

# TABLE DES MATIÈRES

<b>RÉSUMÉ</b> .....	<b>iii</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>iv</b>
<b>TABLE DES MATIÈRES</b> .....	<b>v</b>
<b>LISTE DES FIGURES</b> .....	<b>vii</b>
<b>LISTE DES ABRÉVIATIONS</b> .....	<b>viii</b>
<b>REMERCIEMENTS</b> .....	<b>x</b>
<b>AVANT-PROPOS</b> .....	<b>xii</b>
<b>CHAPITRE 1 : INTRODUCTION</b> .....	<b>1</b>
<b>I. Le cœur humain</b> .....	<b>2</b>
1. Anatomie cardiaque.....	2
2. Anatomie et fonction des valves cardiaques.....	4
<b>II. L'appareil valvulaire mitral</b> .....	<b>6</b>
<b>III. L'insuffisance mitrale fonctionnelle</b> .....	<b>8</b>
1. Prévalence et impact de l'IM fonctionnelle.....	10
2. Moyens diagnostiques .....	13
3. Traitement.....	13
4. Les mécanismes de l'IM fonctionnelle.....	16
<b>III. Le développement des valves cardiaques</b> .....	<b>26</b>
<b>IV. Composantes Cellulaires et matricielles</b> .....	<b>28</b>
1. Les cellules endothéliales.....	29
2. Les cellules valvulaires interstitielles (VIC) .....	29
2.1 Les fibroblastes .....	30
2.2 Les myofibroblastes .....	31
<b>V. Modèle d'insuffisance aortique chez le rat</b> .....	<b>32</b>
<b>CHAPITRE 2 : HYPOTHESE ET OBJECTIFS</b> .....	<b>34</b>
<b>Hypothèse</b> .....	<b>35</b>
<b>Objectifs</b> .....	<b>35</b>
<b>Objectifs spécifiques</b> .....	<b>35</b>
<b>CHAPITRE 3 : ARTICLE</b> .....	<b>36</b>
<b>Title: Early Activation of Growth Pathways in Mitral Leaflets Exposed to Aortic Regurgitation: Active Mechanism to Prevent Functional Mitral Regurgitation in the Dilated Ventricle</b> .....	<b>39</b>
<b>Abstract</b> .....	<b>40</b>
<b>Methods</b> .....	<b>42</b>

<b>Animals</b> .....	<b>42</b>
<b>Aortic regurgitation model</b> .....	<b>42</b>
<b>Echocardiography</b> .....	<b>42</b>
<b>Immunohistochemistry</b> .....	<b>43</b>
<b>RT-PCR analysis</b> .....	<b>43</b>
<b>Statistical analysis</b> .....	<b>43</b>
<b>Results</b> .....	<b>44</b>
<b>Microscopic Data</b> .....	<b>44</b>
<b>Molecular Histopathology</b> .....	<b>45</b>
<b>Cell proliferation and Extracellular matrix (ECM) remodeling gene expression</b> .....	<b>45</b>
<b>Discussion</b> .....	<b>45</b>
<b>Study limitations</b> .....	<b>47</b>
<b>Conclusions</b> .....	<b>47</b>
<b>References</b> .....	<b>48</b>
<b>Figure legends</b> .....	<b>50</b>
<b>Figures</b> .....	<b>52</b>
<b>Table</b> .....	<b>56</b>
<b>Discussion</b> .....	<b>57</b>
<b>Limitations de l'étude</b> .....	<b>58</b>
<b>Conclusion et perspectives</b> .....	<b>60</b>
<b>Références bibliographiques</b> .....	<b>62</b>

# ***LISTE DES FIGURES***

<i>Figure 1</i> : Coupe schématique du cœur présentant les quatre cavités, les quatre valves, les artères, les veines et le sens de circulation de sang .....	3
<i>Figure 2</i> : Les quatre valves cardiaques.....	5
<i>Figure 3</i> : Vue latérale sur le VG ouvert, montrant les deux feuillets de la valve mitrale .....	6
<i>Figure 4</i> : La segmentation de la valve mitrale (en systole) .....	7
<i>Figure 5</i> : Classification de l'insuffisance mitrale selon Carpentier .....	9
<i>Figure 6</i> : Impact de la présence d'insuffisance mitrale à la suite d'un infarctus du myocarde, sur la survie des patients .....	12
<i>Figure 7</i> : Taux de mortalité à 2 ans à la suite d'une réparation mitrale combinée à un PAC comparée au taux de mortalité à la suite d'un PAC seul .....	14
<i>Figure 8</i> : Mécanisme classique de l'insuffisance mitrale fonctionnelle .....	17
<i>Figure 9</i> : Schéma de la géométrie de la valve mitrale ressemblant à une tente .	19
<i>Figure 10</i> : Étirement des feuillets de la valve mitrale .....	21
<i>Figure 11</i> : Agrandissement valvulaire suite à une tension mécanique.....	22
<i>Figure 12</i> : Histoire naturelle de la régurgitation aortique chronique .....	23
<i>Figure 13</i> : Agrandissement des feuillets mitraux (antérieur et postérieur) chez des patients souffrant de régurgitation aortique (AR) .....	24
<i>Figure 14</i> : Adaptation adéquate des feuillets valvulaires en IA malgré des VG très dilatés .....	25
<i>Figure 15</i> : Développement des valves cardiaques .....	27
<i>Figure 16</i> : Origine et phénotype des cellules valvulaires .....	28
<i>Figure 17</i> : Création du modèle d'insuffisance aortique chez le rat .....	33

# ***LISTE DES ABRÉVIATIONS***

$\alpha$ -SMA : actine alpha sma  
2D : bidimensionnelle  
3D : tridimensionnelle  
ACC : American College of Cardiology  
AHA : American Heart Association  
Ao : aorte  
ARVM : annuloplastie restrictive de la valve mitrale  
batt./min : battement par minute  
BMP : Bone morphogenetic protein  
CAV : Canal atrio-ventriculaire  
col1 : collagen 1  
DC : débit cardiaque  
EDD : diamètres télédiastoliques  
EGF : Epidermal growth factor  
EMT : transition endothéliale mésenchymateuse  
ESD : diamètres télé systoliques  
ETO : échographie transoesophagienne  
ETT : échocardiographie transthoracique  
FE : fraction d'éjection  
FGF : fibroblast growth factor  
g :gramme  
H :hours  
H&E : hematoxylin and eosin  
HPRT1 : hypoxanthine phosphoribosyltransferase 1  
IA : insuffisance aortique  
IHC : Immunohistochemistry  
IM : insuffisance mitrale  
IMF : insuffisance mitrale fonctionnelle  
IMI :insuffisance mitrale ischémique  
IP : intrapéritonéale  
LVH : left ventricle hypertrophy  
LVIDd : LV internal dimension in diastole  
LVIDs : LV internal dimension in systole  
LVOT : chambre de chasse du VG  
M : months  
MEC : matrice extracellulaire  
ML : mitral leaflet  
MMPs : métalloprotéinases  
MP : muscles papillaires  
n :nombre  
OD : oreillette droite  
OG : oreillette gauche  
PAC : pontage aorto-coronarien

PCR : réaction en chaine par polymérase  
RA : régurgitation aortique  
RT : reverse transcriptase  
RVM : remplacement valvulaire mitrale  
SAVE : Survival and Ventricular Enlargement  
SEM : standard error of the mean (erreur type)  
SOR : surface de l'orifice régurgitant  
TGF- $\beta$  : transforming growth factor  
TIMPs : inhibiteurs tissulaires des métalloprotéinases  
TM : temps mouvement  
VA : valve aortique  
VD : ventricule droit  
VEC : cellules endothéliales valvulaire  
VG : ventricule gauche  
VIC : cellules valvulaires interstitielles  
VM : valve mitrale  
VT : valve tricuspide  
VTD : volume en télédiastole  
VTS. : volume en télésystole  
W : week

# **REMERCIEMENTS**

Je tiens à remercier mon directeur de recherche Dr **Jonathan Beaudoin** pour la confiance qu'il m'a accordée, pour la liberté d'action qu'il m'a offerte, et surtout de m'avoir donné un si beau projet de maîtrise. Merci du fond du cœur pour vos précieux conseils, vos compétences et votre rigueur scientifique, votre disponibilité de tout instant, qui m'ont permis à mener à bien ce travail. Je tiens également à remercier mon codirecteur Dr **Jacques Couët** pour s'être impliqué activement, et avec un enthousiasme dans ce projet. Vos nombreuses connaissances et votre vif intérêt ont été une aide précieuse tout au long de ce travail. Merci, Jacques, de m'avoir accueilli dans votre laboratoire et de m'avoir permis de faire partie de votre équipe de recherche.

Merci, Jonathan et Jacques, pour votre grande humanité, votre ouverture d'esprit et votre simplicité qui font de vous des patrons exemplaires.

Je vous suis reconnaissante pour tout ce que vous avez fait pour moi.

Au cours de ces deux années, j'ai eu la chance de travailler avec une équipe de recherche unique. Merci **Marie-Claude Drolet** et **Élise Roussel** pour votre soutien technique très important à ma formation et l'avancement de mon projet. Je vous remercie pour la bonne ambiance qui a toujours régné au sein du laboratoire.

Je tiens également à remercier tous les membres du groupe de recherche sur les valvulopathies (GRV), qui ont contribué à l'élargissement de mes connaissances en cardiologie lors de nos rencontres et discussions assez enrichissantes et motivantes!

Je tiens à remercier du fond de mon cœur mes parents, et surtout mon cher papa, mon idole, de m'avoir encouragé et soutenu pour m'impliquer dans ce vaste domaine. Je ne vous dirai jamais assez à quel point je vous aime et que je tiens à vous.

Merci Amal, pour ta présence et pour ton soutien. La distance ne signifie rien quand quelqu'un signifie tout.

Finalement, je tiens particulièrement à remercier mon époux. Merci Ahmed pour ta présence, tes encouragements, ta patience et pour tout l'amour et le soutien que tu m'apportes.

Rapport-Gratuit.com

# **AVANT-PROPOS**

Ce mémoire constitue le résumé de mes travaux de maîtrise réalisés au centre de recherche de l'Institut Universitaire de Cardiologie et de Pneumologie de Québec sous la direction du docteur Jonathan Beaudoin et la co-direction du Docteur Jacques Couët.

Tous les résultats obtenus sont présentés sous forme de manuscrits qui font l'objet d'article intitulé : **Early Activation of Growth Pathways in Mitral Leaflets Exposed to Aortic Regurgitation : Active Mechanism to Prevent Functional Mitral Regurgitation in the Dilated Ventricle**. Il est actuellement « en préparation ». Le projet a été réalisé avec la collaboration de mon collègue Olivier Royer.

J'ai participé à l'élaboration de ce projet à tous les niveaux : la rédaction du devis expérimental, la préparation des animaux lors des chirurgies d'induction de l'insuffisance aortique et lors des sacrifices, la réalisation de la majorité des expérimentations effectuées au laboratoire, ainsi que l'analyse et l'interprétation des données.

Olivier Royer a contribué au projet lors des chirurgies d'induction de l'insuffisance aortique du groupe 3 mois et lors du sacrifice des animaux, par l'analyse des échocardiographies, la mise au point des anticorps ainsi que par l'analyse tissulaire par immunohistochimie. Marie Claude Drolet a fait toutes les chirurgies d'induction de l'insuffisance aortique aux rats.

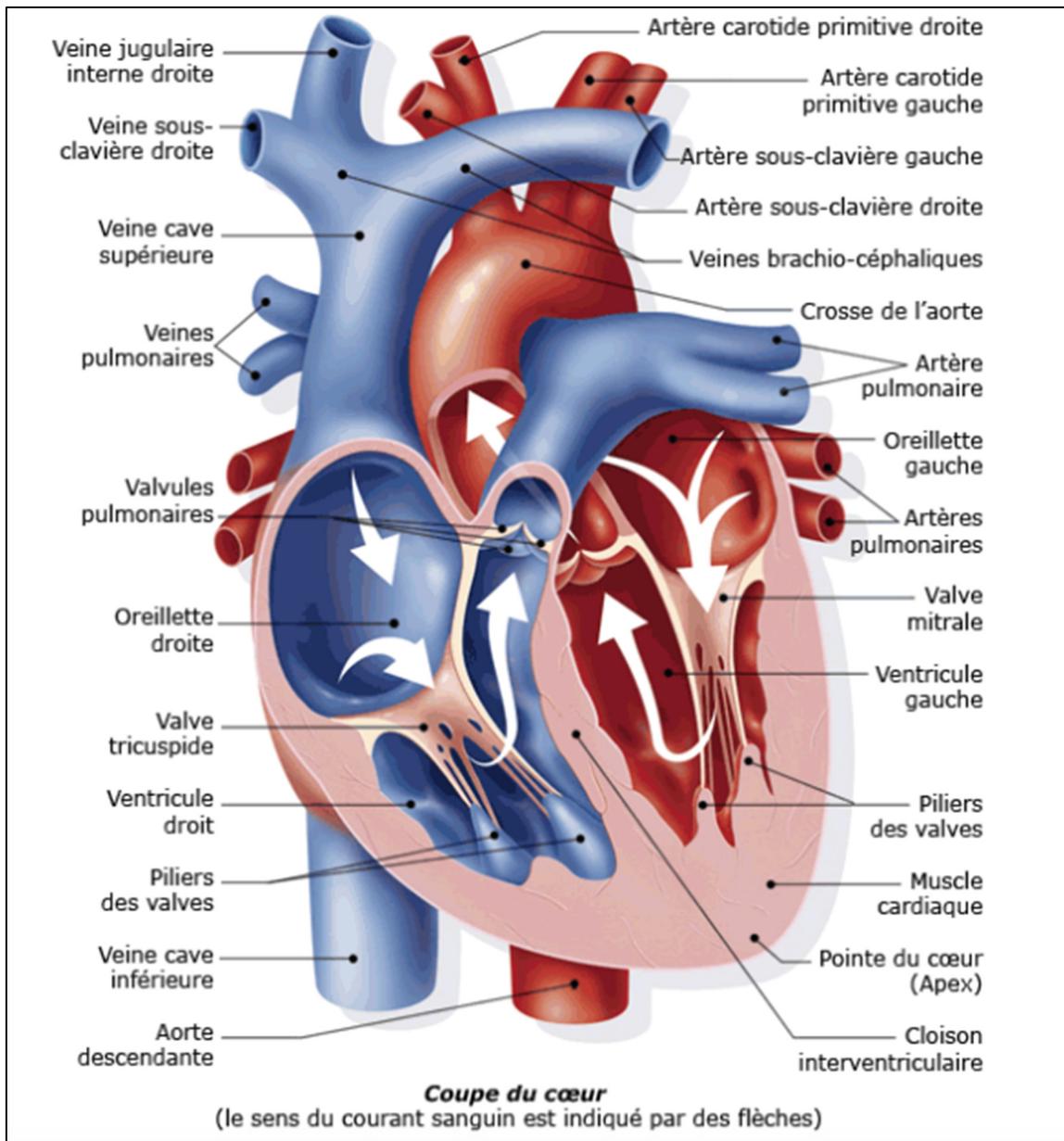
Dr Jonathan Beaudoin, le responsable de ce projet ainsi que Dr Jacques Couët ont directement supervisé et contribué à toutes les étapes de la réalisation de ce travail.

# CHAPITRE 1 : INTRODUCTION

# I. Le cœur humain

## 1. Anatomie cardiaque

Le cœur, premier organe à se former au cours de l'embryogenèse, est un muscle strié creux en forme de poire, situé dans le thorax, plus précisément dans le médiastin, entre les deux poumons. Il est orienté légèrement à gauche. Il s'agit d'une pompe qui fait circuler le sang, par des contractions rythmiques, dans les vaisseaux sanguins permettant les échanges de nutriments, d'oxygène et déchets métaboliques entre les nombreuses cellules du corps humain. Pour répondre au besoin énergétique du corps, le cœur pompe, chaque jour, l'équivalent de 8 000 litres de sang pour un équivalent de 100 000 battements cardiaques. Le poids et la taille du cœur varient en fonction de l'âge, du sexe et selon l'espèce. Le cœur d'une femme adulte pèse en moyenne 250 g alors que celui d'un homme peut atteindre une masse de 300 g. Ces dimensions peuvent augmenter en cas de pathologie myocardique ou valvulaire <sup>(1)</sup> (voir figure 1).



**Figure 1** : Coupe schématique du cœur présentant les quatre cavités, les quatre valves, les artères, les veines et le sens de circulation de sang (Source : © Sanofi-Aventis, Sophie Jacopin, 2006).

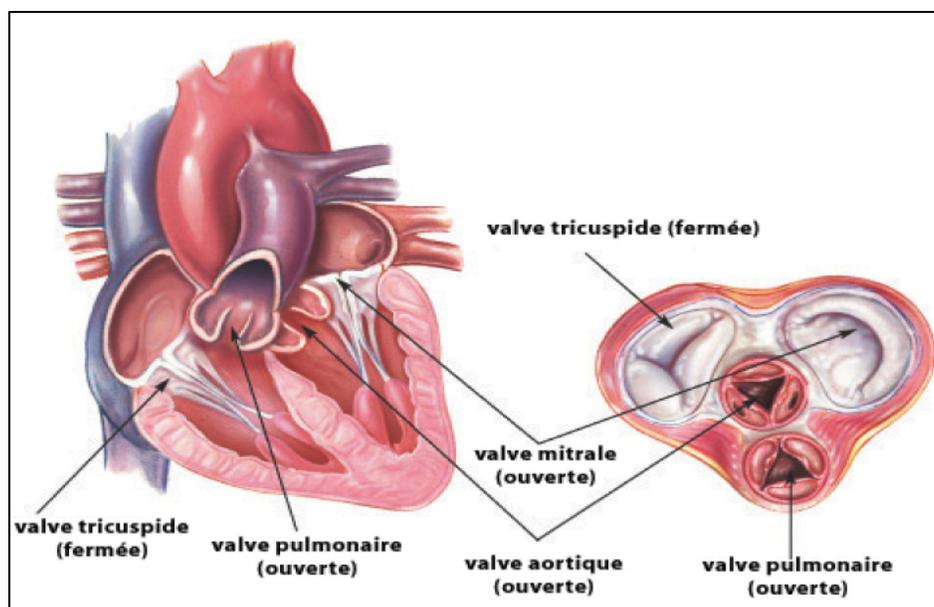
Le cœur est protégé et maintenu dans le médiastin par sa membrane externe à double paroi, le péricarde. En dessous de cette couche se trouve le myocarde. Il est constitué essentiellement de cellule musculaire cardiaque spécialisées, les cardiomyocytes, qui assurent la fonction de pompe du cœur. La tunique la plus interne, l'endocarde, tapisse les cavités cardiaques, les valves et les cordages. La paroi du ventricule gauche (VG) est plus épaisse que celle du ventricule droit (VD) puisque la pompe gauche effectue le travail le plus important <sup>(2)</sup>.

Le cœur est composé de quatre cavités associées deux à deux permettant ainsi de distinguer un « cœur droit » et un « cœur gauche », séparé par le septum interauriculo-ventriculaire. Chacune de ces deux parties est subdivisée en deux chambres : l'oreillette vers la base et le ventricule vers l'apex. La communication unidirectionnelle entre l'oreillette et le ventricule se fait grâce aux valves cardiaques <sup>(3)</sup> (voir figure 1). En rapport avec leur rôle physiologique, le cœur droit présente une structure adaptée à un régime veineux à basse pression, tandis que le cœur gauche présente une structure adaptée au régime artériel à haute pression.

## **2. Anatomie et fonction des valves cardiaques**

Les valves cardiaques sont des structures anatomiques qui séparent les différentes cavités du cœur, et empêchent le sang de refluer dans le mauvais sens. L'ouverture et la fermeture de ces valves sont complètement passives, elles dépendent de la différence de pression de chaque côté de la valve : lorsque la pression en aval est inférieure à la pression en amont, la valve est ouverte ; dans le cas contraire, la valve est fermée.

Les valves cardiaques sont subdivisées en deux groupes : les valves auriculo-ventriculaires comprennent la valve tricuspide (VT) : qui sépare l'oreillette droite (OD) du VD et la valve mitrale (VM) qui sépare l'oreillette gauche (OG) du VG et les valves sigmoïdes comprennent la valve aortique (VA) qui se situe entre le VG et l'aorte et la valve pulmonaire, entre le VD et l'artère pulmonaire (voir figure 2).



