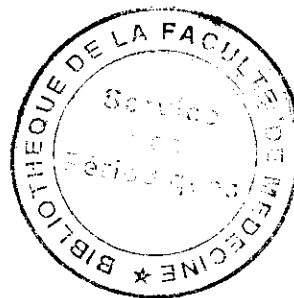


N° D'ORDRE :

THESE



PRESENTEE

DEVANT L'UNIVERSITE PAUL SABATIER DE TOULOUSE (SCIENCES)

EN VUE DE L'OBTENTION

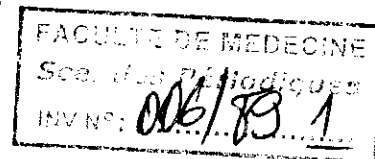
DU DOCTORAT D'ETAT

Spécialité : Physiologie - Option : Pharmacologie

PAR

Bernard LASSERRE

BIOSYNTHESE



DE LA THROMBOXANE A2 ET DE LA PROSTACYCLINE ET HOMEOSTASIE CARDIOVASCULAIRE: ETUDE PHARMACOLOGIQUE ET PHYSIOPATHOLOGIQUE

Soutenue le Janvier 1989

JURY

MM	P. RAYNAUD Professeur à l'Université Paul Sabatier Toulouse	Président
	PHAM HUU CHANH Directeur de Recherches au CNRS	Examineur
	J. COUQUELET Professeur à l'Université de Clermont-Ferrand	Examineur
	A. GASET Professeur à l'INP Toulouse	Examineur
	P. PUEL Professeur à l'Université Paul Sabatier Toulouse	Examineur

SOMMAIRE

AVANT PROPOS	1
-I LES ICOSANOIDES	4
I.1. GENERALITES	4
I.1.1. Précurseurs des Prostaglandines	5
I.1.2. Libération de l'acide arachidonique membranaire	6
I.1.3. Voies métaboliques de l'acide arachi- donique	8
I.1.3.1. Lipoxygénases	8
I.1.3.2. PGs endoperoxydes synthétases	10
I.2. THROMBOXANES	11
I.2.1. Biosynthèse	11
I.2.2. Catabolisme	12
I.2.3. Effets biologiques	14
I.2.4. Effecteurs de la biosynthèse de la TXA2 ...	16
I.2.4.1. Inhibiteurs	16
I.2.4.2. Stimulants	17
I.2.5. Antagonistes des thromboxanes	20
I.3. PROSTACYCLINE	23
I.3.1. Biosynthèse	23
I.3.2. Catabolisme	25
I.3.3. Effets biologiques	25
I.3.4. Effecteurs de la biosynthèse de la PGI2 ...	27
I.4. AUTRES ICOSANOIDES	27
I.4.1. Prostaglandines	27
I.4.2. Leucotriènes et Hydroxyacides	29
I.4.2.1. Hydroxyacides	29
I.4.2.2. Leucotriènes	30
I.5. INTERACTION SANG-PAROI VASCULAIRE	31
I.5.1. Facteurs mis en jeu	31
I.5.1.1. PAROI VASCULAIRE	31
I.5.1.1.1. Endothélium	32
I.5.1.1.2. Sous-endothélium	33
I.5.1.1.3. Cellules musculaires lisses ..	34
I.5.1.2. SANG	34
I.5.1.2.1. Plaquettes	34
I.5.1.2.2. Leucocytes	35
I.5.1.2.3. Globules rouges	37
I.5.1.3. FACTEURS HEMODYNAMIQUES	37
I.5.2. Interactions plaquettes-paroi vasculaire ..	37
I.5.3. Récepteurs de PGI2	40
I.6. ICOSANOIDES ET PATHOLOGIE	41
I.6.1. Athérosclérose et Hyperlipidémie.	41
I.6.2. Diabète	45
I.6.3. Hypertension	45
I.6.4. Insuffisance coronaire	46
I.6.4.1. Angor instable	47
I.6.4.2. Angor de Prinzmetal	48
I.6.4.3. Angor stable	48
I.6.4.4. Ischémie, infarctus	49

