

TP 6 : Action de substances pharmacodynamiques sur le cœur isolé de grenouille

I. Généralités

A. Anatomie du cœur

Le rythme cardiaque est géré par son système de conduction intrinsèque. Cependant, les neurofibres du système nerveux autonome peuvent influencer sur le cœur, et donc modifier le rythme. Le système nerveux sympathique est accélérateur, et augmente à la fois le rythme et la force du battement cardiaque. A l'inverse, le système nerveux parasympathique sert à ralentir ces deux points.

Le cœur isolé de grenouille présente de faibles exigences quant aux conditions de température, d'oxygénation et de perfusion. Il est facile d'obtenir sa survie pendant de nombreuses heures par perfusion à l'aide du liquide de Ringer.

Sa base est plate et sur la face supérieure, alors que son apex en pointe se tourne vers le bas. Il est enveloppé dans un sac à double paroi appelée péricarde. Il est composé de trois parties, deux oreillettes et un seul ventricule dans lequel les 2 sangs se mélangent. Les deux oreillettes sont la droite et la gauche. Si l'on regarde le cœur sur le côté, on peut trouver au-dessus du ventricule et entre les deux oreillettes le bulbe artériel : il sert à la collecte du sang quand il est éjecté. Le cœur est irrigué par deux tubes qui forment le tronc aortique. On trouve aussi du côté dorsal le sinus veineux, derrière l'oreillette droite, c'est la zone de collecte du sang veineux.

On trouve plusieurs feuillets d'automatisme, que sont le nœud de Remak, le nœud de Ludwig (entre les deux oreillettes), et le nœud de Bidden (dans le ventricule).

B. La régulation nerveuse

La régulation nerveuse se fait par le système nerveux autonome. Il existe des mécanismes extrinsèques de régulation de la fréquence cardiaque, dont le système nerveux autonome fait partie, et il en est le facteur le plus important. Le système nerveux sympathique peut être activé par des facteurs émotionnels ou physiques. Par son activation, les neurofibres sympathiques libèrent de la noradrénaline à leurs synapses cardiaques, qui se lie aux récepteurs adrénergiques β_1 . Le seuil d'excitation du nœud sinusal diminue alors, le nœud sinusal augmente la fréquence de ses potentiels d'action et le cœur bat plus vite. Il y a aussi augmentation de la contractilité en favorisant la pénétration de calcium dans les cellules contractiles, ce qui entraîne une diminution du volume télésystolique. Cependant, le volume systolique ne diminue pas, alors qu'on aurait pu le prévoir ainsi s'il ne se produisait qu'une augmentation de la fréquence cardiaque.

À l'inverse, l'antagoniste du système nerveux sympathique et le système nerveux parasympathique. Il permet de réduire la fréquence cardiaque, une fois que les facteurs émotionnels et physiques sont éliminés. En réponse à cette stimulation, ou plutôt cette fin de stimulation, de l'acétylcholine est libérée dans le cœur, les membranes plasmiques sont alors hyperpolarisées, et ouvrent les canaux à

K⁺. Cependant, l'activité parasympathique est assez négligeable, étant donné que l'innervation vagale est assez peu dense.

Nous pouvons alors nous demander que font d'autres substances telles que l'adrénaline, l'acétylcholine ou l'atropine sur le cœur, quels sont leurs effets.

II. Expériences

A. Enregistrement normal : activité pace maker du cœur isolé.

1. Résultats expérimentaux

Voir les feuilles annexes nommées « Mécanogramme ventriculaire du cœur isolé de grenouille dans des conditions normales, en perfusion de liquide de Ringer » et « Mécanogramme ventriculaire du cœur isolé de grenouille dans des conditions normales, en perfusion de liquide de Ringer – Zoom ».