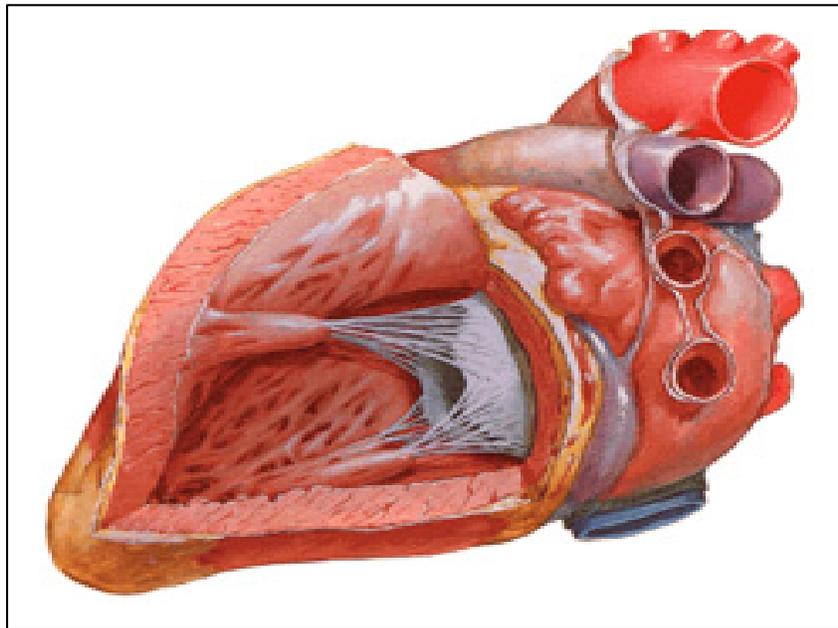
**Figure 2** : Les quatre valves cardiaques. La valve tricuspide et la valve mitrale sont des valves auriculo-ventriculaires séparant l'oreillette du ventricule. Les valves sigmoïdes comprennent la valve pulmonaire et aortique qui se situe entre le ventricule et l'artère pulmonaire ou l'aorte, respectivement (Source : illustration adaptée de yourheartvalve.com).

La valve mitrale et la valve tricuspide sont des structures minces, faites de fins feuillets mobiles qui s'écartent pour laisser circuler le sang des oreillettes aux ventricules et se referment pour empêcher tout reflux de sang des ventricules aux oreillettes pendant la systole ventriculaire. Les feuillets sont attachés à des prolongements du myocarde (les muscles papillaires) par des cordages tendineux, tandis que les valves aortiques et pulmonaires ne le sont pas. Contrairement à la valve droite tricuspide, la valve mitrale est bicuspide, c'est-à-dire qu'elle est composée seulement de deux feuillets.

Pour les valves auriculo-ventriculaires, lorsque la pression dans le ventricule, droit ou gauche, est moindre que celle de l'oreillette, elles s'ouvrent. En systole ventriculaire, la pression intraventriculaire augmente et permet la repousse des feuillets valvulaires vers l'oreillette, permettant une fermeture étanche des valves et un passage unidirectionnel du sang. Tandis que, les valves sigmoïdes s'ouvrent lorsque la pression ventriculaire dépasse la pression artérielle, et se ferment suite à l'augmentation de celle-ci.

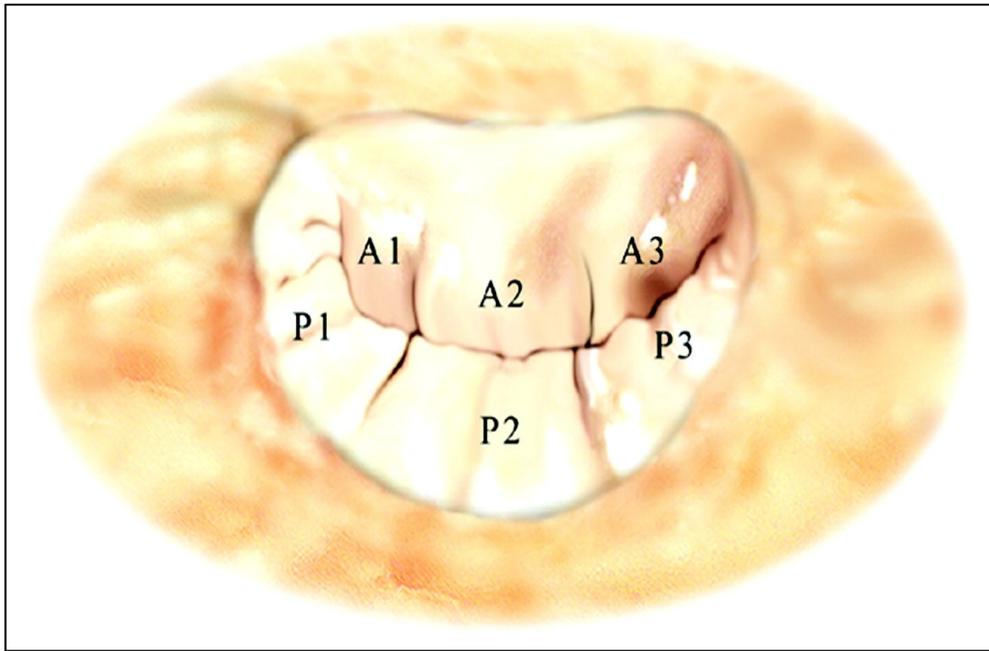
## II. L'appareil valvulaire mitral

L'appareil valvulaire mitral est complexe. Il est composé de deux feuillets, antérieur et postérieur. Ces deux feuillets, délimités par les commissures, s'insèrent sur une structure fibreuse (anneau mitral) et sont reliés au muscle ventriculaire par des cordages tendineux et des muscles papillaires (piliers) (voir figure 3). Le feuillet postérieur est arciforme et subdivisé en 3 festons anatomiquement bien différenciés (P1 en avant, P2 au milieu et P3 en arrière); il s'insère sur environ deux tiers de la circonférence de l'anneau tandis que le feuillet antérieur est plus homogène et de forme plus carrée; sa division en 3 portions A1, A2 et A3 ne correspond pas à des entités anatomiques distinctes, et il s'insère seulement sur le tiers de la circonférence de l'anneau, mais est plus long que le feuillet postérieur <sup>(4-6)</sup> (voir figure 4).



**Figure 3** : Vue latérale sur le VG ouvert, montrant les deux feuillets de la valve mitrale (Image tirée d'après The Netter Collection of Medical Illustrations – Heart).

Les muscles papillaires (MP) et les cordages tendineux constituent l'appareil sous valvulaire. Ils retiennent et assurent la coaptation des deux feuillets dans le ventricule lors de l'éjection ventriculaire pour empêcher le reflux de sang dans l'oreillette gauche.



**Figure 4** : La segmentation de la valve mitrale (en systole)(Image tirée d'après Fedak,Paul W.M et coll.<sup>(6)</sup>). "Reproduit avec permission"

Au plan histologique, les feuillets de la valve mitrale, de l'oreillette au ventricule, sont composés de trois couches distinctes contenues dans une matrice extracellulaire (MEC)<sup>(7)</sup>. La première couche « atrialis », du côté atrial, est composée d'un tissu conjonctif riche en fibre élastique. La « spongiosa », la couche centrale, la moins dense est composée particulièrement de protéoglycans, tandis que la dernière couche, la « Fibrosa », du côté ventriculaire, est composée d'un riche réseau de fibres denses de collagène <sup>(8, 9)</sup>. Un endothélium continu couvre les feuillets des deux côtés <sup>(10)</sup>.

La composition particulière de chaque couche est importante pour le bon fonctionnement de la valve. La fibrosa, riche en collagène, confère la rigidité et la

résistance aux pressions élevées des ventricules tandis que l'atrialis, composé principalement de fibres d'élastiques, confère la résilience nécessaire à la traction <sup>(11)</sup>. La spongiosa, quant à elle, joue un rôle d'amortisseur de chocs lors de la fermeture de la valve grâce à sa composition riche en protéoglycans <sup>(12)</sup>.

Les cellules qui peuplent la valve sont appelées des cellules valvulaires interstitielles (VIC), une population de cellules unique des valves cardiaques <sup>(13)</sup>.

L'organisation tissulaire particulière permet à la valve mitrale de s'adapter et de faire face aux contraintes résultant des changements de volume, de pression et de forme durant le cycle cardiaque <sup>(12)</sup>.

### **III. L'insuffisance mitrale fonctionnelle**

Le bon fonctionnement de la valve mitrale implique une ouverture, sans restriction, en diastole ventriculaire et une fermeture complète et rapide lors de l'éjection systolique. Une interaction durable et harmonieuse entre les différents éléments de l'appareil valvulaire mitral et le ventricule gauche est aussi nécessaire. Un dysfonctionnement de l'un ou l'autre de ces structures peut entraîner un défaut d'étanchéité de l'appareil valvulaire mitral pendant la systole et conduire à une insuffisance mitrale (IM) <sup>(14)</sup>.

Il existe deux formes d'insuffisance mitrale. Elle est dite fonctionnelle (secondaire) si elle survient suite à des modifications des structures environnantes, en particulier du ventricule gauche, sans anomalie de la valve elle-même <sup>(15, 16)</sup> et organique (primaire) si elle découle d'une altération de l'appareil mitral lui-même <sup>(17)</sup>.

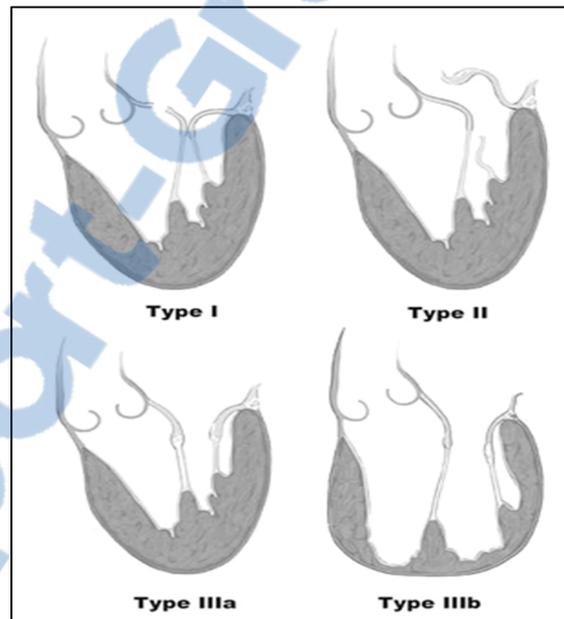
En 1983, le Professeur Alain Carpentier a proposé une classification anatomopathologique regroupant les IM, organiques ou fonctionnelles, en trois types, selon le mouvement des feuillets : normal (type I), augmenté (type II) ou restreint (type III) <sup>(18)</sup> (voir figure 5).

**IM de type I** : Jeu valvulaire normal : les valves restent dans le plan de l'anneau

lors de la systole ventriculaire. Une fuite mitrale survient soit en raison d'une perforation d'un ou des deux feuillets, soit suite à une dilatation de l'anneau.

**IM de type II** : Jeu valvulaire exagéré : un déplacement exagéré d'au moins un des deux feuillets lors de la systole ventriculaire et c'est le cas du prolapsus mitral. Le bord libre des feuillets dépasse le plan de l'anneau vers l'oreillette lors de la fermeture de la valve.

**IM de type III** : Jeu valvulaire restreint : restriction des mouvements des feuillets causés par une maladie rhumatismale (IIIa) ou une dysfonction ventriculaire gauche qui entraîne une déformation de la valve mitrale qui devient incapable de se fermer, suite à la traction exercée par les piliers par l'intermédiaire des cordages (IIIb).



**Figure 5** : Classification de l'insuffisance mitrale selon Carpentier ( Image tirée d'après Fedak,Paul W.M et coll. <sup>(6)</sup>). "Reproduit avec permission"

## 1. Prévalence et impact de l'IM fonctionnelle

La prévalence globale des maladies valvulaires est de 2,5 % aux Etats Unis. Elle est de 0,7 % pour la tranche 18-44 ans, mais s'accroît avec l'âge avec une prévalence de 13,3 % chez les personnes âgées de 75 ans et plus <sup>(19)</sup>. Cette prévalence devrait continuer à augmenter avec le vieillissement de la population.

La prévalence exacte de l'insuffisance mitrale fonctionnelle (IMF) dans la population générale demeure imprécise. Des études utilisant la technique d'échocardiographie rapportent des prévalences de l'ordre de 35 à 59 % suivant un infarctus du myocarde <sup>(20-23)</sup>. La prévalence de l'IM est diminuée avec l'amélioration des traitements de l'infarctus, mais celle-ci demeure une complication fréquente des cardiomyopathies ischémiques et non ischémiques, qui double la morbidité des maladies cardiaques <sup>(24)</sup>.

L'insuffisance mitrale fonctionnelle peut se présenter sous une forme aiguë ou chronique. Les conséquences hémodynamiques de l'insuffisance mitrale fonctionnelle aiguë diffèrent de celles de l'insuffisance mitrale fonctionnelle chronique. Dans l'IM fonctionnelle aiguë, généralement secondaire à une rupture spontanée de cordage tendineux, l'OG garde sa taille normale et demeure relativement non compliant. Le volume de sang régurgité va causer une augmentation de la pression au sein de celui-ci, une pression très élevée qui peut se répercuter dans les veines pulmonaires et conduire à un œdème pulmonaire. Bien que la régurgitation soit en général importante dans ce cas, le ventricule gauche n'est pas nécessairement dilaté. Au stade chronique, l'oreillette gauche se dilate peu à peu, et devient plus compliant, ce qui a pour effet d'amortir l'augmentation de la pression à l'intérieur, permettant la protection de la circulation pulmonaire. En aval, la régurgitation de sang entraîne par ailleurs une surcharge volumique qui conduit à la dilatation du ventricule qui, à chaque battement du cœur, doit pomper, outre la quantité de sang nécessaire à l'organisme, également le volume de la régurgitation. En effet, en diastole, le VG va recevoir en plus du volume sanguin provenant des veines pulmonaires, le

volume sanguin qu'il vient d'expulser dans l'OG lors de la systole précédente. Cette surcharge de volume provoque une dilatation du VG, pouvant également provoquer une dilatation de l'anneau mitral. Ainsi, l'IM a la spécificité de s'auto-entretenir voire de s'auto-aggraver dans un cercle vicieux délétère : elle favorise la dilatation du VG qui à son tour amplifie l'IM. Éventuellement, la majorité des patients évolueront vers une phase dite d'insuffisance mitrale chronique décompensée où la régurgitation mitrale persistante a causé un remodelage important du ventricule gauche, et une détérioration de sa fonction contractile.

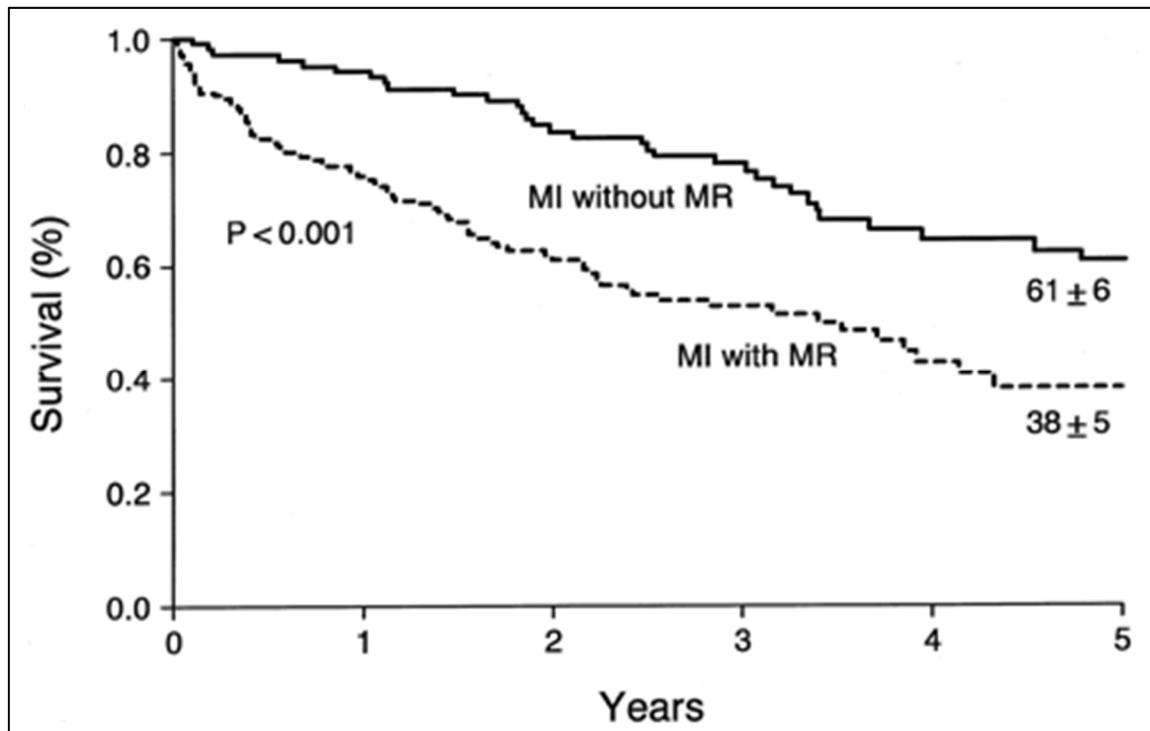
### ***Impact de l'IM fonctionnelle sur le pronostic vital***

Il a été démontré, il y a quelques années, que les patients atteints de maladie coronarienne et d'IM ischémique (IMI) ont un pronostic plus sombre que les patients coronariens sans IMI. Dans la même étude et après analyse des ventriculogrammes de 11 748 patients, Hickey et al. ont démontré que l'augmentation de la gravité de la régurgitation mitrale a un impact négatif sur le pronostic de survie <sup>(25)</sup>.

L'étude SAVE (Survival and Ventricular Enlargement) a démontré qu'une insuffisance mitrale ischémique légère est associée à un risque accru de mortalité cardiovasculaire, même en l'absence de défaillance cardiaque. Après analyses et suivi pendant une moyenne de 3,5 ans post infarctus, Gervasio et al. ont démontré que la présence d'IM ischémique est associée à une mortalité cardiovasculaire élevée (29 % vs 12 %,  $p=0.001$ ), ainsi que d'avantage d'insuffisance cardiaque sévère (24 % vs 16 %,  $p=0.001$ ) <sup>(26)</sup>.

En 2001, Grigioni et al ont montré qu'à la suite d'un infarctus de myocarde, la présence d'IM était synonyme de mortalité accrue à 5 ans ( $38\pm 5$  % vs.  $61\pm 6$  %,  $p<0.001$ ), et ce quelle qu'en soit la sévérité. Dans cette étude, même les patients avec IM non sévère ( $SOR \geq 20$  mm<sup>2</sup>), avaient une mortalité augmentée, alors qu'en insuffisance mitrale organique une  $SOR \geq 40$  mm<sup>2</sup> est considéré sévère <sup>(24)</sup>.

Ceci suggère que le myocarde ischémique est plus sensible à une surcharge de volume (voir figure 6).



**Figure 6** : Impact de la présence d'insuffisance mitrale à la suite d'un infarctus du myocarde, sur la survie des patients (Image tirée d'après Francesco Grigioni et coll. <sup>(24)</sup> ). MR : régurgitation mitrale, MI : infarctus de myocarde. "Reproduit avec permission"

Plus récemment, après analyses rétrospectives des données de 2242 patients, Grossi et al ont démontré qu'après revascularisation coronarienne, les patients atteints d'IM modérée ( $70 \pm 1 \%$ ) ou d'IM légère ( $84 \pm 1 \%$ ) avaient un taux de survie postopératoire significativement ( $p < 0,001$ ) inférieur à ceux qui n'ont pas d'IM ( $86 \pm 1 \%$ ) <sup>(27)</sup>.

Ces études diffèrent en technique et devis, mais elles indiquent de façon constante que l'IM fonctionnelle est associée à un mauvais pronostic, ainsi qu'un risque accru de mortalité.