I.6.4.5. Reperfusion	52
-II. OBJET DES RECHERCHES	58
-III. TRAVAUX PERSONNELS	61
III.1. Matériels et méthodes	61
III.1.1. Matériels	61
III.1.1.1. Produits chimiques	61
III.1.1.1. Produits radioactifs	62
III.1.1.1. Produits biologiques	63
III.1.2. Méthodes	65
III.1.2.1. Méthodes physiologiques	65
III.1.2.2. Méthodes biochimiques	68
III.1.2.2.1. Dosage des protéines	68
III.1.2.2.2. Dosages radioimmunologiques .	69
1) Principe	
2) Réactifs	
- Anticorps	
- Antigènes radiomarqués	
- Tampon phosphate	
- Solution de charbon	
3) Protocoles expérimentaux des dosages RIA	
III.1.2.3. Protocoles expérimentaux des biosynthèses	79
III.1.2.3.1. Etude <u>in vitro</u> de la biosynthèse de PGI ₂ , TXA ₂ et PGE ₂ .	79
III.1.2.3.2. Etude des activités PGI ₂ synthétase et TXA ₂ synthétase du tissu cardiaque	84
III.1.2.4. Dosage de TXB ₂ , 6-keto PGF _{1α} dans le plasma et le sérum	85
III.1.2.5. Traitement mathématique des résultats	86
III.2. RESULTATS EXPERIMENTAUX	87
III.2.1. PHARMACOLOGIE EXPERIMENTALE	87
III.2.1.1. <u>Aminopyridazines</u>	88
III.2.1.1.1. Série I: 3 amino 5 arylidene 6 methyl (4H) pyridazines	88
- Biosynthèse <u>in vitro</u> de la TXA ₂	88
- Biosynthèse <u>in vitro</u> de la PGI ₂	90
- Activités TXA ₂ synthétase et PGI ₂ synthétase du tissu cardiaque	94
- Discussion	100
III.2.1.1.2. Série II: 2 amino alkyl 5 arylidene 6 methyl (4H) pyridazine 3 one	103
- Biosynthèse <u>in vitro</u> de la TXA ₂	103
- Biosynthèse <u>in vitro</u> de la PGI ₂	105
- Activité TXA ₂ synthétase du tissu cardiaque.	105
- Activité PGI ₂ synthétase du tissu cardiaque.	105
- Discussion	110
III.2.1.1.3. Série III: 2 amino alkyl 4,6 diaryl pyridazine 3 one	116
- Biosynthèse <u>in vitro</u> de la TXA ₂	116
- Biosynthèse <u>in vitro</u> de la PGI ₂	116
- Activités TXA ₂ synthétase et PGI ₂ synthétase du tissu cardiaque	119
- Discussion	119

III.2.1.1.4. Série IV: 3-amino 4,6-diaryl pyri- dazines	121
- Biosynthèse <u>in vitro</u> de la TXA2	123
- Biosynthèse <u>in vitro</u> de la PGI2	123
- Activités TXA2 synthétase et PGI2 synthé- tase du tissu cardiaque	128
- Discussion	128
III.2.1.1.5. Discussion Générale	130
III.2.1.2. <u>Principes actifs de plantes</u>	135
III.2.1.2.1. Effets hypotenseurs	135
III.2.1.2.1. Effets sur la biosynthèse de la TXA2	137
III.2.1.2.1. Discussion	140
III.2.1.3. <u>Produits utilisés en clinique</u>	142
III.2.1.3.1. Produits radioopaqes	142
- Biosynthèse <u>in vitro</u> de la TXA2 et de la PGI2	142
- Activités TXA2 synthétase et PGI2 synthé- tase du tissu cardiaque	143
III.2.1.3.2. Anesthésiques locaux	147
- Xylocaïne	148
- Aptocaïne	149
III.2.1.3.3. Solution cardioplégique	153
III.2.1.3.4. Froid	154
III.2.1.3.5. Association solution cardioplé- gique et froid	157
III.2.1.3.6. Association solution cardioplégique anesthésiques locaux (Xylocaïne ou Aptocaïne) et froid	158
III.2.1.3.7. Méthylergométrine, Dinitrate d'Iso- sorbide	162
- Etude <u>in vitro</u>	163
- Etude <u>ex vivo</u>	163
III.2.1.3.8. Association Méthylergométrine et Dinitrate d'Isosorbide	167
III.2.1.3.9. Discussion	176
III.2.2. PATHOLOGIE EXPERIMENTALE	180
III.2.2.1. DIABETE	180
III.2.2.1.1. Matériel et méthodes	180
III.2.2.1.2. Résultats expérimentaux	181
III.2.2.1.2.1. Paramètres biochimiques	182
III.2.2.1.2.1.1. Glycémie	182
III.2.2.1.2.1.2. Autres paramètres	184
III.2.2.1.2.1.3. TXB2 et 6-keto PGFl α plasma- tiques	186
III.2.2.1.2.1.4. Relation entre la glycémie et les concentrations plasmatiques de TXB2 et 6-keto PGFl α	189
- Relation TXB2-Glycémie	191
- Relation 6-keto PGFl α -glycémie	191
- Relation 6-keto PGFl α /TXB2-glycémie ..	191
- Relation 6-keto PGFl α -TXB2	195
III.2.2.1.2.1.3. Discussion et conclusion	195
III.2.2.2. ISCHEMIE DU MYOCARDE ET ANOXIE	204
III.2.2.2.1. Matériel et méthodes	204
- Ischémie	204
- Anoxie	206