Grâce à des mesures sur les graphiques, on obtient les valeurs suivantes :

	Fréquence (battements par minutes)	Amplitude (mV)
Phase de Systole	57,5	273,3
Phase de Diastole	23,4	269,52

2. Analyse et interprétations

On observe une alternance de phase de contraction (systole ventriculaire) et de relâchement (diastole ventriculaire) suivies de rebonds que l'on considérera comme des artéfacts ; ceci constitue une révolution cardiaque : à la fin de la diastole ventriculaire, la dépolarisation du nœud sinusal provoque la contraction des oreillettes, puis l'excitation atteint les ventricules. La pression ventriculaire augmente et dépasse celle des oreillettes. Quand la pression est trop élevée, la valve du ventricule s'ouvre et le sang est violemment éjecté dans les crosses aortiques pour circuler dans tout l'organisme ; à ce moment il y a raccourcissement des fibres musculaires, ce qui favorise l'expulsion de la masse sanguine : c'est la systole. Le ventricule vient de se contracter et commence à se relâcher, les valves aortiques se ferment : le sang ne peut plus entrer dans le ventricule ; c'est la relaxation iso-volumétrique. Quand les oreillettes sont remplies, les valves auriculaires s'ouvrent et le sang se déverse dans le ventricule, celui-ci se remplit donc à son tour progressivement ; lorsque tout le sang a quitté les oreillettes, les valves auriculaires se ferment et on repasse à la systole ; l'enchaînement de ces 2 événements constitue la révolution cardiaque.

Le cœur est un muscle strié possédant une activité rythmique autonome. Cette contraction rythmique et spontanée est assurée par la présence de tissu nodal (cellules autorythmiques qui déchargent des potentiels d'action de manière cyclique) au sein de cet organe : le nœud de Remak, de Bidder, de Ludwig. Le cœur assure ainsi sa propre activité rythmique permettant la circulation sanguine dans l'ensemble de l'organisme.

Cette première expérience nous servira de témoin pour voir les effets de substances pharmacodynamiques. Elle met en évidence l'activité pace maker du cœur isolé.

B. Effet de l'adrénaline

Tout d'abord, l'adrénaline appartient au groupe des catécholamines, c'est-à-dire qu'elle possède un cycle catéchol. L'adrénaline est sécrétée par les glandes médullosurrénales, à partir de résidu de tyrosine, et elle affluera par l'intermédiaire de la circulation sanguine jusqu'aux récepteurs β -1 présents à la surface des cellules myocardiques. L'adrénaline est un neurotransmetteur du système nerveux sympathique, il s'agit d'un agent neuro-hormonal.

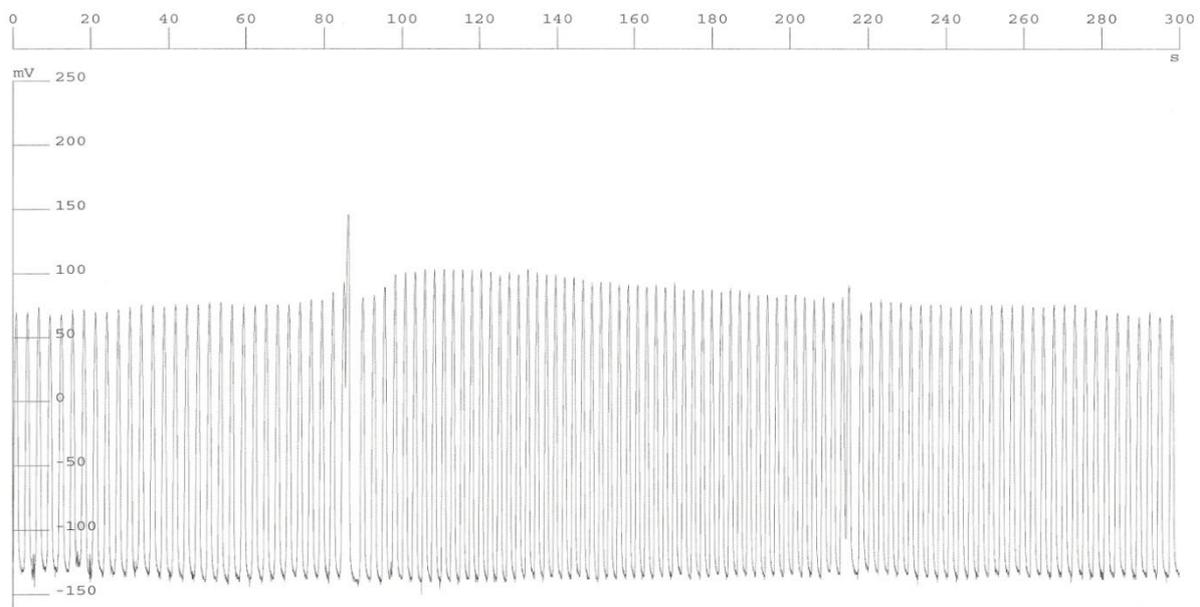
1. Résultats expérimentaux :