## 2. Moyens diagnostiques

L'échographie cardiaque est l'examen de choix pour détecter et quantifier l'IM fonctionnelle. Cet examen permet aussi d'évaluer l'impact de l'IM sur les cavités gauches. Une échographie transoesophagienne (ETO) peut compléter l'examen afin de mieux visualiser l'appareil valvulaire mitral.

L'échocardiographie Doppler permet de visualiser les vitesses du sang sous forme de codage en couleurs. Il permet ainsi de visualiser le jet de l'insuffisance mitrale dans l'oreillette gauche. Les dimensions de ce jet permettent déjà une estimation grossière du degré de sévérité de la régurgitation.

Selon les lignes directrices de American Heart Association (AHA) et American College of Cardiology (ACC), l'échocardiographie transthoracique (ETT) est utile pour connaître l'étiologie de l'IMF chronique, l'étendue et l'emplacement des anomalies de mouvement de la paroi ventriculaire gauche, en plus d'évaluer sa fonction contractile. Elle permet aussi d'évaluer la gravité de l'IM et l'ampleur de l'hypertension pulmonaire <sup>(28)</sup>.

## 3. Traitement

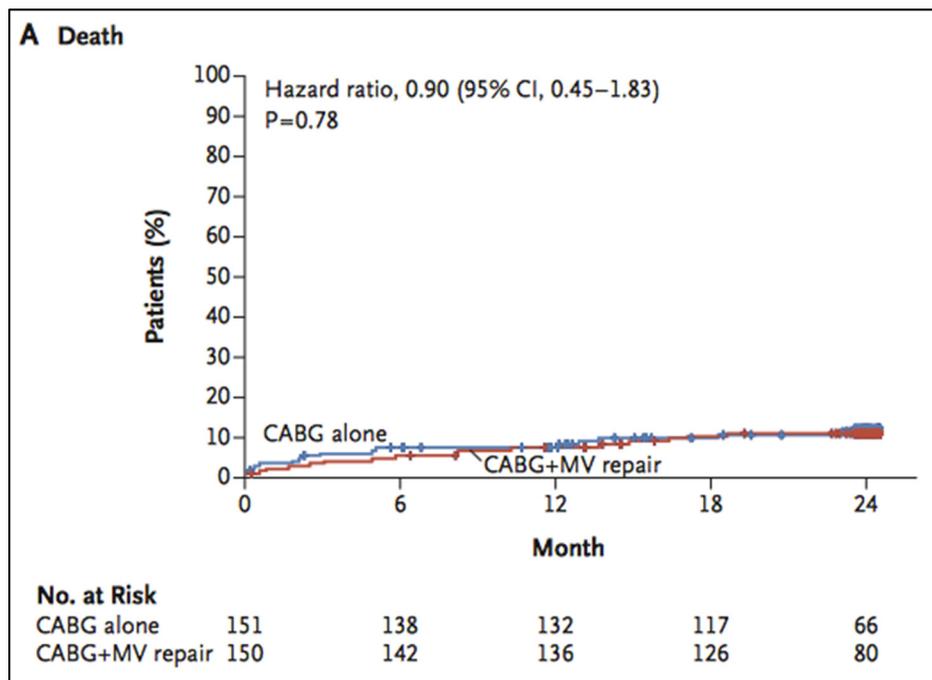
À l'heure actuelle, il n'existe pas de traitement médicamenteux pour l'insuffisance mitrale fonctionnelle. L'approche pharmacologique de cette valvulopathie est généralement centrée sur le traitement de la pathologie du myocarde sous-jacent, des traitements qui peuvent seulement diminuer la fuite mitrale, sans toutefois l'éliminer <sup>(29-33)</sup>. Concernant la prise en charge chirurgicale, il existe deux sortes de chirurgies : annuloplastie et remplacement.

### ***L'annuloplastie de la valve mitrale***

En 1995, Steven Bolling et David Bach ont introduit le concept de l'annuloplastie restrictive de la valve mitrale (l'ARVM), une technique qui consiste à implanter un anneau prothétique de taille inférieure à l'anneau natif pour restreindre et réduire le diamètre de l'anneau mitral <sup>(34-36)</sup>. Combiné au pontage aorto-coronarien

(PAC), l'ARVM est la technique la plus utilisée pour corriger l'IM ischémique. Cependant, il a été démontré qu'après 10 ans de suivi, il ne semble pas y avoir de différence de survie, en plus des taux élevés de persistante d'IM postopératoire, généralement associé à un mauvais pronostic <sup>(37)</sup>.

Plus récemment, Michler et al ont comparé le pontage aorto-coronarien seul au pontage avec réparation mitrale dans le contexte d'insuffisance mitrale modérée. Dans cette étude, publiée en avril 2016, 301 patients ont été divisés en deux groupes : soit un PAC seul, soit un PAC combiné à une réparation mitrale. Les deux groupes ne différaient que par la réalisation d'une réparation mitrale. Il a été démontré que l'ajout d'une procédure tel que la réparation mitrale à un PAC fourni une correction plus durable de l'IM, mais aucune différence significative entre les approches en ce qui concerne le remodelage du ventricule gauche ou la survie à 2 ans n'a été montrée <sup>(38)</sup> (voir figure 7).



**Figure 7 :** Taux de mortalité à 2 ans à la suite d'une réparation mitrale combinée à un PAC comparée au taux de mortalité à la suite d'un PAC seul (Image tirée d'après R.E. Michler et coll. <sup>(38)</sup>) "Reproduced with permission from New England Journal of Medicine. Copyright Massachusetts Medical Society".

## ***Le remplacement valvulaire***

Le remplacement valvulaire mitrale (RVM) pourrait être une alternative intéressante à l'ARVM afin d'éviter les taux élevés de persistance et de récurrence observés suite à cette procédure qui peuvent amener dans la majorité des cas à la réalisation d'une deuxième procédure chirurgicale qui sera le plus souvent un R V M.

En 2014, Acker et al. ont démontré dans une étude incluant 251 patients qu'il n'y a aucune différence significative en ce qui concerne le remodelage du ventricule gauche ou la survie à 12 mois entre les patients qui ont subi une réparation de la valve mitrale et ceux qui ont subi un remplacement valvulaire. Cependant, le taux de récurrence d'insuffisance mitrale modérée ou sévère était supérieur dans le groupe de la réparation mitrale (32.6 % vs. 2.3 %,  $P < 0.001$ ) <sup>(39)</sup>.

## ***Nouvelle approche : le dispositif Mitraclip***

Développé par la firme ABBOTT, le dispositif Mitraclip a été conçu pour le traitement des régurgitations mitrales par voie percutanée. La technique consiste à introduire par la veine fémorale un cathéter qui sert de guide au dispositif : le clip qui sera placé au-dessus de la valve mitrale, face au flux de la régurgitation mitrale. La fermeture du clip permet de rapprocher les feuillets et de réduire la fuite <sup>(40)</sup>, cependant, les résultats à la suite de cette procédure dans le contexte de l'IM fonctionnelle sont loin d'être optimaux <sup>(41)</sup>.

Selon les lignes directrices publiées conjointement par l'AHA et l'ACC, la chirurgie est indiquée (indication classe IIb) en présence d'insuffisance mitrale secondaire lorsque cette dernière est :

- Chronique sévère et gravement symptomatique (NYHA classe III à IV) malgré des thérapies médicales (GDMT) optimales pour insuffisance cardiaque.

La plastie mitrale peut être envisagée chez les patients atteints d'IMF chronique modérée subissant une autre chirurgie cardiaque. Une surveillance périodique

est recommandée lorsque l'IMF est sévère asymptomatique <sup>(28)</sup>.

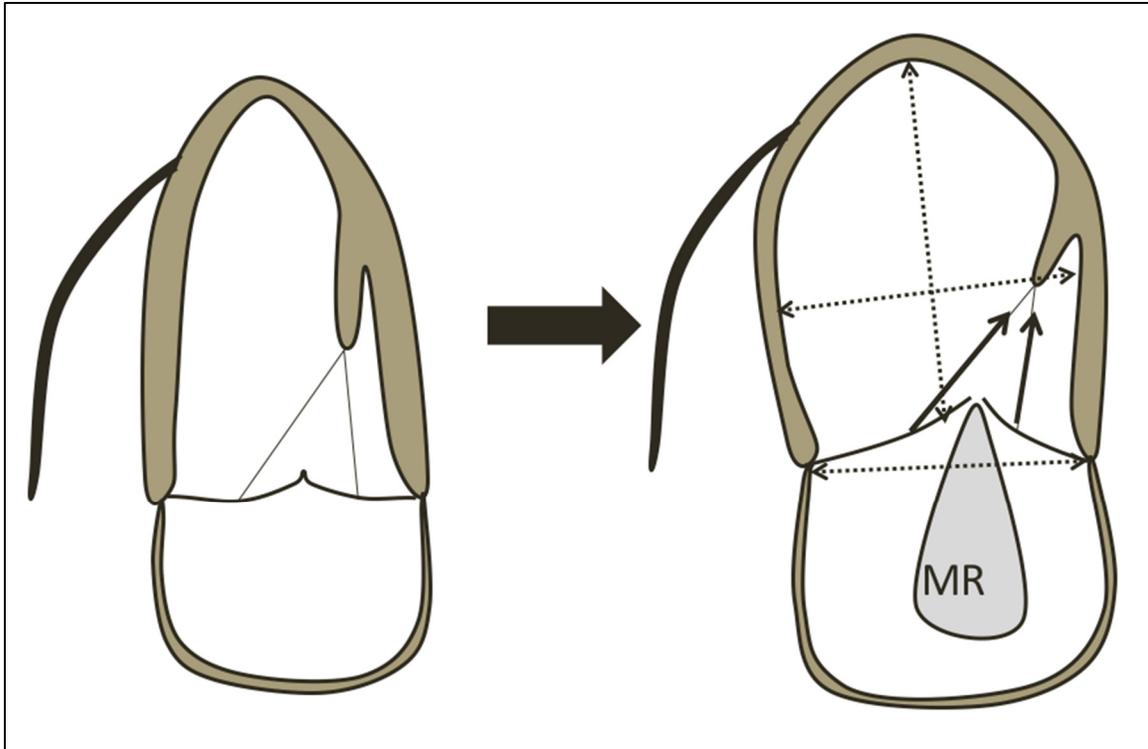
Toutes ces études démontrent que la prise en charge de l'insuffisance mitrale fonctionnelle, tant chirurgicale que pharmacologique, est loin d'être optimale et reste controversée.

## **4. Les mécanismes de l'IM fonctionnelle**

En insuffisance mitrale fonctionnelle, la fuite ne résulte pas d'une lésion valvulaire, la valve mitrale étant structurellement normale, mais d'une modification du positionnement et de la géométrie d'un ou de plusieurs éléments de la valve, suite à l'altération de la forme et de la fonction du VG.

### **Concepts actuels**

Le mécanisme de l'IM fonctionnelle est classiquement lié au remodelage ventriculaire gauche causant un élargissement de l'anneau mitral et le déplacement des muscles papillaires de leur emplacement d'origine. Ces modifications physiopathologiques, qui augmentent la distance entre les extrémités des muscles papillaires et l'anneau mitral, interfèrent avec la coaptation adéquate des deux feuillets valvulaires (voir figure 8).



**Figure 8** : Mécanisme classique de l'insuffisance mitrale fonctionnelle. La dilatation du VG entraîne le déplacement des muscles papillaires et la fermeture incomplète des feuillets valvulaires et donc le reflux de sang du VG à l'OG en systole. La taille de l'anneau mitral peut également augmenter, ce qui limite encore la coaptation des feuillets et pourrait contribuer à la pathogenèse de l'IMF (Courtoisie du Dr Jonathan Beaudoin).

### ***Dysfonctionnement des muscles papillaires***

Historiquement, le dysfonctionnement des muscles papillaires a été considéré comme la cause principale de l'IM fonctionnelle <sup>(42-44)</sup>. Cependant, avec les progrès en imagerie plusieurs études ont démontré que la diminution de la perfusion des MP seule ne pouvait pas créer l'IM. En 1991, il a été démontré dans une étude réalisée sur des gros animaux (chiens) que l'IM se produit dans un contexte d'ischémie myocardique que lorsque la fonction globale du VG est affectée ce qui suggère donc que le mécanisme de l'IM fonctionnelle n'est pas lié à un dysfonctionnement des MP, mais plutôt à une diminution de la contractilité du VG induisant une tension sur les feuillets <sup>(45)</sup>.

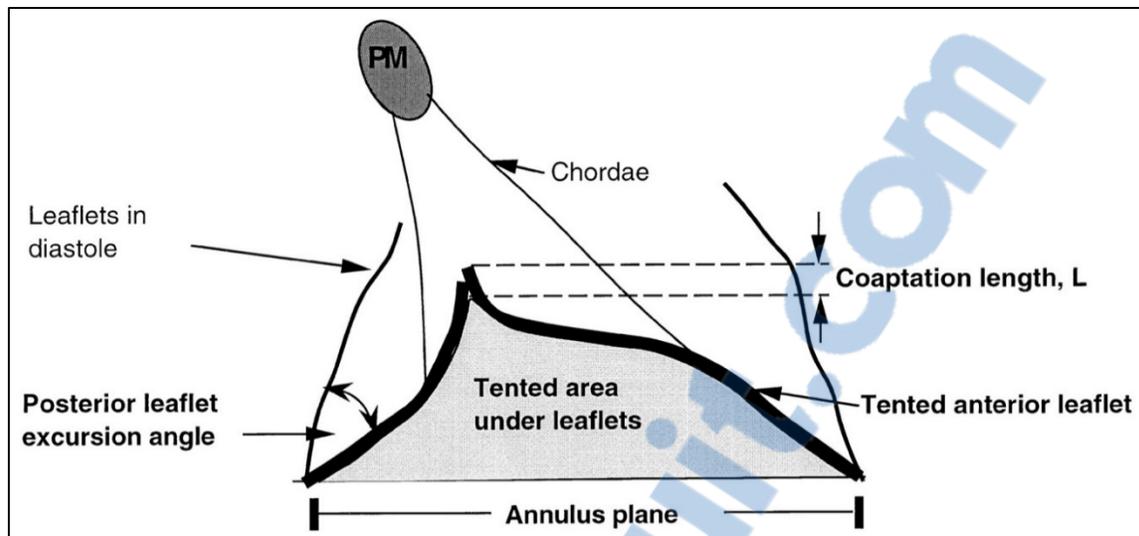
En 1995, un autre mécanisme de l'IM a été proposé par Dent et al. où ils ont montré que la fonction systolique du VG détermine l'étendue (l'ouverture et la fermeture) de la valve mitrale, et que l'IM fonctionnelle est associé à une réduction de force de fermeture qui s'exerce sur les feuillets en systole due à un dysfonctionnement ventriculaire gauche<sup>(46)</sup>.

### ***La dilatation de l'anneau mitral***

Le rôle de la dilatation annulaire observé suite à une dysfonction du VG est encore incertain. Plusieurs études ont démontré que la dilatation de l'anneau seule ne peut pas causer de l'IM fonctionnelle, elle peut cependant majorée l'IM en présence d'une traction sur les feuillets <sup>(47)</sup>. Dans une étude prospective incluant 149 patients, il a été démontré qu'une perte de la contraction systolique de l'anneau mitral est associée à une augmentation de la surface de l'orifice régurgitant <sup>(48)</sup>. En 2004, Gorman et al. ont montré une association entre la forme en selle de cheval de l'anneau mitral et la compétence de la valve mitrale. En effet, dans les cardiopathies ischémiques, l'anneau mitral s'aplatit causant une augmentation de la tension sur les feuillets et donc un développement de l'IM <sup>(49)</sup>.

### ***Intégration des mécanismes actuels***

Lorsque le ventricule gauche est malade suite à un infarctus de myocarde par exemple, l'anneau mitral peut se dilater, le VG se dilate, perd sa forme elliptique et devient plus sphérique. Ces changements géométriques entraînent un déplacement apical et latéral des muscles papillaires qui changent d'angle induisant une traction sur la valve (une mise en tension des feuillets) qui devient incapable de se fermer normalement <sup>(47, 48, 50-56)</sup>. Cette tension exercée sur les feuillets mitraux résulte en un aspect morphologique de la valve mitrale ressemblant à une tente, lors de la systole (mitral valve tenting) <sup>(57)</sup> (voir figure 9).



**Figure 9** : Schéma de la géométrie de la valve mitrale ressemblant à une tente (Illustration des paramètres utilisés pour caractériser la mobilité des feuillets mitraux. PM signifie muscle papillaire. (Image tirée d'après Shengqiu et coll.<sup>(57)</sup>). "Reproduit avec permission"

Malgré tout, ces concepts n'expliquent pas la variabilité clinique observée : des patients ayant des degrés similaires de remodelage et de dilatation ventriculaire gauche peuvent présenter des degrés très variables d'IMF.

Les mécanismes précédemment décrits présument que la taille de la valve reste constante alors que le ventricule gauche se dilate et change de taille. Une limitation majeure des études mécanistiques initiales était l'absence de moyens non invasifs pour évaluer la taille de la valve; alors que la taille, la forme du ventricule gauche, et le diamètre de l'anneau mitral peuvent être évalués grâce à l'imagerie bidimensionnelle 2D standard. La taille des valves est difficile à mesurer en raison de sa structure géométriquement complexe et ses mouvements rapides. Sans méthodes adéquates pour mesurer la taille de la valve, ce paramètre important a été négligé et la valve considérée à tort comme un simple « flap » fibreux sans capacité d'adaptation.

Les progrès récents en imagerie tridimensionnelle (3D) non invasive permettent actuellement de mesurer la surface des feuillets, et ont contribué à montrer que les valves mitrales ne sont pas que des structures passives de taille fixe, mais

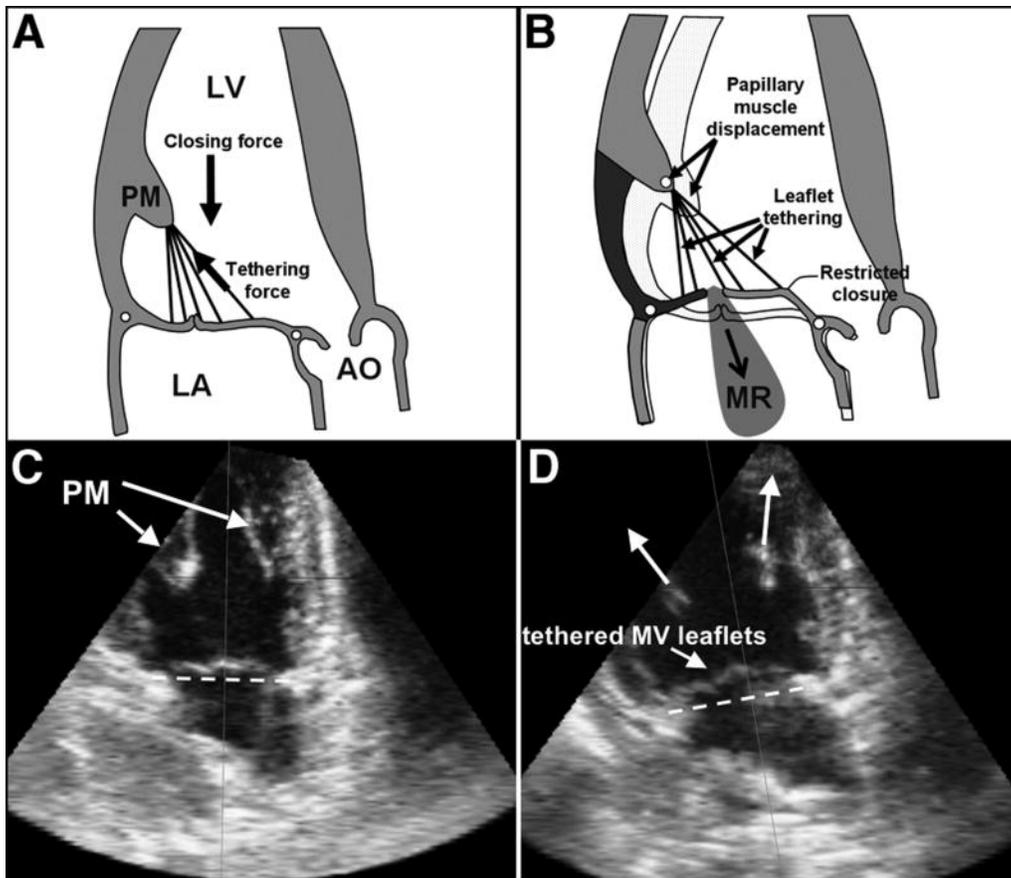
elles sont plus grandes chez les patients souffrant d'insuffisance cardiaque ou d'un dysfonctionnement systolique <sup>(23, 52-54)</sup>.

