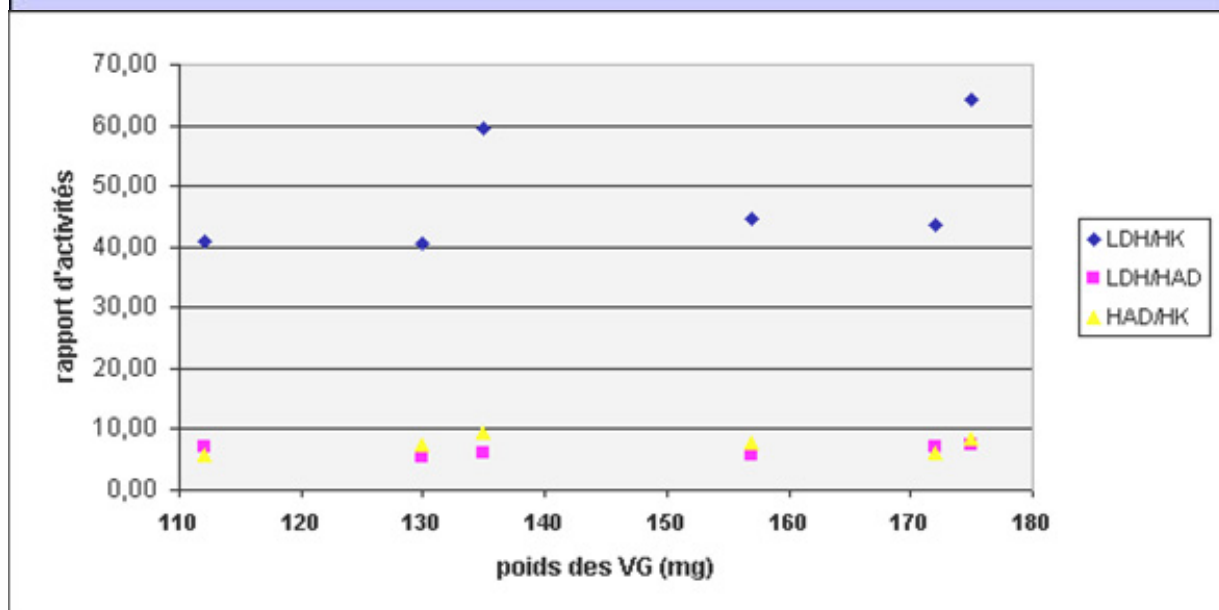
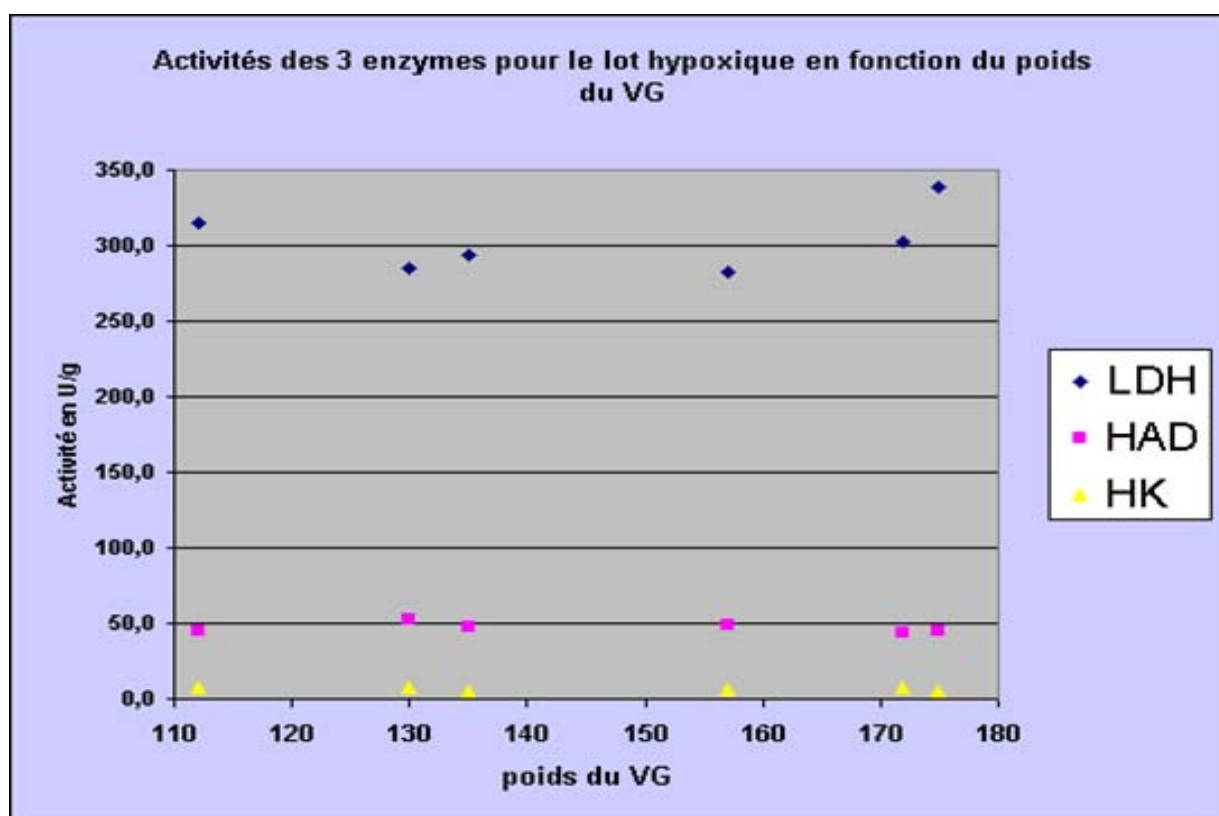
Etude des activités enzymatiques au sein du ventricule gauche pour le lot Témoin