Voir la courbe nommée « Mécanogramme ventriculaire du cœur isolé de grenouille en perfusion d'une solution d'adrénaline à 10^{-6} », « Mécanogramme ventriculaire du cœur isolé de grenouille en perfusion d'une solution d'adrénaline à $5 \cdot 10^{-6}$ » et « Mécanogramme ventriculaire du cœur isolé de grenouille en perfusion d'une solution d'adrénaline à 10^{-5} ». Voir figure 1.

La première courbe ne présente pas de variation significative. Ces résultats signifient une dose trop minimale injectée. La deuxième montre un léger effet, mais encore, il n'est pas significatif, pour la même raison. La troisième ne présente encore pas d'effet valable. Nous utilisons donc les résultats plus probants d'un autre groupe. Ce graphique nous permet enfin d'observer les effets de l'adrénaline, en effet, l'amplitude et la fréquence augmentent après l'injection, enfin de façon significative. Les valeurs suivantes ont été mesurées :

Injection	Amplitude (mV)	Période (ms)	Fréquence en s^{-1}	Fréquence en min^{-1}
avant	211,09	2926,63	0,34	20,50
pendant	250,93	2594,2	0,39	23,13
après	209,99	2641,82	0,38	22,71

Figure 1 : Tracé montrant les effets de la perfusion d'une solution d'adrénaline à 10^{-6} M, sur l'activité cardiaque



2. Analyse et interprétations :

L'adrénaline provoque une augmentation de fréquence et de force de contraction du cœur isolé quelques secondes après l'injection de la solution dans le ventricule. Par conséquent, l'adrénaline est un agent inotrope positif.

L'effet de l'adrénaline augmente d'autant plus que sa concentration est élevée, il s'agit de l'effet dose. Dans notre expérience, la valeur seuil déclenchant l'effet est de 10^{-6} M.

L'adrénaline agit sur le cœur par l'intermédiaire des récepteurs β -1-adrénergiques présents à la surface cellulaire. Ces récepteurs sont couplés à une protéine G trimérique stimulatrice qui agit via sa sous-unité alpha sur l'activité de l'adénylate cyclase. La stimulation de l'adénylate cyclase, dont l'activité est de dégrader l'ATP en AMPc, revient à augmenter la concentration en AMPc intracellulaire. S'en suit l'augmentation de l'activité de la protéine kinase A AMPc dépendante, qui permettra la phosphorylation de canaux calciques. Après phosphorylation, ces canaux autorisent la sortie de calcium (la fréquence d'ouverture est augmentée, le temps d'ouverture diminué). De ce fait, la contraction musculaire calcium-dépendante se voit facilitée et augmentée. Ceci explique l'effet inotrope positif. L'augmentation de la contractilité est due à l'augmentation de l'entrée de calcium induite par les récepteurs β -1-adrénergique, ce qui fait monter la concentration du calcium dans le cytosol des cellules myocardiques.

De plus, l'adrénaline augmente la fréquence des impulsions du nœud sinusal : effet chronotrope positif. L'augmentation de la pente du prépotentiel sous l'influence du système sympathique (et de l'adrénaline) provient d'une augmentation de la conductance du calcium, g_{Ca} , et d'une diminution de la conductance du potassium, g_K .