III.2.2.2.2. Résultats expérimentaux	206
III.2.2.2.2.1. Ischémie	206
- Activité TXA2 synthétase du tissu cardiaque	206
- Activité PGI2 synthétase du tissu cardiaque	208
- Rapport R = PGI2/TXA2	211
III.2.2.2.2.2. Anoxie	211
- Activité TXA2 synthétase du tissu cardiaque	211
- Activité PGI2 synthétase du tissu cardiaque	213
III.2.2.2.2.3. Discussion	215
III.2.3. RECHERCHES CLINIQUES	219
III.2.3.1. ANGIOPLASTIE	219
III.2.3.1.1. Méthodes	219
III.2.3.1.2. Résultats expérimentaux	224
III.2.3.1.2.1. Etude sur les sujets témoins ...	225
1- Effets de la cathétérisation	225
- Taux de TXB2	225
- Taux de 6-keto PGF1 α	225
2- Effets du produit de contraste iodé	228
- Taux de TXB2	228
- Taux de 6-keto PGF1 α	228
3- Conclusion	228
III.2.3.1.2.2. Etude sur les sujets soumis à l'angioplastie	230
1- Effets sur le taux sanguin de lactates .	230
2- Taux de TXB2	232
3- Taux de 6-keto PGF1 α	239
III.2.3.1.3. Discussion	246
- IV. DISCUSSION ET CONCLUSIONS GENERALES	251
- V. RESUME	257
- VI. SUMMARY	259
- VII. BIBLIOGRAPHIE	261

RESUME

Les recherches récentes ont montré que l'équilibre Thromboxane A₂ - Prostacycline (TXA₂-PGI₂) jouait un rôle important dans l'homéostasie cardiovasculaire. Nos recherches ont permis de mettre en évidence

- des structures chimiques originales capables d'agir sur la biosynthèse de la TXA₂ et de la PGI₂ d'une part, et d'autre part, sur l'activité TXA₂ synthétase et PGI₂ synthétase du tissu cardiaque. Des grandes lignes d'une relation structure-activité ont pu être mises en lumière

- le mécanisme d'action de produits utilisés en clinique cardiovasculaire et des principes actifs de plantes utilisées en médecine traditionnelle africaine pour le traitement des maladies cardiovasculaires

- les réponses du coeur et des vaisseaux à des agressions provoquées par l'anoxie, l'ischémie du myocarde

 - * chez l'animal

 - * chez l'homme au cours des ischémies successives provoquées par l'angioplastie.

Les résultats obtenus sont susceptibles de nous permettre

- de prévoir les accidents possibles survenus chez les patients pendant la pratique de l'angioplastie

- de diagnostiquer et de pronostiquer des incidents cardiovasculaires chez des sujets porteurs d'une maladie telle que le diabète et chez des sujets apparemment sains

- de fournir une base pour des recherches pharmacologiques et thérapeutiques des maladies du coeur et des vaisseaux.