Ces études ont démontré donc que la taille de la valve est un facteur déterminant dans la genèse de l'IM fonctionnelle : les patients chez qui la taille de la valve est proportionnelle à celle du VG n'ont typiquement pas d'IM fonctionnelle <sup>(58)</sup>. En effet, Chaput et al. ont démontré que la taille des feuillets mitraux augmente en réponse à une traction chez des patients souffrant de cardiomyopathie dilatée <sup>(59)</sup>. Plus récemment, la même équipe a montré par le biais d'un modèle animal d'IM ischémique que tout comme le ventricule, la valve mitrale augmente et change de taille au fil du temps <sup>(60)</sup>.

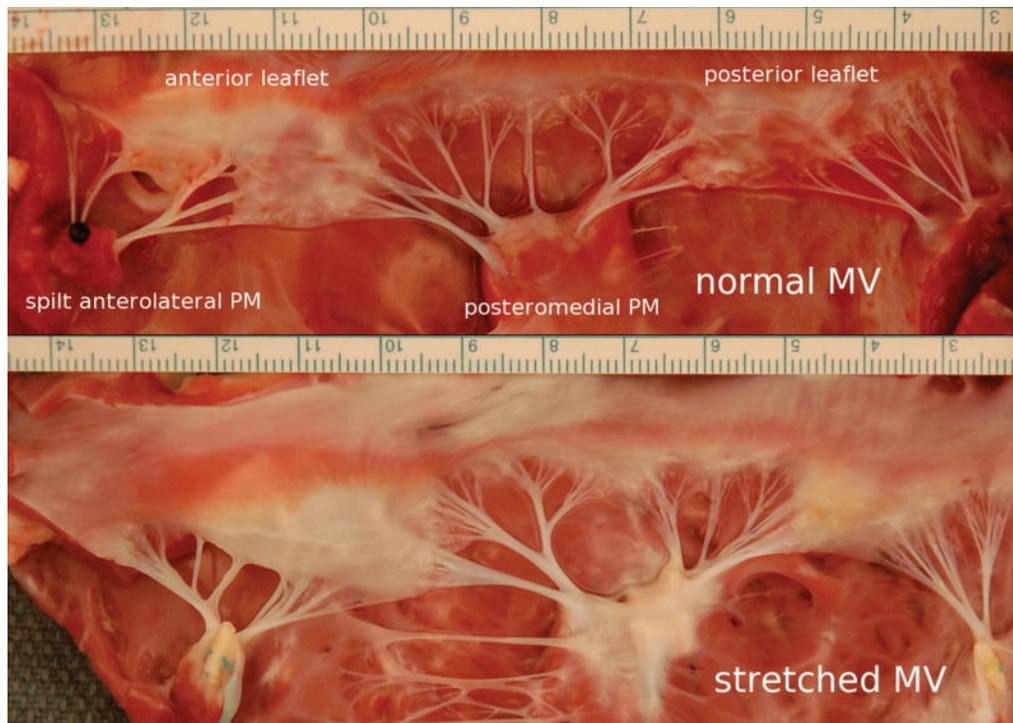
Cependant cet élargissement compensateur est souvent limité est insuffisant pour prévenir l'IM fonctionnelle. Ces résultats redéfinissent donc les mécanismes classiques de l'IM fonctionnelle, dont la cause ne doit pas seulement être reliée au remodelage ventriculaire gauche <sup>(61)</sup>, mais aussi à une adaptation inadéquate du tissu valvulaire à l'âge adulte.

En résumé, les travaux de Chaput et al suggèrent que l'agrandissement de la valve mitrale pourrait être un phénomène pouvant prévenir l'IM fonctionnelle ; une meilleure compréhension de cette adaptation valvulaire est donc nécessaire.

En 2009, une étude réalisée sur des gros animaux (des moutons), et qui consiste à rétracter les muscles papillaires afin de créer un stress sur la valve (voir figure 10), a démontré que les valves cardiaques ont la capacité de s'agrandir et de s'adapter en réponse au stress mécanique (voir figure 11). La réponse des feuillets soumis au stress mécanique était donc la croissance, ce qui permet la valve de s'adapter adéquatement et prévenir l'IM fonctionnelle <sup>(62)</sup>. Nous aborderons ces mécanismes de croissance valvulaire plus en détail dans la section suivante.



**Figure 10** : Étirement des feuillets de la valve mitrale. Fermeture normale de la valve mitrale (A, C) ; rétraction des muscles papillaires causant un étirement des feuillets de la valve mitrale (D) et, si assez sévère, IM (B). (C & D) : échocardiographie ventriculaire gauche chez le même mouton avant (C) et après rétraction des MP causant un étirement des feuillets mitraux (D). La ligne en pointillé indique le niveau de l'anneau mitral. (Ao : Aorte, LA : oreillette gauche ; LV : ventricule gauche, MR : régurgitation mitrale ; MV : valve mitrale; PM : muscle papillaire) (Image tirée d'après Jacob P. Dal-Bianco et coll.<sup>(62)</sup> ). "Reproduit avec permission"

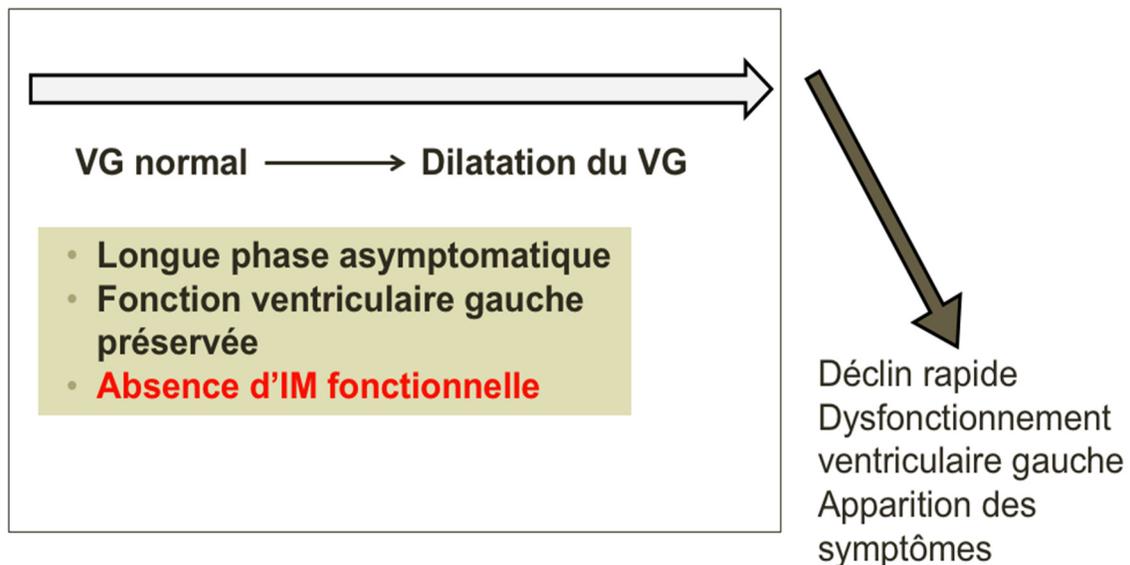


**Figure 11** : Agrandissement valvulaire suite à une tension mécanique. Valve mitrale normale (en haut) versus valve mitrale étirée (en bas) (PM : muscle papillaire ; unité en cm) (Image tirée d'après Jacob P. Dal-Bianco et coll. <sup>(62)</sup>). "Reproduit avec permission"

Un exemple particulier sur lequel est fondé notre travail : l'insuffisance aortique (IA) chronique compensée, une maladie associée à une croissance importante et adéquate de la valve mitrale, gardant des proportions normales entre les feuillets et la taille des VG. Les patients souffrant de cette pathologie ont étonnamment une faible incidence d'IM fonctionnelle malgré des VG souvent très dilatées <sup>(63)</sup>.

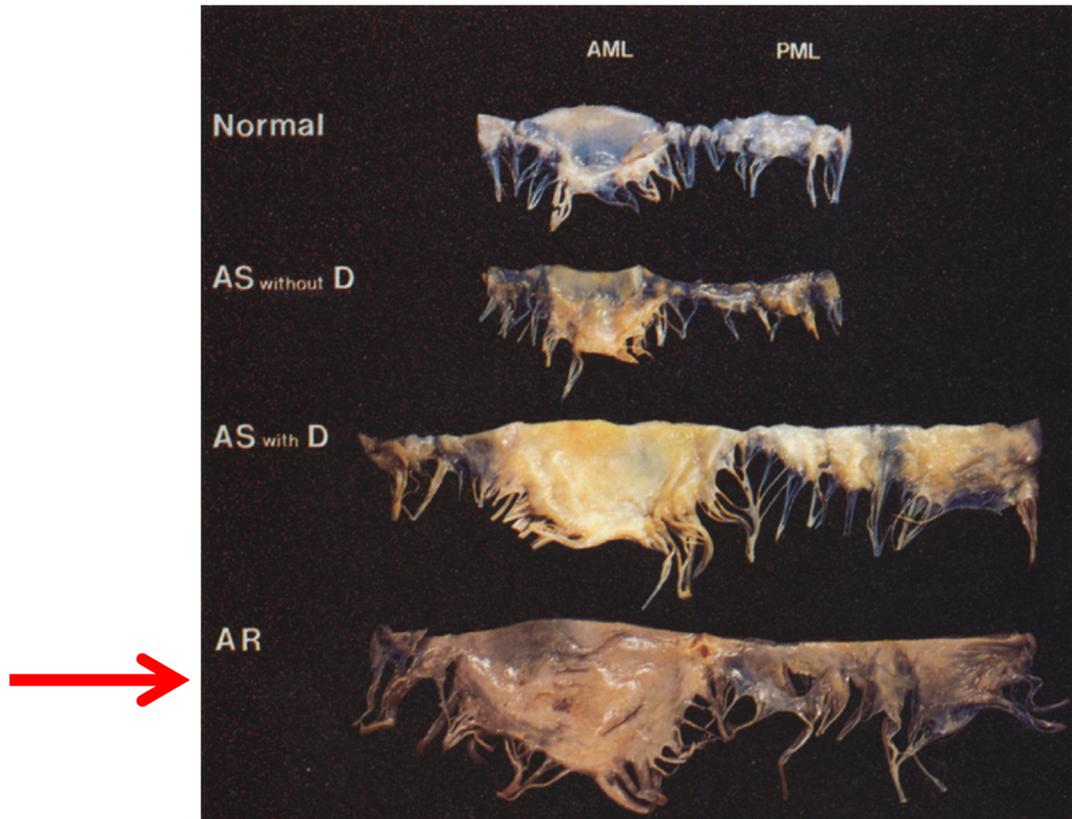
L'IA ou la régurgitation aortique (RA) est une valvulopathie peu fréquente qui correspond à un défaut d'étanchéité de la valve aortique entraînant un reflux de sang de l'aorte ascendante vers le ventricule gauche en diastole en plus du volume sanguin issu de l'OG, conduisant ainsi à une surcharge volumique dans le VG. Ce surplus de volume induit un stress important sur les parois du VG et une dilatation de celui-ci (une hypertrophie excentrique).

Cette valvulopathie est caractérisée par une longue phase dite chronique, pendant laquelle le VG s'hypertrophie et se dilate, permettant ainsi de maintenir une fonction cardiaque adéquate et cela en conservant son hypercontractilité et un débit cardiaque (DC) normal. À ce stade, le VG est dit en phase compensée, le patient peut rester asymptomatique pendant plusieurs années et l'IM fonctionnelle est relativement absente. À plus long terme, la contractilité du VG va se détériorer, et la compliance de celui-ci va diminuer ce qui va conduire à une augmentation de la pression de remplissage diastolique du VG et à une diminution de la fraction d'éjection (voir figure 12).



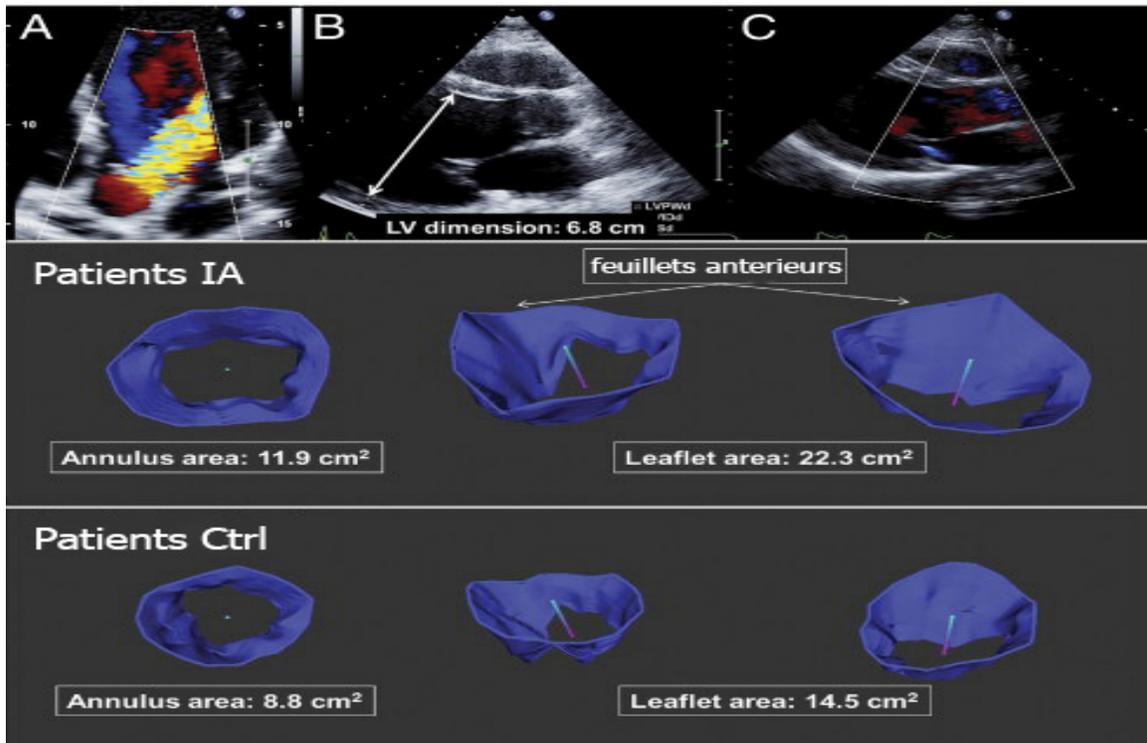
**Figure 12:** Histoire naturelle de la régurgitation aortique chronique (courtoisie de Dr Jonathan Beaudoin).

C'est une étude d'autopsie qui a démontré pour la première fois, il y a plus que vingt ans, que les feuillets mitraux sont variablement agrandis dans diverses pathologies, comme en IA, confirmant l'hypothèse que les feuillets valvulaires ne sont pas que des « structures passives » <sup>(64)</sup> (voir figure 13).



**Figure 13** : Agrandissement des feuillets mitraux (antérieur et postérieur) chez des patients souffrant de régurgitation aortique (AR)(Image tirée d'après Mautner SL et coll. <sup>(65)</sup> ). "Reproduit avec permission"

Plus récemment, ce phénomène a été observé par imagerie 3D <sup>(63)</sup>. Il a été démontré que la surface des feuillets est plus grande que chez des sujets contrôles (voir figure 14).



**Figure 14** : Adaptation adéquate des feuillets valvulaires en IA malgré des VG très dilatés. Malgré l'insuffisance aortique sévère (A), et l'importante dilatation du VG (B), il n'y a pas d'IMF (C). La reconstruction 3D des feuillets mitraux a démontré que la surface des feuillets s'est agrandie, en parallèle de l'élargissement de l'anneau et la dilatation du VG, comparé aux normaux (Image tirée d'après Jonathan Beaudoin et coll.<sup>(63)</sup> ) "Reproduit avec permission"

En insuffisance aortique chronique compensée, l'adaptation valvulaire survient naturellement, et à ce jour, il n'y a aucune donnée provenant de tissus biologiques pour expliquer les mécanismes de cette adaptation. Pour étudier l'agrandissement valvulaire, il est pertinent de revoir les mécanismes de croissance embryonnaire ainsi que certains éléments de biologie cellulaire dans les valves.

### III. Le développement des valves cardiaques

Au cours du développement de l'embryon humain, le cœur est le premier organe fonctionnel. Initialement il se présente sous forme d'un tube cardiaque primitif, formé d'une couche interne de cellules endocardiques entourées par une couche externe de cellules myocardiques séparées par une matrice extracellulaire, nommée gelée cardiaque. À ce stade précoce, les coussins endocardiques agissent comme des barrières physiques qui empêchent le reflux de sang à travers le tube cardiaque primitif <sup>(65)</sup>.

Entre la 5e et la 8e semaine de vie intra-utérine, ce tube cardiaque subit plusieurs changements menant à un cœur mature et fonctionnel.

C'est au cours de cette période que les valves cardiaques se forment en commençant par le développement du bourrelet endocardique dans le canal atrio-ventriculaire (CAV) et le tronc artériel, suite à l'inflexion du tube endocardique, donnant naissance respectivement aux valves atrio-ventriculaires (mitrale du côté gauche et tricuspide du côté droit), et sigmoïdes <sup>(65-67)</sup>.

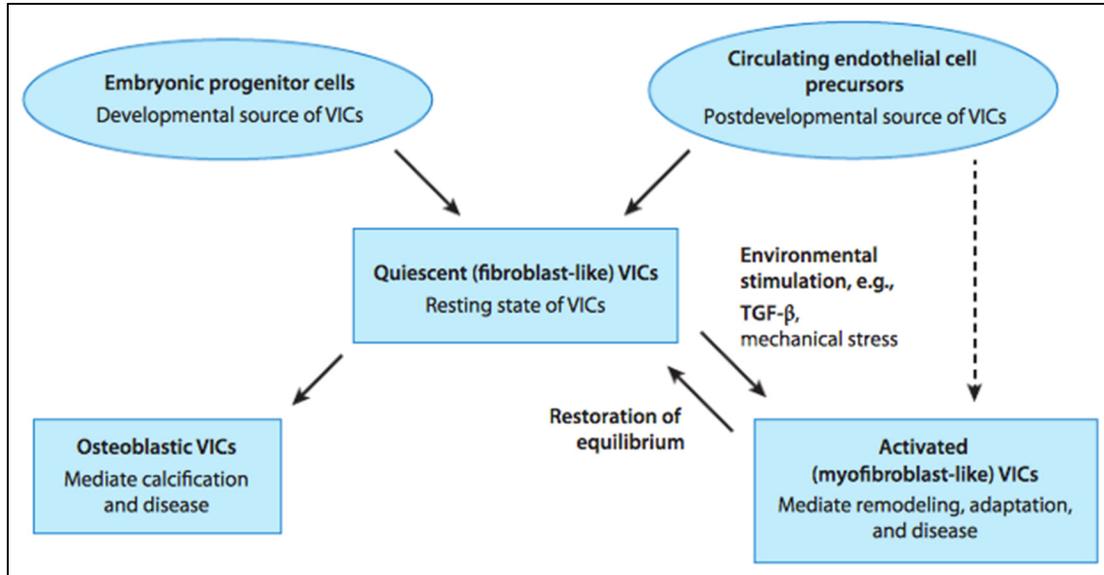
En réponse à plusieurs facteurs de croissance y compris des protéines de la superfamille (transforming growth factor  $\beta$ ) TGF- $\beta$  (TGF- $\beta$  1-3 et BMP 2-4 [Bone morphogenetic protein], un sous-ensemble de cellules endocardique du bourrelet se transforme en cellules mésenchymateuses suite à une transition endothéliale mésenchymateuse (EMT) <sup>(68-70)</sup>. Plusieurs facteurs de croissance sont impliqués dans la formation du bourrelet et l'induction de l'EMT, telle que NOTCH1, BMP2 et TGF- $\beta$ 2 <sup>(71-77)</sup>. Les cellules mésenchymateuses envahissent par la suite le bourrelet endocardique et prolifèrent suite à l'expression de EGF [Epidermal growth factor] et FGF4 [fibroblast growth factor] <sup>(78, 79)</sup>. Elles cessent de se proliférer et se différencient en VIC qui à leur tour synthétisent des composants de la matrice extracellulaire <sup>(68, 80-82)</sup>. La différenciation des cellules mésenchymateuse en VIC de type fibroblastique serait sous la dépendance de la périostine qui serait induite par le TGF- $\beta$  <sup>(83, 84)</sup>. Il a été démontré que cette transition endothéliale mésenchymateuse peut être induite in vivo dans un



## IV. Composantes Cellulaires et matricielles

Les valves cardiaques sont des structures vivantes dont les cellules jouent un rôle fondamental dans la fonction mécanique, la durabilité et la longévité de la valve.