		LDH	HAD	HK	LDH/HK	LDH/HAD	HAD/HK
	PDS VG	U/g	U/g	U/g			
T1	105	371,0	45,7	6,3	58,58	8,12	7,22
T2	108	377,0	32,5	7,0	53,85	11,60	4,64
T3	160	343,0	56,0	7,7	44,74	6,13	7,30
T4	102	300,0	48,0	8,3	36,00	6,25	5,76
T5	95	385,0	49,0	6,6	58,41	7,86	7,43
T6	61	274,6	43,0	6,1	45,18	6,38	7,08
moyenne	105,17	341,77	45,71	7,00	49,46	7,72	6,57
SD	31,87	45,22	7,79	0,86	8,99	2,08	1,13



Etude des activités enzymatiques au sein du ventricule gauche pour le lot Hypoxique

		LDH	HAD	HK	LDH/HK	LDH/HAD	HAD/HK
	PDS VG	U/g	U/g	U/g			
H1	135	294,0	47,0	4,9	59,59	6,26	9,53
H2	172	303,0	43,3	6,9	43,70	7,00	6,24
H3	157	283,0	48,5	6,3	44,68	5,84	7,66
H4	112	315,0	45,0	7,7	41,09	7,00	5,87
H5	175	339,0	45,0	5,3	64,28	7,53	8,53
H6	130	285,0	52,6	7,0	40,68	5,42	7,51
moyenne	146,83	303,17	46,90	6,36	49,01	6,51	7,56
SD	25,17	21,19	3,33	1,06	10,24	0,81	1,37



Etude des activités enzymatiques au sein du ventricule gauche pour le lot Pair-Fed

		LDH	HAD	HK	LDH/HK	LDH/HAD	HAD/HK
	PDS VG	U/g	U/g	U/g			
PF1	157	333,0	50,0	3,9	85,38	6,66	12,82
PF2	197	355,0	35,7	4,5	78,25	9,94	7,87
PF3	128	370,0	55,0	5,8	63,43	6,73	9,43
PF4	103	315,0	58,6	5,7	55,59	5,38	10,34
PF5	65	401,0	55,0	5,7	70,62	7,29	9,69
PF6	75	358,2	48,7	5,2	68,53	7,35	9,32
moyenne	120,83	355,36	50,51	5,14	70,30	7,22	9,91
SD	50,39	29,78	8,10	0,77	10,56	1,51	1,64