Deux types cellulaires sont présents au sein des feuillets mitraux : des cellules endothéliales valvulaires (VEC) situées à la surface et des VIC dispersées dans les trois couches des feuillets valvulaires. Pendant de nombreuses années, les VIC ont été classées dans la famille des fibroblastes par leur capacité de sécrétion et de dégradation de la MEC et ce n'est que récemment qu'ils ont découvert qu'il existe 5 types cellulaires présents dans les différentes couches des valves cardiaques : des VIC provenant de la transition endothéliale mésenchymateuse, des VIC progénitrices, des VIC quiescentes, des VIC activées, VIC ostéoblastiques <sup>(88)</sup> (voir figure 16). Le phénotype de ces cellules change en fonction des conditions environnementales et mécaniques.



**Figure 16** : Origine et phénotype des cellules valvulaires (Image tirée d'après Schoen FJ et coll. <sup>(88)</sup>). "Reproduit avec permission"

Une population hétérogène de cellules valvulaires interstitielles occupe les valves cardiaques. Selon les conditions, ces cellules changent de phénotype.

Dans une valve saine, les VIC sont quiescentes et présentent un phénotype de type fibroblastique, alors que dans une valve malade, une sous population de ces cellules s'active et présente différents phénotypes cellulaires selon la pathologie ou un phénotype ostéoblastique. Les cellules progénitrices donnant naissance à ces sous-populations peuvent être endothéliales ou circulantes <sup>(88)</sup>.

## **1. Les cellules endothéliales**

Un endothélium continu, en continuité avec l'endocarde de l'oreillette et du ventricule, composé de cellules endothéliales spécialisées tapisse les deux côtés des feuillets, soient les côtés auriculaires et ventriculaires. Elle forme une barrière essentielle à l'homéostasie en remplissant des fonctions dans la réponse inflammatoire, la coagulation et la perméabilité.

Ils ont une forme polygonale et sont collés entre eux afin de protéger la valve. L'épaisseur de cette couche varie d'une valve à l'autre, d'un endroit à l'autre dans la même valve et avec l'âge.

Les cellules endothéliales des valves sont assez différentes de ceux composant les vaisseaux sanguins. Il a été démontré qu'en réponse aux forces de cisaillement hémodynamique, les cellules endothéliales de valves aortiques porcines s'alignent d'une façon perpendiculaire au flux sanguin alors qu'ils s'orientent parallèlement dans les vaisseaux <sup>(89, 90)</sup>.

## **2. Les cellules valvulaires interstitielles (VIC)**

Les cellules valvulaires interstitielles communiquent entre elles par des jonctions intercellulaires et se localisent principalement sous l'endothélium, mais sont aussi distribuées partout entre les deux couches de cellules endothéliales. Elles permettent la fonction dynamique de la valve en se contractant (présence de filaments d'actine). Il existe dans la valve adulte une sous-population de cellules progénitrices dans l'endothélium capable de se différencier et de renouveler la population de VIC dans le feuillet valvulaire <sup>(91)</sup>. Les VIC responsables du

maintien de l'homéostasie matricielle et les cellules endothéliales, responsables du maintien de la population des VIC, sont en étroite relation permettant le maintien structurel des feuillets valvulaires pour qu'ils puissent supporter les forces hémodynamiques exercées perpendiculairement sur le tissu valvulaire pendant la systole ventriculaire et assurer la fermeture complète des valves <sup>(92)</sup>.

Il a été aussi démontré qu'il existe des cellules appelées cellules souches hématopoïétiques présentes dans des valves de souris adultes capables de se différencier en cellules morphologiquement similaires aux VIC <sup>(93)</sup>. Ces résultats suggèrent donc qu'il existe des cellules progénitrices provenant de différentes sources locales, ainsi qu'externes capables de se différencier en VIC. Cela pourrait expliquer les différences fonctionnelles observées dans les différentes couches des feuillets valvulaires <sup>(94)</sup>.

## **2.1 Les fibroblastes**

Les fibroblastes, parfois nommés cellules de soutien, sont présents dans les tissus conjonctifs du corps humain. Elles sont habituellement identifiées par leur forme fusiforme, aplatie et allongée, leur cytoplasme contient particulièrement un réseau de microfilaments d'actine et de vimentine qui constitue le cytosquelette. Elles proviennent des cellules souches mésenchymateuses. Ce sont ces cellules qui produisent certaines composantes de la matrice extracellulaire, à savoir les glycoprotéines, les protéoglycans, ainsi que les glycosaminoglycans.

Les fibroblastes ont une forte activité synthétique, ils secrètent essentiellement du collagène et des protéines de fibres, tels l'élastine, la fibriline, des enzymes pour dégrader la MEC, la renouveler et la réorganiser. Ils interagissent avec ces composants grâce au récepteur de type intégrine présent sur leur surface.

## 2.2 Les myofibroblastes

Les cellules de type myofibroblastique, provenant principalement de la différenciation des fibroblastes, possèdent certaines caractéristiques proches à la fois des fibroblastes et des cellules musculaires lisses. Elles ont la particularité d'exprimer l'actine musculaire lisse  $\alpha$  ( $\alpha$ -SMA), un marqueur de myofibroblaste responsable du remodelage matriciel et la production de collagène. Elles présentent aussi des fibres de muscles striés et de chaîne lourde de myosine. Ces cellules jouent un rôle central dans la prolifération et la migration cellulaire <sup>(95)</sup> en plus du remodelage et de la réparation tissulaire.

Ce sont des cellules fibroblastiques hyperactives, elles sont dotées d'un pouvoir contractile grâce à l'expression des protéines contractiles. Elles sont capables de produire les composantes de la MEC <sup>(96)</sup>.

Les valves saines sont majoritairement composées de cellules valvulaires interstitielles dites quiescentes <sup>(97)</sup>, alors que dans les valves malades les VIC activées expriment  $\alpha$ -SMA et présente un phénotype proche de celui des myofibroblastes <sup>(98)</sup>.

Les cellules valvulaires interstitielles baignent dans une matrice extracellulaire composée principalement de collagène, d'élastine, de glycoprotéines, de glycosaminoglycans et de proteoglycans qu'elles synthétisent, secrètent et dégradent pour maintenir la fonction physiologique de la valve. La composition de la MEC fournit à ces cellules un environnement propice à leur survie, leur prolifération et leur migration. La composition matricielle dépend des besoins des tissus.

### ***Implication de MMPs***

Les fibroblastes sécrètent des métalloprotéinases (MMPs). Elles ont la capacité de dégrader la MEC en clivant des récepteurs membranaires, des facteurs de croissance et des protéines d'adhésion telles que les collagènes et les fibres élastiques <sup>(99)</sup>. Elles sont sécrétées suite à un stimulus externe comme le TGF- $\beta$ . Il existe plusieurs sous-types de MMPs, chacune ayant son substrat. Les MMP-1

et MMP-13 dégradent les fibres de collagènes (collagène I et collagène III) et les MMP-2 et MMP-9 sont des élastases qui dégradent les fibres élastiques <sup>(100)</sup>. Les inhibiteurs tissulaires des métalloprotéinases (TIMPs) inhibent l'activité des MMPs suite à leur liaison au site actif des MMPs empêchant l'interaction de ces dernières aux composantes de la MEC. Il a été démontré qu'un désordre dans la composition de la MEC amène au développement de certaines maladies valvulaires, qui pourraient donc être expliquées par des anomalies survenant au cours du développement ou du remodelage valvulaire <sup>(98, 101, 102)</sup>.

Suite à cette revue de la littérature, nous arrivons à la conclusion qu'une adaptation adéquate de la valve mitrale peut prévenir l'IMF.

L'IA chronique compensée pourrait donc représenter un phénomène naturel « Physiologie favorable » pour l'élargissement et l'adaptation des feuillets mitraux.

Cependant, les mécanismes stimulant cette croissance valvulaire sont encore inconnus, et il n'est pas clair si les mécanismes de croissance embryonnaires précédemment décrits se réactivent dans la valve mitrale en insuffisance aortique (vs un étirement passif de la valve).

## **V. Modèle d'insuffisance aortique chez le rat**

Pour étudier l'adaptation valvulaire mitrale en insuffisance aortique, nous avons utilisé un modèle expérimental chez le rat. Ce modèle a déjà été calibré et validé dans des études précédentes. Sous anesthésie générale et guidage échocardiographique, la valve aortique est perforée à l'aide d'un cathéter via la carotide droite. Le cathéter est poussé vers l'aorte ascendante afin de perforer un ou deux feuillets de la valve aortique et induire la régurgitation aortique (voir figure 17). L'artère est ensuite ligaturée et la plaie est recousue. La technique d'échocardiographie permet de visualiser l'opération, de guider le cathéter pour perforer le bon endroit et de s'assurer que l'IA a été bien induite en regardant le reflux de sang. Elle permet aussi d'estimer la sévérité d'IA créée afin que celle-ci

soit homogène pour tous les animaux. Le taux de survie postopératoire est d'environ 80 %.

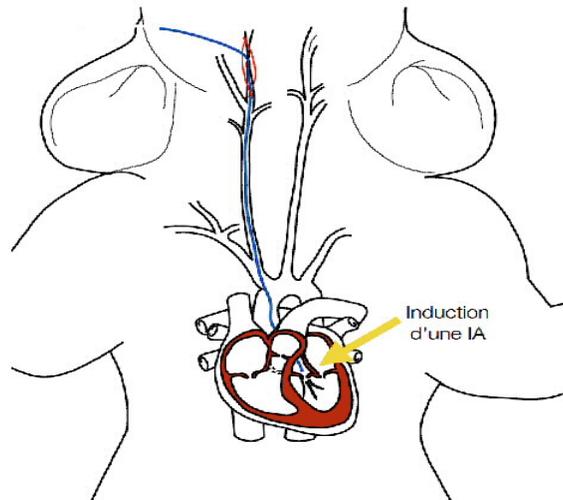


Figure 17:Création du modèle d'insuffisance aortique chez le rat ( courtoisie de Olivier Royer).

Suite à l'induction d'IA, le VG réussit à éjecter d'une façon efficace le volume de sang régurgité grâce à son hypercontractilité. Pendant cette phase, qu'on appelle aigue, le ventricule gauche n'a pas le temps de se dilater malgré ce reflux. Le début de la phase chronique a été fixé à deux semaines post-chirurgie, pendant lesquelles la fonction ventriculaire gauche revient à la normale et le VG développe une hypertrophie excentrique.

## **CHAPITRE 2 : HYPOTHESE ET OBJECTIFS**

## **Hypothèse**

Les valves exposées à une IA réactivent les voies de croissance embryonnaire pour augmenter leur taille.

## **Objectifs**

L'objectif général de notre travail est d'identifier certains mécanismes par lesquels la valve mitrale augmente sa taille en insuffisance aortique chronique compensée, cet état ayant été spécifiquement associé à une croissance valvulaire adéquate.

## **Objectifs spécifiques**

- 1) Confirmer l'absence d'IM fonctionnelle dans un modèle expérimental d'insuffisance aortique chez le rat.
- 2) Démontrer que la valve mitrale présente un agrandissement actif en insuffisance aortique, par prolifération cellulaire et augmentation de la matrice extracellulaire (par opposition à un étirement passif).
- 3) Mieux caractériser la séquence des événements et explorer les mécanismes par lesquels la valve mitrale augmente sa taille en IA chronique compensée.

## **CHAPITRE 3 : ARTICLE**

**Introduction.** L'insuffisance mitrale (IM) fonctionnelle est une complication fréquente et morbide des cardiopathies ischémiques et non ischémiques. Elle est causée par la dilatation du ventricule gauche (VG) avec rétraction secondaire des muscles papillaires empêchant la valve de se fermer normalement. Il a été récemment démontré que les feuillets mitraux peuvent s'agrandir pour compenser la dilatation du VG et prévenir l'IM dans certains cas. Des études de pathologie et d'imagerie ont identifié l'insuffisance aortique (IA) chronique comme une condition associée à de grandes valves mitrales, avec relativement peu d'IM malgré des VG très dilatés. Les mécanismes de cet élargissement compensateur de la valve sont peu compris et il n'est pas clair s'il s'agit d'une croissance active (potentiellement modifiable pharmacologiquement) ou d'un étirement passif des feuillets. Notre hypothèse est que l'agrandissement de la valve mitrale en IA est un phénomène actif avec réactivation des mécanismes de croissance embryonnaire.

**Méthodes.** Des rats ont été divisés en deux groupes égaux : IA par perforation de la valve aortique (n=58) et sham (n=53). Les animaux ont été sacrifiés à 3 temps spécifiques après la création du modèle (48h, 1 semaine et 3 mois). Des échocardiographies sériées ont évalué la sévérité de l'IA, la présence d'IM et les dimensions du VG. Les valves ont été prélevées pour analyse microscopique et moléculaire (épaisseur des feuillets, immunohistochimie et RT-PCR) afin de rechercher la présence de facteurs de croissance valvulaire. **Résultats.** La création de l'insuffisance aortique a entraîné une dilatation et une hypertrophie du VG. Malgré cette dilatation rapide du VG, aucun animal n'a développé de l'IM fonctionnelle. À l'échographie, le feuillet antérieur mitral était significativement plus long dans les groupes IA. Par microscopie, les feuillets étaient plus épais à 1 semaine et 3 mois. L'IA était associée à une surexpression de collagène, TGF- $\beta$ 1,  $\alpha$ -SMA (un marqueur de myofibroblastes) et de MMP-2 dans le tissu valvulaire dès la première semaine. Les valves exposées à l'IA étaient également positives pour TGF- $\beta$ 1, un promoteur de croissance valvulaire dans l'embryon. **Discussion.** Nos données suggèrent que l'agrandissement de la valve mitrale est un phénomène actif par prolifération cellulaire et production de matrice extracellulaire. Cette croissance débute rapidement après la création de l'insuffisance aortique et se développe en parallèle de la dilatation du VG. Une meilleure compréhension de cette adaptation pourrait permettre de

la stimuler dans les cas où l'agrandissement de la valve mitrale ne suffit pas à prévenir l'IM.

**Title: Early Activation of Growth Pathways in Mitral Leaflets Exposed to Aortic Regurgitation: Active Mechanism to Prevent Functional Mitral Regurgitation in the Dilated Ventricle**

**Ons Marsit**, Olivier Royer, Marie-Claude Drolet, Marie Arsenault, Jacques Couët and Jonathan Beaudoin

Groupe de Recherche en Valvulopathies, Centre de Recherche, Institut universitaire de cardiologie et de pneumologie de Québec, Université Laval, Québec, Canada.

Article en préparation

## ***Abstract***

**Background:** Mitral leaflet enlargement in patients with chronic aortic regurgitation (AR) has been recently identified as an adaptive mechanism to prevent functional mitral regurgitation (FMR) in dilated left ventricles (LV). The timing of these morphologic changes is not known, and it is not clear if leaflet expansion is the result of active growth vs. passive valve stretching. We hypothesized that pathways of growth are activated early in response to AR.

**Methods:** We used a rat model of AR (retrograde aortic perforation). AR was induced in 58 rats vs. 53 controls. Animals were euthanized at different time points after AR creation (48 hours, 1 week and 3 months). AR severity, FMR and LV dilatation were assessed by serial echocardiograms. Mitral valves were harvested for microscopic and molecular analyses to document reactivation of embryonic growth pathways.

**Results:** AR animals had increased LV dimension and mitral annulus size. No animal developed FMR. No change in leaflet length or thickness was seen at 48h, however anterior mitral leaflets were longer in AR animals at 1 week and 3 months. By microscopy, mitral leaflets in AR animals were thicker at 1 week and 3 months. Molecular changes were present early (48 hours and one week), with positive staining for different factors, especially for TGF- $\beta$ 1 suggesting active matrix remodeling. RT-PCR studies showed increased collagen, TGF- $\beta$ 1,  $\alpha$ -SMA and MMP-2 expressions in the leaflets at 48 hours and 1 week. At 3 months, these molecular changes were not seen.

**Conclusions:** This model of AR with progressive LV dilatation induces active expansion and thickening of the mitral leaflets. Growth signals are seen acutely but not at 3 months suggesting that most of this enlargement occurs early and in parallel of LV dilatation. Stimulation of this growth could represent a new strategy to prevent FMR in patients with dilated LV.

**Key words:** functional mitral regurgitation, chronic aortic regurgitation, mitral valve, LV dilatation, embryonic growth pathways.

Functional mitral regurgitation (FMR) is a common and morbid complication of ischemic and non-ischemic heart diseases, doubling heart failure and mortality<sup>(1-4)</sup>. It represents a growing public-health problem since its prevalence largely increases with aging<sup>(5)</sup>. Its mechanisms have been previously linked to left ventricle remodeling with secondary deformation of the otherwise normal mitral leaflets<sup>(6-14)</sup>: these geometric alterations contribute to leaflets malcoaptation and regurgitation. Recently, mitral valve enlargement has been identified as a compensatory mechanism potentially able to prevent FMR. Leaflet area increases in patients with heart failure: patients with the largest valves have no regurgitation, while those with insufficient adaptation relative to LV size have FMR<sup>(4, 9-11, 15)</sup>. Mechanisms underlying this adaptation and modifying factors are not well understood.

Chronic aortic regurgitation (AR) is a condition associated with often severely dilated LV but a surprisingly low incidence of FMR is found in the chronic compensated phase of the disease<sup>(16)</sup>. Necropsy and imaging data have shown significantly larger mitral leaflets in these patients, preserving normal proportions between leaflets and LV sizes<sup>(16, 17)</sup>. Adequate MV adaptation is occurring naturally in these patients, but biological factors associated with valve enlargement are not known. It is not clear if valve area increases slowly overtime with passive stretching or by active growth paralleling LV dilatation. We hypothesized that embryonic pathways of growth are reactivated in the leaflets exposed to AR, with related cellular and matrix remodeling. Our objectives were to document the presence and timing of growth signals in the mitral leaflets in animal models of acute and chronic AR.

## **Methods**

### **Animals**

72 male Wistar rats (250-300g) were divided in 2 groups: Sham-operated controls (n = 34) and AR by retrograde aortic perforation (n = 38). Animals were euthanized 1 week after AR creation. In order to identify the timing of the remodelling process, additional groups of AR and sham operated (n=9-10 / group) were euthanized at different time points after AR creation (48 hours and 3 months). At the end of the protocol, valves were quickly harvested and processed for further analysis. This protocol was approved by the Laval University Animal Protection Committee according to the recommendations of the Canadian Council on Laboratory Animal Care.

### **Aortic regurgitation model**

Severe AR was induced by retrograde puncture of the aortic valve leaflets as previously described <sup>(18, 19)</sup>. Sham-operated animals had their right carotid artery cannulated under anaesthesia without puncturing the aortic valve. The presence of FMR and LV dilatation were assessed by a follow-up echocardiography the day before sacrifice in the 1 week and 3 months groups. Animals were euthanized and mitral valves harvested.

### **Echocardiography**

A complete M-Mode, 2D and Doppler echocardiogram was performed on the animals under 2.5% isoflurane anesthesia using a transthoracic 12 MHz transducer connected to a Philips HD11XE ultrasound system (Philips Medical Imaging, Andover, MA) during surgery and sacrifices. LV dimensions were assessed by M-mode. Mitral annulus (mid-systole) and anterior mitral leaflet length (diastole, at full opening) were measured in the parasternal long axis view. Aortic stroke volume was computed and LV ejection fraction (EF) was calculated with the modified Quinones method <sup>(20)</sup>.

## **Immunohistochemistry**

Mitral valve tissues were fixed in 4% PBS-buffered formalin solution for paraffin embedding. Serial transversal sections of MV were obtained from the paraffin-embedded tissues and stained with Hematoxylin and eosin (H&E) for general morphology. Determination of activated valvular interstitial cells (VICs) phenotype was achieved with a recognized myofibroblast marker,  $\alpha$ -smooth muscle actin ( $\alpha$ -SMA). Others primary AB including Transforming growth factor  $\beta$ -1 (TGF- $\beta$ 1), TGF- $\beta$ 2, Matrix metalloproteinase 2 (MMP2) and collagen 1 (col1) were tested to assess extracellular matrix remodeling.

## **RT-PCR analysis**

MV samples were homogenized; total RNA was isolated using Trizol, purified and further quantified. DNase I (Invitrogen) treatment was performed. RNA was converted to cDNA using the QuantiTect Reverse Transcription kit (Qiagen, Valencia, CA). Quantitative real-time PCR (q-PCR) was performed with QuantiTect Primer Assays and SYBR Green PCR kit (Qiagen) on the Rotor-Gene thermal cycler (Corbett Life Science, Sydney, Australia). Primers for the following transcripts were obtained from Qiagen: TGF- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 2, MMP2,  $\alpha$ -SMA and collagen 1. The expression of hypoxanthine guanine phosphoribosyltransferase (hprt1) was used as a reference gene to normalize the results.

## **Statistical analysis**

Results are presented as mean  $\pm$  SEM. Unpaired Student t tests were used to compare results between groups (Sham, AR). Inter-group comparisons were done using two-way ANOVA. Data and statistical analysis were performed using Graph Pad Prism version 6.04 for Windows, Graph Pad Software (San Diego CA). Statistical significance was set at P values  $<0.05$ .

## Results

58 animals had AR creation, 9 are not included in the analysis because of death (always periprocedural) or incapacity to successfully create AR. All animals surviving the procedure remained alive until the end of protocol.

Results comparing echocardiographic parameters between the chronic AR group (n=39) after 1 week and 3 months of follow-up vs. normal control group (n=43) are showed in table 1. Cardiac weight increased significantly at 1 week ( $999 \pm 87$  vs  $1163 \pm 100$  mg,  $p=0,001$ ) and 3 months ( $1312 \pm 214$  vs  $1863 \pm 230$  mg,  $p=0,0001$ ) but not at 48 hours ( $920 \pm 68$  vs  $969 \pm 105$  mg,  $p=0,237$ ).

Echocardiography (for 1 week and 3 months groups): LV internal dimensions in systole (LVIDs) and diastole (LVIDd) were increased at 1 week and 3 months (Table 1). This combination of hypertrophy and chamber enlargement was associated with an increased total stroke volume. Mitral annulus was larger in AR animals at 1 week ( $4,5 \pm 0,4$  vs  $5 \pm 0,4$  mm,  $p=0,07$ ) and 3 months ( $4,7 \pm 0,4$  vs  $5,3 \pm 1,9$  mm,  $p=0,005$ ). LV ejection fraction (LVEF) and fractional shortening were slightly decreased in comparison to the control group. No animal with AR had FMR at follow-up. By echocardiography, anterior ML measured in mid-diastole was longer in AR animals compared with controls at 1 week and 3 months (Fig.1).

## Microscopic Data

By microscopy, mitral leaflets were significantly thicker in the AR group in comparison to the control group (Fig. 2). In AR rats, mitral leaflets were thicker at 1 week ( $274 \pm 33$  vs.  $139 \pm 56$  um,  $p=0.005$ ) and 3 months ( $281 \pm 61$  vs.  $117,7 \pm 37$  um,  $p=0.003$ ) but not at 48 hours ( $142 \pm 28$  vs.  $135 \pm 38$  um,  $p=0,774$ ).

## **Molecular Histopathology**

TGF- $\beta$ 1 and  $\alpha$ -SMA, a marker for activated valvular interstitial cells (VICs), staining was more apparent in AR group vs. sham animals 48 hours and 1 week after AR creation but absent at 3 months (Fig. 3). Collagen 1 and MMP-2 were increased in the AR group compared to the sham-operated group at 1 week (Fig. 4). TGF- $\beta$ 2 was not increased in AR leaflets.

## **Cell proliferation and Extracellular matrix (ECM) remodeling gene expression**

RT-PCR for TGF- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 2, collagen 1,  $\alpha$ -SMA and MMP-2 are shown in Fig. 5. TGF- $\beta$ 1 and TGF- $\beta$ 2 expressions were increased in AR at 48h and 1week.  $\alpha$ -SMA expression began to increase at 48h and was maximal at 1 week of follow-up. Collagen 1 and MMP-2 mRNA expressions were increased in AR animals at 1week. At 3 months, no molecular change was seen between groups.

## **Discussion**

In this rat model, significant LV dilatation and hypertrophy was observed at 1 week and 3 months, without the presence of FMR at any time point. This is consistent with clinical data of patients in chronic compensated AR: despite progressive and significant LV dilatation, this disease is characterized by a long asymptomatic phase. Surprisingly, Mitral leaflets were longer (by echocardiography) and thicker (by microscopy) already at one week. Leaflet enlargement was associated with cellular and matrix remodelling, supporting active growth rather than passive elongation.

Our work is consistent with previous studies indicating that cardiac valves maintain cell plasticity after embryonic development, with the potential to reactivate at least some embryonic pathways of valve growth. Mechanical stretch

by papillary muscle repositioning (over 2 months) in animal models is associated with an increase in both valve area and thickness with increased TGF- $\beta$  expression in the valve sub-endothelium and reactivation of EMT in which endothelial cells normally quiescent, express smooth muscle  $\alpha$ -SMA<sup>(21)</sup>. Adaptive leaflet growth has been reported using in vitro models<sup>(22)</sup>. This is a key discovery further supporting the hypothesis that cardiac valves are not passive flaps but rather seem capable of dynamic change of cell phenotype, cell proliferation and extracellular matrix remodeling in the adult state. In these models of pure mechanical stretch (without underlying cardiomyopathy) leaflet response is growth, allowing the valve to match LV and annulus dilatation and prevent FMR.

The current study explores for the first time the timing of valvular remodeling process and our results clearly demonstrate that valve adaptation occurs early. Molecular changes were increased at 48 hours and 1 week, but not at 3 months. This is an interesting observation indicating that, during the early phases of eccentric LVH, the MV undergo active remodelling resulting in larger valve size in chronic AR and the absence of FMR. Increase leaflet length and thickness is associated with TGF- $\beta$  activation.

TGF- $\beta$  is known to induce fibroblasts to differentiate into  $\alpha$ -SMA expressing myofibroblasts. TGF- $\beta$  presence in the valve could potentially be explained by local factors (mechanical stretch from LV enlargement, or increased local shear-stress secondary to AR regurgitant jet) or systemic humoral activation (renin angiotensin system in particular) associated with AR. Interestingly, TGF- $\beta$  is involved in the pathogenesis of mitral valve prolapse in Marfan syndrome, a disease associated with an abnormally large valve<sup>(23)</sup>.

Understanding the mechanisms of MV adaptation could lead to new therapeutic avenues. Pharmacological modification of leaflet biology to promote growth, prevent FMR would represent a major breakthrough in the treatment of this common valve disease. It has been shown that TGF- $\beta$  pathways influencing valve growth are susceptible to pharmacologic modification. For example, using an angiotensin receptor blocker as a TGF- $\beta$  antagonist has been shown to limit tissue growth in a Marfan mouse model<sup>(24)</sup>. Further studies, comparing valve

remodeling in normal and pathological states are required.

## **Study limitations**

The amount of valve tissue obtained in individual animal was low, requiring pooling multiple valves together for RT-PCR studies. Temporality of changes suggests early adaptation but the timing cannot be directly translated clinically. Longer AR evolution, with the eventual development of heart failure would be interesting in future studies.

## **Conclusions**

Mitral leaflets undergo active remodeling resulting in larger valve size in chronic AR. Growth signals are seen acutely but not at 3 months suggesting that most of this enlargement occurs early. Stimulation of this growth could represent new therapeutic avenues to prevent FMR.

## References

1. Feinberg MS, Schwammenthal E, Shlizerman L, Porter A, Hod H, Friemark D, et al. Prognostic significance of mild mitral regurgitation by color Doppler echocardiography in acute myocardial infarction. *The American journal of cardiology*. 2000;86(9):903-7.
2. Grigioni F, Enriquez-Sarano M, Zehr KJ, Bailey KR, Tajik AJ. Ischemic mitral regurgitation: long-term outcome and prognostic implications with quantitative Doppler assessment. *Circulation*. 2001;103(13):1759-64.
3. Lamas GA, Mitchell GF, Flaker GC, Smith SC, Gersh BJ, Basta L, et al. Clinical Significance of Mitral Regurgitation After Acute Myocardial Infarction. *Circulation*. 1997;96(3):827-33.
4. Picard MH, Davidoff R, Sleeper LA, Mendes LA, Thompson CR, Dzavik V, et al. Echocardiographic predictors of survival and response to early revascularization in cardiogenic shock. *Circulation*. 2003;107(2):279-84.
5. Nkomo VT, Gardin JM, Skelton TN, Gottdiener JS, Scott CG, Enriquez-Sarano M. Burden of valvular heart diseases: a population-based study. *Lancet (London, England)*. 2006;368(9540):1005-11.
6. Gorman RC, McCaughan JS, Ratcliffe MB, Gupta KB, Streicher JT, Ferrari VA, et al. Pathogenesis of acute ischemic mitral regurgitation in three dimensions. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*. 1995;109(4):684-93.
7. He S, Fontaine AA, Schwammenthal E, Yoganathan AP, Levine RA. Integrated mechanism for functional mitral regurgitation: leaflet restriction versus coapting force: in vitro studies. *Circulation*. 1997;96(6):1826-34.
8. Kaul S, Spotnitz WD, Glasheen WP, Touchstone DA. Mechanism of ischemic mitral regurgitation. An experimental evaluation. *Circulation*. 1991;84(5):2167-80.
9. Kono T, Sabbah HN, Rosman H, Alam M, Jafri S, Goldstein S. Left ventricular shape is the primary determinant of functional mitral regurgitation in heart failure. *Journal of the American College of Cardiology*. 1992;20(7):1594-8.
10. Llaneras MR, Nance ML, Streicher JT, Linden PL, Downing SW, Lima JA, et al. Pathogenesis of ischemic mitral insufficiency. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*. 1993;105(3):439-42; discussion 42-3.
11. Otsuji Y, Handschumacher MD, Liel-Cohen N, Tanabe H, Jiang L, Schwammenthal E, et al. Mechanism of ischemic mitral regurgitation with segmental left ventricular dysfunction: three-dimensional echocardiographic studies in models of acute and chronic progressive regurgitation. *Journal of the American College of Cardiology*. 2001;37(2):641-8.
12. Otsuji Y, Handschumacher MD, Schwammenthal E, Jiang L, Song JK, Guerrero JL, et al. Insights from three-dimensional echocardiography into the mechanism of functional mitral regurgitation: direct in vivo demonstration of altered leaflet tethering geometry. *Circulation*. 1997;96(6):1999-2008.

13. Yiu SF, Enriquez-Sarano M, Tribouilloy C, Seward JB, Tajik AJ. Determinants of the degree of functional mitral regurgitation in patients with systolic left ventricular dysfunction: A quantitative clinical study. *Circulation*. 2000;102(12):1400-6.
14. Komeda M, Glasson JR, Bolger AF, Daughters GT, 2nd, Maclsaac A, Oesterle SN, et al. Geometric determinants of ischemic mitral regurgitation. *Circulation*. 1997;96(9 Suppl):li-128-33.
15. Grayburn PA. New concepts in functional mitral regurgitation: it is not just a disease of the left ventricle. *Journal of the American College of Cardiology*. 2013;61(17):1817-9.
16. Beaudoin J, Handschumacher MD, Zeng X, Hung J, Morris EL, Levine RA, et al. Mitral valve enlargement in chronic aortic regurgitation as a compensatory mechanism to prevent functional mitral regurgitation in the dilated left ventricle. *Journal of the American College of Cardiology*. 2013;61(17):1809-16.
17. Mautner SL, Klues HG, Mautner GC, Proschan MA, Roberts WC, Maron BJ. Comparison of mitral valve dimensions in adults with valvular aortic stenosis, pure aortic regurgitation and hypertrophic cardiomyopathy. *The American journal of cardiology*. 1993;71(11):949-53.
18. Arsenault M, Plante E, Drolet MC, Couet J. Experimental aortic regurgitation in rats under echocardiographic guidance. *The Journal of heart valve disease*. 2002;11(1):128-34.
19. Plante E, Couet J, Gaudreau M, Dumas MP, Drolet MC, Arsenault M. Left ventricular response to sustained volume overload from chronic aortic valve regurgitation in rats. *Journal of cardiac failure*. 2003;9(2):128-40.
20. Quinones MA, Waggoner AD, Reduto LA, Nelson JG, Young JB, Winters WL, Jr., et al. A new, simplified and accurate method for determining ejection fraction with two-dimensional echocardiography. *Circulation*. 1981;64(4):744-53.
21. Dal-Bianco JP, Aikawa E, Bischoff J, Guerrero JL, Handschumacher MD, Sullivan S, et al. Active adaptation of the tethered mitral valve: insights into a compensatory mechanism for functional mitral regurgitation. *Circulation*. 2009;120(4):334-42.
22. Balachandran K, Alford PW, Wylie-Sears J, Goss JA, Grosberg A, Bischoff J, et al. Cyclic strain induces dual-mode endothelial-mesenchymal transformation of the cardiac valve. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2011;108(50):19943-8.
23. Ng CM, Cheng A, Myers LA, Martinez-Murillo F, Jie C, Bedja D, et al. TGF- $\beta$ -dependent pathogenesis of mitral valve prolapse in a mouse model of Marfan syndrome. *Journal of Clinical Investigation*. 2004;114(11):1586-92.
24. Habashi JP, Judge DP, Holm TM, Cohn RD, Loeys BL, Cooper TK, et al. Losartan, an AT1 antagonist, prevents aortic aneurysm in a mouse model of Marfan syndrome. *Science (New York, NY)*. 2006;312(5770):117-21.

## Figure legends

### Figure 1:

Anterior ML length in chronic aortic regurgitation (left) and normal control (right) animal during mid-diastole. Anterior mitral leaflets were longer in AR animals at 1 week and 3 months.

### Figure 2:

Mitral leaflet thickness at 3 time points. Mitral leaflets in AR animals were thicker at 1 week ( $172\pm 98$  vs.  $98\pm 41\mu\text{m}$ ,  $p=0.01$ ) and 3 months ( $234\pm 67$  vs.  $72\pm 18$   $\mu\text{m}$ ,  $p=0.008$ ).

### Figure 3:

Staining for the transforming growth factor TGF- $\beta$ 1 and staining for smooth muscle  $\alpha$ -actin  $\alpha$ -SMA are more apparent in AR valve at 48 hours and 1 week but not after 3 months. Left panels: control MV showing no staining for TGF- $\beta$ 1 and  $\alpha$ -SMA. Right panels: staining for TGF- $\beta$ 1 and  $\alpha$ -SMA of a AR MV after 48h, 1 week and 3 months of Follow-Up. Abbreviations:  $\alpha$ -SMA, smooth muscle  $\alpha$ -actin; TGF- $\beta$ 1, transforming growth factor beta ; AR, aortic regurgitation ; H, hours ; W, week ; M, months.

### Figure 4:

IHC for Col 1 and MMP-2 in MV after 1 week of Follow-Up vs control valve. Col 1 and MMP-2, staining was more apparent in AR valve. Abbreviations: Col1, collagen 1; MMP-2, matrix metalloproteinase-2; AR, aortic regurgitation; H, hours.

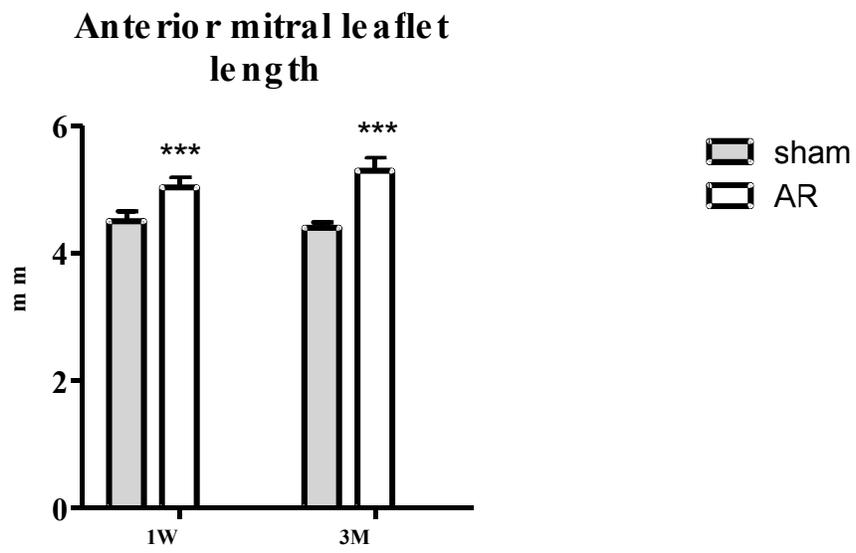
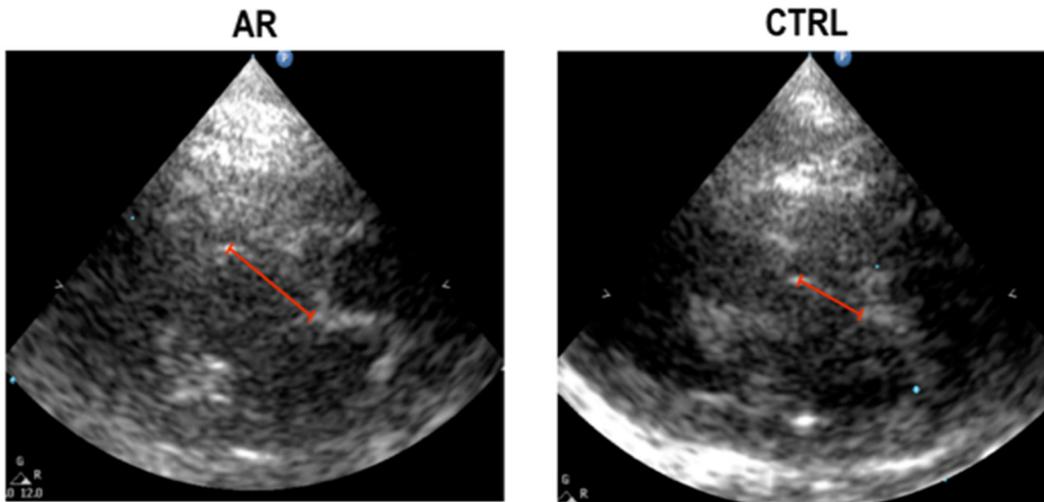
### Figure 5:

mRNA levels in mitral tissue (RT-PCR). Genes related to cell proliferation and extracellular matrix remodeling in control rats vs. AR: 48 hours ( $n=4/\text{gr}$ ), 1 week ( $n=23-24/\text{gr}$ ) and 3 months ( $n=4/\text{gr}$ ). Results are reported in arbitrary units

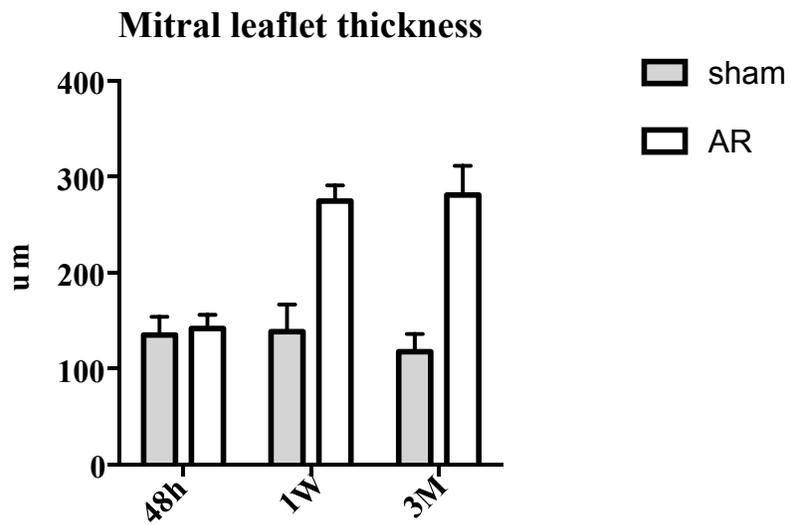
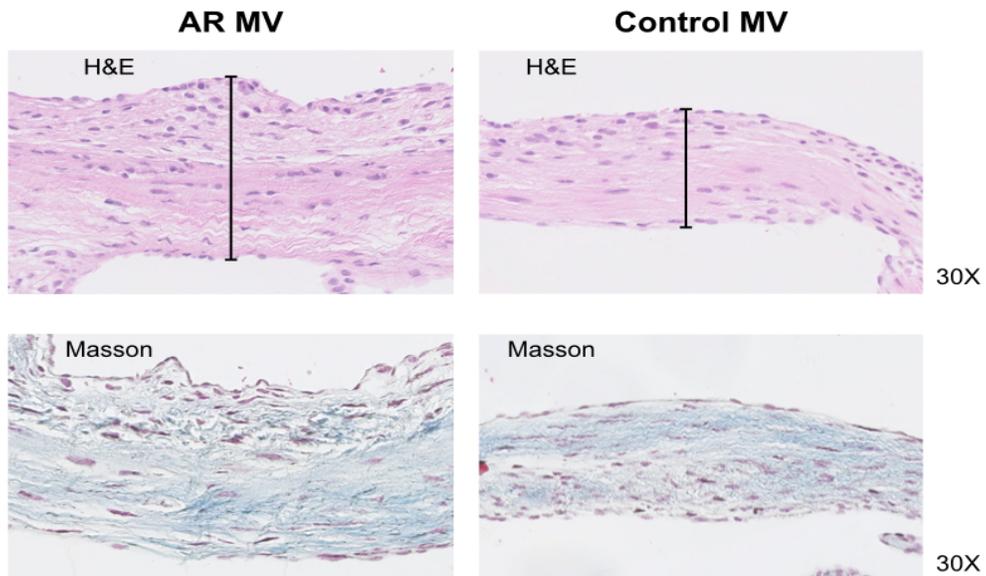
as mean  $\pm$  SEM. Untreated sham (sham operated animals) group mRNA levels were normalized to 1. T-tests statistical analysis results are displayed below each graph. Col1: collagen 1, TGF $\beta$ 1-2 : transforming growth factor; MMP-2: matrix metalloprotease 2 and  $\alpha$ -SMA : alpha smooth muscle actin .

# Figures

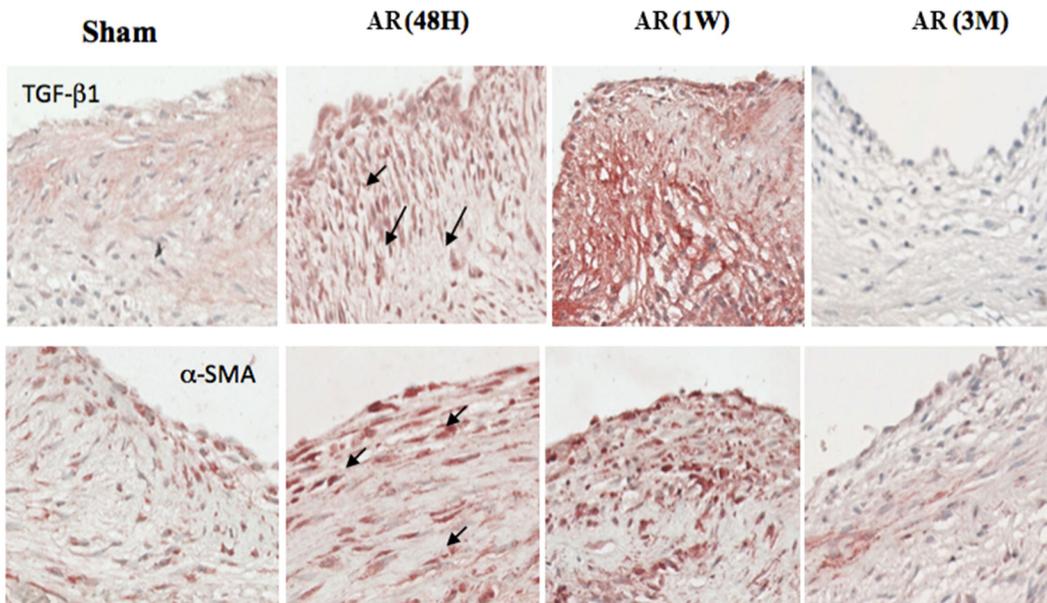
Figure 1:



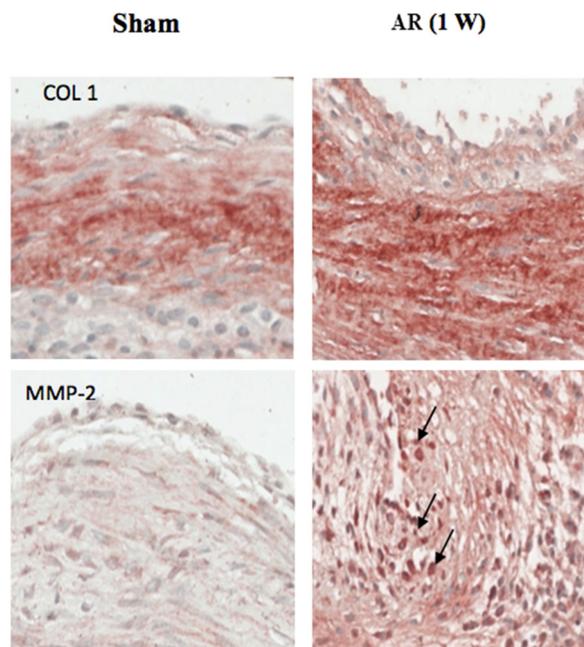
**Figure 2:**



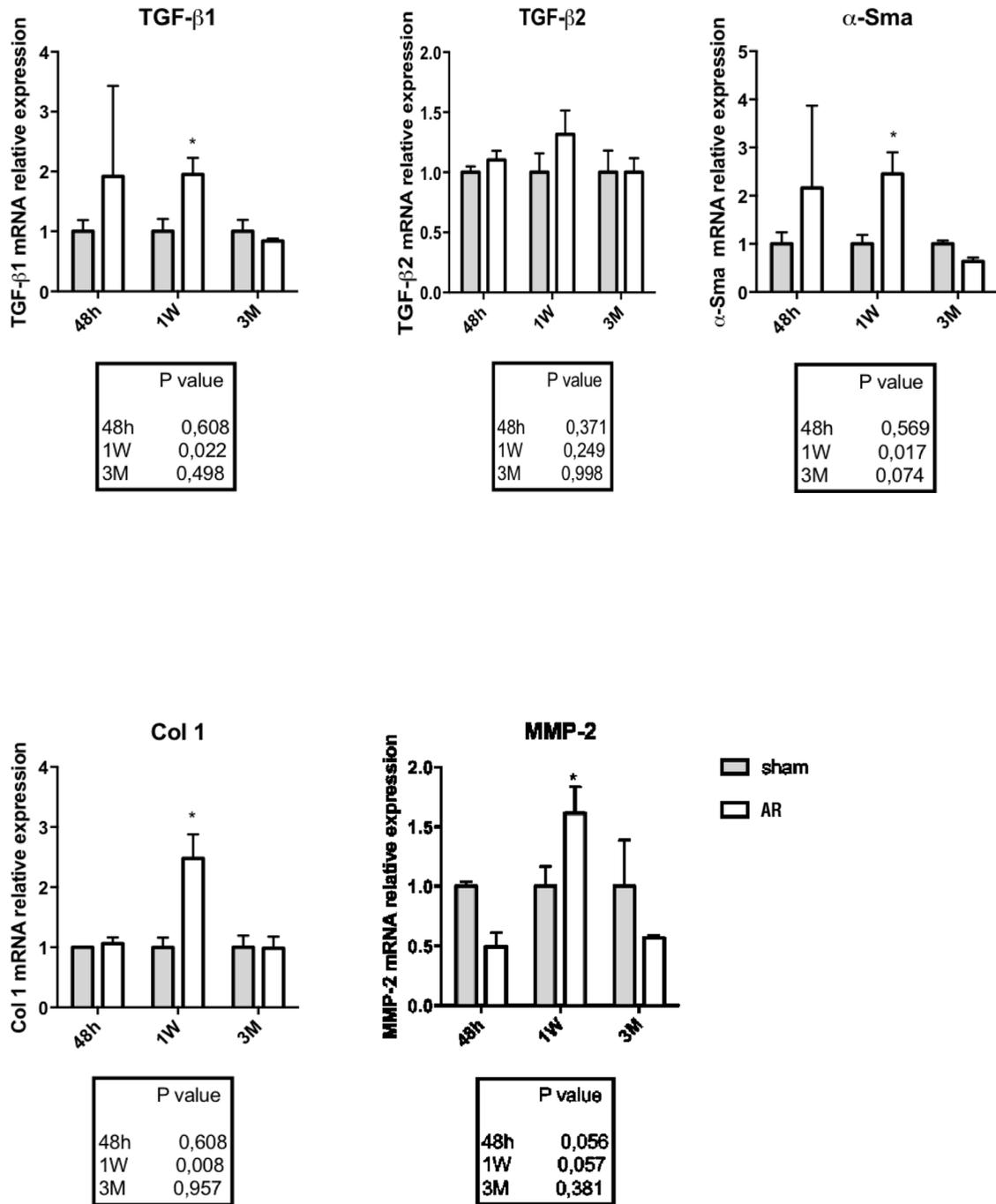
**Figure 3:**



**Figure 4:**



**Figure 5:**



## Table

**Table 1: Echocardiographic data for controls and AR animals at 1 week and 3 months.**

	Ctrl (1W)	AR (1W)	Ctrl (3M)	AR (3M)
<b>Body weight, g</b>	369.1 ± 18	352.9 ± 15	588 ± 75	598 ± 40
<b>Cardiac weight, mg</b>	999.2 ± 87	1163.2 ± 100*	1312 ± 214	1863 ± 230*
<b>Stroke volume, ml</b>	0.36 ± 0.03	0.45 ± 0.08*	0.26 ± 0.04	0.30 ± 0.03*
<b>LVIDd, cm</b>	0.7 ± 0.025	0.9 ± 0.05*	0.9 ± 0.06	1.1 ± 0.08*
<b>LVIDs, cm</b>	0.4 ± 0.04	0.5 ± 0.07*	0.4 ± 0.07	0.6 ± 0.05*
<b>Mitral annulus, mm</b>	4.5 ± 0.4	5 ± 0.4	4.7 ± 0.4	5.3 ± 1.9*
<b>Anterior mitral leaflet length, mm</b>	4.5 ± 0.5	5 ± 0.5*	4.4 ± 0.3	5.2 ± 1.9*
<b>LVEF, %</b>	68 ± 6	65.5 ± 7	75 ± 7	68 ± 4*

AR: aortic regurgitation. LV internal dimensions in systole (LVIDs) and diastole (LVIDd), LV ejection fraction (LVEF). AR animals had increased LV dimension. All results are expressed as mean ± SEM.

## Discussion

La régurgitation aortique chronique compensée résulte en une surcharge de volume qui entraîne le développement d'une hypertrophie et une dilatation ventriculaire gauche. Cependant, malgré des ventricules très dilatés, l'insuffisance mitrale fonctionnelle est relativement absente à ce stade compensé de la maladie. Des études d'imageries 3D ont démontré que la valve mitrale s'agrandit en IA, pour prévenir l'IMF.

L'objectif principal de nos travaux de recherche était d'étudier les mécanismes de croissance valvulaire et le timing du processus de remodelage dans un modèle animal. Tout d'abord, un objectif préliminaire était de valider que le modèle d'insuffisance aortique chez le rat représente bien ce qui est observé chez l'humain, et donc de démontrer l'absence d'IM fonctionnelle.

Dans ce modèle, les VG de nos rats IA se sont dilatés rapidement, dès la première semaine et de façon accentuée à 3 mois. L'anneau mitral était également dilaté. La fonction systolique était préservée comme dans les phases chroniques compensées chez l'humain. Malgré la dilatation importante du VG et de l'anneau mitral suite à une surcharge volumique, aucun de nos animaux n'a développé de l'IMF. Parallèlement à la dilatation des cavités gauches, la longueur des feuillets à l'échocardiographie a augmenté ; ces trouvailles sont donc similaires à ce qui est vu chez les humains souffrants d'IA.

Notre deuxième objectif visait à démontrer que la valve mitrale présente un agrandissement actif en insuffisance aortique, par prolifération cellulaire et augmentation de la matrice extracellulaire, par opposition à un étirement passif. Nous avons observé par microscopie une importante augmentation de l'épaisseur des feuillets mitraux chez les rats une semaine après la création d'IA. Nos résultats démontrent une élévation de l'expression génique de quelques facteurs associés au développement valvulaire dans l'embryon tels que le TGF $\beta$ 1, col 1,  $\alpha$ -SMA et MMP-2. La surexpression de ces facteurs est

probablement le reflet d'une réactivation des voies de croissance embryonnaire. Un signal plus important pour ces facteurs a été observé par immunohistochimie.

Notre troisième objectif visait à identifier le timing du processus de remodelage et d'adaptation valvulaire. De façon surprenante, nous avons observé des changements biologiques rapides qui surviennent au cours de la première semaine suite à l'induction de l'IA, et qui se stabilisent à 3 mois. Ces trouvailles fournissent une explication des changements morphologiques observés tôt après la création d'IA, et qui sont probablement responsables de l'absence d'IMF malgré des VG très dilatés.

Ces résultats sont compatibles avec d'autres études réalisées qui ont démontré une réactivation des voies de croissance embryonnaire dans le tissu valvulaire chez un modèle animal de stress mécanique <sup>(62)</sup>. Cependant, ces modèles expérimentaux ne représentaient pas une entité pathologique en soit, et il n'a pas été démontré à quel moment les changements biologiques surviennent.

Bien que nous commençons à identifier les mécanismes de croissance valvulaire, les facteurs limitants l'adaptation valvulaire dans les cardiopathies ischémiques et non ischémiques (et à la limite dans les stades avancés de l'IA) sont encore inconnus. Des études suggèrent que des changements fibrotiques survenant dans le tissu valvulaire peuvent mener à l'IMF <sup>(103)</sup>. Une prochaine étape de ce travail sera de comparer le remodelage valvulaire mitral en IMF (cardiopathie ischémique par exemple) à celui vu en IA.

## **Limitations de l'étude**

Notre projet comporte quelques limitations. La taille de l'échantillon est réduite, les valves mitrales de rats sont trop petites, nous avons dû les combiner (3

valves par tube) pour effectuer la RT-PCR. Chaque spécimen de valve permet un nombre limité d'expériences.

Certaines expériences auraient pu être intéressantes à réaliser comme le western blot qui aurait permis de quantifier les protéines. Également, nous n'avons pas pu évaluer certains facteurs associés à la croissance valvulaire dans l'embryon, tels que les BMP, NOTCH1, etc. La physiologie des rats est légèrement différente des humains et le temps de remodelage valvulaire observé chez le rat ne reflète pas la réalité clinique. Plusieurs paramètres géométriques 3D sont importants dans l'IMF; cependant, ils ne sont pas évaluable dans un modèle de petits animaux.

Rapport-Gratuit.com

## **Conclusion et perspectives**

Le tissu valvulaire mitral présente des changements dès les premiers jours après la création d'une insuffisance aortique. Ceci suggère que la valve mitrale s'adapte activement en IA, par prolifération et augmentation de la matrice extracellulaire (par opposition à un étirement passif), une croissance qui pourrait être expliquée par la réactivation des voies de croissance embryonnaire suite à une IA.

### **Perspectives pour des études futures**

- Selon les résultats obtenus dans cette étude, un protocole de plus longue période (6-12 mois) peut être réalisé pour vérifier si la croissance valvulaire observée persiste après une longue durée de la maladie.
- Un plus gros modèle animal (modèle mouton) ayant une physiologie plus proche de l'humain est utile pour l'étude de plusieurs autres modèles expérimentaux comme l'infarctus de myocarde et traitements pharmacologiques ciblant des voies importantes qui peuvent être impliqués dans l'adaptation valvulaire.
- Des expérimentations additionnelles doivent être réalisées dans le but de comprendre pourquoi la valve mitrale est capable de s'adapter en IA et non pas suite à un infarctus de myocarde. Pour cela, nous proposons la création d'un modèle d'infarctus de myocarde chez le mouton et nous allons comparer les changements moléculaires dans les deux cas.

- Ultimentement, nous allons cibler pharmacologiquement des voies de signalisation afin de prévenir ou stimuler la croissance valvulaire et favoriser une meilleure adaptation valvulaire.

# ***Références bibliographiques***

1. Filipoiu FM, SpringerLink. Atlas of heart anatomy and development.
2. laizzo PA. Handbook of cardiac anatomy, physiology, and devices. Totowa, N.J: Humana Press; 2005.
3. AlchÈ E-Pd. Comprendre la physiologie cardiovasculaire. 3e Èd ed. Paris: MÈdecine-Sciences Flammarion; 2008. xii, 221 p p.
4. Hinton RB, Yutzey KE. Heart valve structure and function in development and disease. Annual review of physiology. 2011;73:29-46.
5. laizzo PA. Heart valves from design to clinical implantation. New York: Springer; 2013.
6. Fedak PWM, McCarthy PM, Bonow RO. Evolving Concepts and Technologies in Mitral Valve Repair. Circulation. 2008;117(7):963-74.
7. Gross L, Kugel MA. Topographic Anatomy and Histology of the Valves in the Human Heart. The American Journal of Pathology. 1931;7(5):445-74.7.
8. Latif N, Sarathchandra P, Taylor PM, Antoniow J, Yacoub MH. Localization and pattern of expression of extracellular matrix components in human heart valves. The Journal of heart valve disease. 2005;14(2):218-27.
9. Misfeld M, Sievers HH. Heart valve macro- and microstructure. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences. 2007;362(1484):1421-36.
10. Kuhnel W. [On the ultrastructure of heart valves]. Zeitschrift fur Rheumaforschung. 1966;25(1):10-8.
11. Schoen FJ. Aortic valve structure-function correlations: role of elastic fibers no longer a stretch of the imagination. The Journal of heart valve disease. 1997;6(1):1-6.
12. Schoen FJ. Evolving concepts of cardiac valve dynamics: the continuum of development, functional structure, pathobiology, and tissue engineering. Circulation. 2008;118(18):1864-80.
13. Mulholland DL, Gotlieb AI. Cell biology of valvular interstitial cells. The Canadian journal of cardiology. 1996;12(3):231-6.
14. Sade LE. [Functional mitral regurgitation]. Anadolu kardiyoloji dergisi : AKD = the Anatolian journal of cardiology. 2009;9 Suppl 1:3-9.
15. Perloff JK, Roberts WC. The mitral apparatus. Functional anatomy of mitral regurgitation. Circulation. 1972;46(2):227-39.
16. Otto CM. Clinical practice. Evaluation and management of chronic mitral regurgitation. The New England journal of medicine. 2001;345(10):740-6.
17. Avierinos JF. [Prognosis of organic mitral regurgitation and implications for surgical indications]. Annales de cardiologie et d'angiologie. 2003;52(2):98-103.
18. Carpentier A. Cardiac valve surgery--the "French correction". The Journal of thoracic and cardiovascular surgery. 1983;86(3):323-37.

19. Nkomo VT, Gardin JM, Skelton TN, Gottdiener JS, Scott CG, Enriquez-Sarano M. Burden of valvular heart diseases: a population-based study. *Lancet (London, England)*. 2006;368(9540):1005-11.
20. Bursi F, Enriquez-Sarano M, Jacobsen SJ, Roger VL. Mitral regurgitation after myocardial infarction: a review. *The American journal of medicine*. 2006;119(2):103-12.
21. Feinberg MS, Schwammenthal E, Shlizerman L, Porter A, Hod H, Friemark D, et al. Prognostic significance of mild mitral regurgitation by color Doppler echocardiography in acute myocardial infarction. *The American journal of cardiology*. 2000;86(9):903-7.
22. Levine RA, Schwammenthal E. Ischemic mitral regurgitation on the threshold of a solution: from paradoxes to unifying concepts. *Circulation*. 2005;112(5):745-58.
23. Picard MH, Davidoff R, Sleeper LA, Mendes LA, Thompson CR, Dzavik V, et al. Echocardiographic predictors of survival and response to early revascularization in cardiogenic shock. *Circulation*. 2003;107(2):279-84.
24. Grigioni F, Enriquez-Sarano M, Zehr KJ, Bailey KR, Tajik AJ. Ischemic mitral regurgitation: long-term outcome and prognostic implications with quantitative Doppler assessment. *Circulation*. 2001;103(13):1759-64.
25. Hickey MS, Smith LR, Muhlbaier LH, Harrell FE, Jr., Reves JG, Hinohara T, et al. Current prognosis of ischemic mitral regurgitation. Implications for future management. *Circulation*. 1988;78(3 Pt 2):I51-9.
26. Lamas GA, Mitchell GF, Flaker GC, Smith SC, Jr., Gersh BJ, Basta L, et al. Clinical significance of mitral regurgitation after acute myocardial infarction. Survival and Ventricular Enlargement Investigators. *Circulation*. 1997;96(3):827-33.
27. Grossi EA, Crooke GA, DiGiorgi PL, Schwartz CF, Jorde U, Applebaum RM, et al. Impact of Moderate Functional Mitral Insufficiency in Patients Undergoing Surgical Revascularization. *Circulation*. 2006;114(1 suppl):I-573-I-6.
28. Nishimura RA, Otto CM, Bonow RO, Carabello BA, Erwin JP, Guyton RA, et al. 2014 AHA/ACC Guideline for the Management of Patients With Valvular Heart Disease: Executive Summary: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation*. 2014.
29. Keren G, Bier A, Strom JA, Laniado S, Sonnenblick EH, LeJemtel TH. Dynamics of mitral regurgitation during nitroglycerin therapy: a Doppler echocardiographic study. *American heart journal*. 1986;112(3):517-25.
30. Keren G, Laniado S, Sonnenblick EH, Lejemtel TH. Dynamics of functional mitral regurgitation during dobutamine therapy in patients with severe congestive heart failure: a Doppler echocardiographic study. *American heart journal*. 1989;118(4):748-54.
31. Hamilton MA, Stevenson LW, Child JS, Moriguchi JD, Waiden J, Woo M. Sustained reduction in valvular regurgitation and atrial volumes with tailored vasodilator therapy in advanced congestive heart failure secondary to dilated (ischemic or idiopathic) cardiomyopathy. *American Journal of Cardiology*. 67(4):259-63.
32. Levine AB, Muller C, Levine TB. Effects of high-dose lisinopril-isosorbide dinitrate on severe mitral regurgitation and heart failure remodeling. *The American journal of cardiology*. 1998;82(10):1299-301, a10.
33. Rosario LB, Stevenson LW, Solomon SD, Lee RT, Reimold SC. The mechanism of decrease in dynamic mitral regurgitation during heart failure treatment: importance of

- reduction in the regurgitant orifice size. *Journal of the American College of Cardiology*. 1998;32(7):1819-24.
34. Bach DS, Bolling SF. Early improvement in congestive heart failure after correction of secondary mitral regurgitation in end-stage cardiomyopathy. *American heart journal*. 1995;129(6):1165-70.
35. Bolling SF, Deeb GM, Brunsting LA, Bach DS. Early outcome of mitral valve reconstruction in patients with end-stage cardiomyopathy. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*. 1995;109(4):676-82; discussion 82-3.
36. Bolling SF, Pagani FD, Deeb GM, Bach DS. Intermediate-term outcome of mitral reconstruction in cardiomyopathy. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*. 1998;115(2):381-6; discussion 7-8.
37. Mihaljevic T, Lam BK, Rajeswaran J, Takagaki M, Lauer MS, Gillinov AM, et al. Impact of mitral valve annuloplasty combined with revascularization in patients with functional ischemic mitral regurgitation. *Journal of the American College of Cardiology*. 2007;49(22):2191-201.
38. Michler RE, Smith PK, Parides MK, Ailawadi G, Thourani V, Moskowitz AJ, et al. Two-Year Outcomes of Surgical Treatment of Moderate Ischemic Mitral Regurgitation. *New England Journal of Medicine*. 0(0):null.
39. Acker MA, Parides MK, Perrault LP, Moskowitz AJ, Gelijns AC, Voisine P, et al. Mitral-Valve Repair versus Replacement for Severe Ischemic Mitral Regurgitation. *New England Journal of Medicine*. 2014;370(1):23-32.
40. Chrissoheris M, Halapas A, Nikolaou I, Boumboulis N, Pattakos S, Spargias K. The Abbott Vascular MitraClip: Patient Selection and How to Obtain the Best Outcomes. *Hellenic journal of cardiology : HJC = Hellenike kardiologike epitheorese*. 2015;56 Suppl A:31-8.
41. De Bonis M, Lapenna E, Buzzatti N, La Canna G, Denti P, Pappalardo F, et al. Optimal results immediately after MitraClip therapy or surgical edge-to-edge repair for functional mitral regurgitation: are they really stable at 4 years? *European journal of cardio-thoracic surgery : official journal of the European Association for Cardio-thoracic Surgery*. 2016.
42. N P DePasquale a, Burch GE. Papillary Muscle Dysfunction in Coronary (Ischemic) Heart Disease. *Annual Review of Medicine*. 1971;22(1):327-40.
43. Burch GE, De Pasquale NP, Phillips JH. Clinical manifestations of papillary muscle dysfunction. *Archives of internal medicine*. 1963;112:112-7.
44. Phillips JH, Burch GE, Depasquale NP. THE SYNDROME OF PAPILLARY MUSCLE DYSFUNCTION. ITS CLINICAL RECOGNITION. *Annals of internal medicine*. 1963;59:508-20.
45. Kaul S, Spotnitz WD, Glasheen WP, Touchstone DA. Mechanism of ischemic mitral regurgitation. An experimental evaluation. *Circulation*. 1991;84(5):2167-80.
46. Dent JM, Spotnitz WD, Nolan SP, Jayaweera AR, Glasheen WP, Kaul S. Mechanism of mitral leaflet excursion. *The American journal of physiology*. 1995;269(6 Pt 2):H2100-8.

47. He S, Fontaine AA, Schwammenthal E, Yoganathan AP, Levine RA. Integrated mechanism for functional mitral regurgitation: leaflet restriction versus coapting force: in vitro studies. *Circulation*. 1997;96(6):1826-34.
48. Yiu SF, Enriquez-Sarano M, Tribouilloy C, Seward JB, Tajik AJ. Determinants of the degree of functional mitral regurgitation in patients with systolic left ventricular dysfunction: A quantitative clinical study. *Circulation*. 2000;102(12):1400-6.
49. Gorman JH, 3rd, Jackson BM, Enomoto Y, Gorman RC. The effect of regional ischemia on mitral valve annular saddle shape. *The Annals of thoracic surgery*. 2004;77(2):544-8.
50. Godley RW, Wann LS, Rogers EW, Feigenbaum H, Weyman AE. Incomplete mitral leaflet closure in patients with papillary muscle dysfunction. *Circulation*. 1981;63(3):565-71.
51. Gorman RC, McCaughan JS, Ratcliffe MB, Gupta KB, Streicher JT, Ferrari VA, et al. Pathogenesis of acute ischemic mitral regurgitation in three dimensions. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*. 1995;109(4):684-93.
52. Kono T, Sabbah HN, Rosman H, Alam M, Jafri S, Goldstein S. Left ventricular shape is the primary determinant of functional mitral regurgitation in heart failure. *Journal of the American College of Cardiology*. 1992;20(7):1594-8.
53. Llaneras MR, Nance ML, Streicher JT, Linden PL, Downing SW, Lima JA, et al. Pathogenesis of ischemic mitral insufficiency. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*. 1993;105(3):439-42; discussion 42-3.
54. Otsuji Y, Handschumacher MD, Liel-Cohen N, Tanabe H, Jiang L, Schwammenthal E, et al. Mechanism of ischemic mitral regurgitation with segmental left ventricular dysfunction: three-dimensional echocardiographic studies in models of acute and chronic progressive regurgitation. *Journal of the American College of Cardiology*. 2001;37(2):641-8.
55. Otsuji Y, Handschumacher MD, Schwammenthal E, Jiang L, Song JK, Guerrero JL, et al. Insights from three-dimensional echocardiography into the mechanism of functional mitral regurgitation: direct in vivo demonstration of altered leaflet tethering geometry. *Circulation*. 1997;96(6):1999-2008.
56. Komeda M, Glasson JR, Bolger AF, Daughters GT, 2nd, Maclsaac A, Oesterle SN, et al. Geometric determinants of ischemic mitral regurgitation. *Circulation*. 1997;96(9 Suppl):li-128-33.
57. He S, Fontaine AA, Schwammenthal E, Yoganathan AP, Levine RA. Integrated Mechanism for Functional Mitral Regurgitation: Leaflet Restriction Versus Coapting Force: In Vitro Studies. *Circulation*. 1997;96(6):1826-34.
58. Beaudoin J, Thai WE, Wai B, Handschumacher MD, Levine RA, Truong QA. Assessment of mitral valve adaptation with gated cardiac computed tomography: validation with three-dimensional echocardiography and mechanistic insight to functional mitral regurgitation. *Circulation Cardiovascular imaging*. 2013;6(5):784-9.
59. Chaput M, Handschumacher MD, Tournoux F, Hua L, Guerrero JL, Vlahakes GJ, et al. Mitral leaflet adaptation to ventricular remodeling: occurrence and adequacy in patients with functional mitral regurgitation. *Circulation*. 2008;118(8):845-52.

60. Chaput M, Handschumacher MD, Guerrero JL, Holmvang G, Dal-Bianco JP, Sullivan S, et al. Mitral leaflet adaptation to ventricular remodeling: prospective changes in a model of ischemic mitral regurgitation. *Circulation*. 2009;120(11 Suppl):S99-103.
61. Grayburn PA. New concepts in functional mitral regurgitation: it is not just a disease of the left ventricle. *Journal of the American College of Cardiology*. 2013;61(17):1817-9.
62. Dal-Bianco JP, Aikawa E, Bischoff J, Guerrero JL, Handschumacher MD, Sullivan S, et al. Active adaptation of the tethered mitral valve: insights into a compensatory mechanism for functional mitral regurgitation. *Circulation*. 2009;120(4):334-42.
63. Beaudoin J, Handschumacher MD, Zeng X, Hung J, Morris EL, Levine RA, et al. Mitral Valve Enlargement in Chronic Aortic Regurgitation as a Compensatory Mechanism to Prevent Functional Mitral Regurgitation in the Dilated Left Ventricle. *Journal of the American College of Cardiology*. 2013;61(17):1809-16.
64. Mautner SL, Klues HG, Mautner GC, Proschan MA, Roberts WC, Maron BJ. Comparison of mitral valve dimensions in adults with valvular aortic stenosis, pure aortic regurgitation and hypertrophic cardiomyopathy. *The American journal of cardiology*. 1993;71(11):949-53.
65. Anderson RH, Webb S, Brown NA, Lamers W, Moorman A. Development of the heart: (2) Septation of the atriums and ventricles. *Heart (British Cardiac Society)*. 2003;89(8):949-58.
66. Markwald RR, Fitzharris TP, Manasek FJ. Structural development of endocardial cushions. *The American journal of anatomy*. 1977;148(1):85-119.
67. Wessels A, Markman MW, Vermeulen JL, Anderson RH, Moorman AF, Lamers WH. The development of the atrioventricular junction in the human heart. *Circulation research*. 1996;78(1):110-7.
68. Armstrong EJ, Bischoff J. Heart valve development: endothelial cell signaling and differentiation. *Circulation research*. 2004;95(5):459-70.
69. Nakajima Y, Yamagishi T, Hokari S, Nakamura H. Mechanisms involved in valvuloseptal endocardial cushion formation in early cardiogenesis: roles of transforming growth factor (TGF)-beta and bone morphogenetic protein (BMP). *The Anatomical record*. 2000;258(2):119-27.
70. Sugi Y, Yamamura H, Okagawa H, Markwald RR. Bone morphogenetic protein-2 can mediate myocardial regulation of atrioventricular cushion mesenchymal cell formation in mice. *Developmental biology*. 2004;269(2):505-18.
71. Inai K, Norris RA, Hoffman S, Markwald RR, Sugi Y. BMP-2 induces cell migration and periostin expression during atrioventricular valvulogenesis. *Developmental biology*. 2008;315(2):383-96.
72. Luna-Zurita L, Prados B, Grego-Bessa J, Luxan G, del Monte G, Benguria A, et al. Integration of a Notch-dependent mesenchymal gene program and Bmp2-driven cell invasiveness regulates murine cardiac valve formation. *The Journal of clinical investigation*. 2010;120(10):3493-507.
73. Timmerman LA, Grego-Bessa J, Raya A, Bertran E, Perez-Pomares JM, Diez J, et al. Notch promotes epithelial-mesenchymal transition during cardiac development and oncogenic transformation. *Genes & development*. 2004;18(1):99-115.

74. Westin J, Lardelli M. Three novel Notch genes in zebrafish: implications for vertebrate Notch gene evolution and function. *Development genes and evolution*. 1997;207(1):51-63.
75. van Wijk B, Moorman AF, van den Hoff MJ. Role of bone morphogenetic proteins in cardiac differentiation. *Cardiovascular research*. 2007;74(2):244-55.
76. Somi S, Buffing AA, Moorman AF, Van Den Hoff MJ. Dynamic patterns of expression of BMP isoforms 2, 4, 5, 6, and 7 during chicken heart development. *The anatomical record Part A, Discoveries in molecular, cellular, and evolutionary biology*. 2004;279(1):636-51.
77. Brown CB, Boyer AS, Runyan RB, Barnett JV. Antibodies to the Type II TGFbeta receptor block cell activation and migration during atrioventricular cushion transformation in the heart. *Developmental biology*. 1996;174(2):248-57.
78. Combs MD, Yutzy KE. Heart valve development: regulatory networks in development and disease. *Circulation research*. 2009;105(5):408-21.
79. Sugi Y, Ito N, Szebenyi G, Myers K, Fallon JF, Mikawa T, et al. Fibroblast growth factor (FGF)-4 can induce proliferation of cardiac cushion mesenchymal cells during early valve leaflet formation. *Developmental biology*. 2003;258(2):252-63.
80. Puceat M. Embryological origin of the endocardium and derived valve progenitor cells: from developmental biology to stem cell-based valve repair. *Biochimica et biophysica acta*. 2013;1833(4):917-22.
81. Hinton RB, Jr., Lincoln J, Deutsch GH, Osinska H, Manning PB, Benson DW, et al. Extracellular matrix remodeling and organization in developing and diseased aortic valves. *Circulation research*. 2006;98(11):1431-8.
82. Martinsen BJ. Reference guide to the stages of chick heart embryology. *Developmental dynamics : an official publication of the American Association of Anatomists*. 2005;233(4):1217-37.
83. Norris RA, Moreno-Rodriguez RA, Sugi Y, Hoffman S, Amos J, Hart MM, et al. Periostin regulates atrioventricular valve maturation. *Developmental biology*. 2008;316(2):200-13.
84. Horiuchi K, Amizuka N, Takeshita S, Takamatsu H, Katsuura M, Ozawa H, et al. Identification and characterization of a novel protein, periostin, with restricted expression to periosteum and periodontal ligament and increased expression by transforming growth factor beta. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 1999;14(7):1239-49.
85. Paruchuri S, Yang JH, Aikawa E, Melero-Martin JM, Khan ZA, Loukogeorgakis S, et al. Human pulmonary valve progenitor cells exhibit endothelial/mesenchymal plasticity in response to vascular endothelial growth factor-A and transforming growth factor-beta2. *Circulation research*. 2006;99(8):861-9.
86. Butcher JT, Markwald RR. Valvulogenesis: the moving target. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. 2007;362(1484):1489-503.
87. Luna-Zurita L. Integration of a Notch-dependent mesenchymal gene program and Bmp2-driven cell invasiveness regulates murine cardiac valve formation. 2010;120(10):3493-507.

88. Schoen FJ. Mechanisms of function and disease of natural and replacement heart valves. *Annual review of pathology*. 2012;7:161-83.
89. Butcher JT, Penrod AM, Garcia AJ, Nerem RM. Unique morphology and focal adhesion development of valvular endothelial cells in static and fluid flow environments. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2004;24(8):1429-34.
90. Butcher JT, Tressel S, Johnson T, Turner D, Sorescu G, Jo H, et al. Transcriptional profiles of valvular and vascular endothelial cells reveal phenotypic differences: influence of shear stress. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2006;26(1):69-77.
91. Bischoff J, Aikawa E. Progenitor cells confer plasticity to cardiac valve endothelium. *Journal of cardiovascular translational research*. 2011;4(6):710-9.
92. Salhiyyah K, Yacoub MH, Chester AH. Cellular mechanisms in mitral valve disease. *Journal of cardiovascular translational research*. 2011;4(6):702-9.
93. Visconti RP, Ebihara Y, LaRue AC, Fleming PA, McQuinn TC, Masuya M, et al. An in vivo analysis of hematopoietic stem cell potential: hematopoietic origin of cardiac valve interstitial cells. *Circulation research*. 2006;98(5):690-6.
94. Liu AC, Joag VR, Gotlieb AI. The emerging role of valve interstitial cell phenotypes in regulating heart valve pathobiology. *The American journal of pathology*. 2007;171(5):1407-18.
95. Taylor PM, Batten P, Brand NJ, Thomas PS, Yacoub MH. The cardiac valve interstitial cell. *The international journal of biochemistry & cell biology*. 2003;35(2):113-8.
96. Powell DW, Mifflin RC, Valentich JD, Crowe SE, Saada JI, West AB. Myofibroblasts. I. Paracrine cells important in health and disease. *The American journal of physiology*. 1999;277(1 Pt 1):C1-9.
97. Rabkin-Aikawa E, Farber M, Aikawa M, Schoen FJ. Dynamic and reversible changes of interstitial cell phenotype during remodeling of cardiac valves. *The Journal of heart valve disease*. 2004;13(5):841-7.
98. Rabkin E, Aikawa M, Stone JR, Fukumoto Y, Libby P, Schoen FJ. Activated interstitial myofibroblasts express catabolic enzymes and mediate matrix remodeling in myxomatous heart valves. *Circulation*. 2001;104(21):2525-32.
99. Shiomi T, Lemaitre V, D'Armiento J, Okada Y. Matrix metalloproteinases, a disintegrin and metalloproteinases, and a disintegrin and metalloproteinases with thrombospondin motifs in non-neoplastic diseases. *Pathology international*. 2010;60(7):477-96.
100. Togashi M, Tamura K, Nitta T, Ishizaki M, Sugisaki Y, Fukuda Y. Role of matrix metalloproteinases and their tissue inhibitor of metalloproteinases in myxomatous change of cardiac floppy valves. *Pathology international*. 2007;57(5):251-9.
101. Cripe L, Andelfinger G, Martin LJ, Shooner K, Benson DW. Bicuspid aortic valve is heritable. *Journal of the American College of Cardiology*. 2004;44(1):138-43.
102. Ng CM, Cheng A, Myers LA, Martinez-Murillo F, Jie C, Bedja D, et al. TGF-beta-dependent pathogenesis of mitral valve prolapse in a mouse model of Marfan syndrome. *The Journal of clinical investigation*. 2004;114(11):1586-92.

103. Grande-Allen KJ, Barber JE, Klatka KM, Houghtaling PL, Vesely I, Moravec CS, et al. Mitral valve stiffening in end-stage heart failure: evidence of an organic contribution to functional mitral regurgitation. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*. 2005;130(3):783-90.

Rapport-Gratuit.com