C. Effet de l'acétylcholine

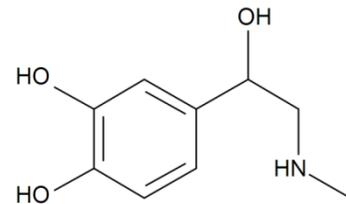
L'acétylcholine est un neurotransmetteur majeur du système nerveux périphérique. Dans la jonction neuromusculaire, les fibres qui libèrent l'acétylcholine sont dites cholinergiques ; en effet le cœur est innervé par le nerf vague qui appartient au système nerveux parasympathique et dont le dernier neurotransmetteur est l'acétylcholine.

Ce neurotransmetteur est synthétisé à partir de la choline et de l'acétylcoenzyme A dans le cytoplasme des terminaisons pré-synaptiques, puis stockés dans des vésicules. Lors du TP, le cœur est isolé de l'organisme et donc du système nerveux, la circulation de l'acétylcholine ne se fait donc pas à travers des fentes synaptiques mais atteint le cœur par voie sanguine : l'acétylcholine n'a donc plus le rôle de neurotransmetteur mais agit alors comme une hormone.

Suite à une stimulation, l'acétylcholine est libérée et va se fixer à son récepteur. On distingue 2 types de récepteurs capables de l'accueillir :

- les récepteurs nicotiniques : présents dans les cellules des muscles striés, dans le système nerveux central.
- Les récepteurs muscariniques présents dans les cellules des muscles lisses et également dans le système nerveux central.

Figure 2 : molécule d'adrénaline



1. Résultats :

Voir la feuille annexe nommée « Mécanogramme ventriculaire du cœur isolé de grenouille en perfusion d'une solution d'acétylcholine à 5.10^{-7} ».

Les résultats n'étant pas quantifiables, on se contentera d'une description du tracé : après l'injection de la solution d'acétylcholine à 5.10^{-7} , on note que le cœur s'arrête. Ensuite, on note la présence d'artefacts de manipulation, dus au massage cardiaque qui a été entrepris pour ramener le cœur en activité. Ensuite, les contractions reprennent progressivement.

2. Analyse et interprétations :

On observe quelques secondes après le passage de la solution dans le ventricule, une chute importante de l'amplitude de la contraction associée normalement à une diminution non négligeable de la fréquence cardiaque, entraînant l'arrêt.

L'acétylcholine libérée par les fibres parasympathiques du nerf vague via les récepteurs muscariniques M2, a un effet chronotrope négatif. La diminution de la pente du prépotentiel (PP) et le potentiel diastolique maximal (PDM) négatif sous l'influence de l'acétylcholine proviennent d'une augmentation de la conductance du potassium, gK.

Lorsque la fréquence cardiaque est réduite, l'entrée de calcium par unité de temps est faible (peu de potentiels d'action), ce qui offre relativement plus de temps pour la sortie de calcium. De ce fait, la concentration cytosolique moyenne en calcium se trouve réduite, donc la contractilité reste relativement diminuée. Par ce mécanisme, l'acétylcholine exerce une action inotrope négative.

D. Effet de l'atropine :

1. Résultats :

Voir la feuille annexe nommée « Mécanogramme ventriculaire du cœur isolé de grenouille en perfusion de liquide de Ringer additionné d'atropine » : On observe une activité de type normal, peu de variation, que ce soit au niveau de l'amplitude que de la fréquence.

Voir la feuille annexe nommée « Mécanogramme ventriculaire du cœur isolé de grenouille en perfusion de liquide de Ringer contenant de l'acétylcholine à 5.10^{-7} » : On ne note pas de variation, même avec une valeur seuil d'acétylcholine.

Voir la feuille annexe nommée « Mécanogramme ventriculaire du cœur isolé de grenouille en perfusion de liquide de Ringer contenant de l'adrénaline 10^{-5} »

Injection	Amplitude (mV)	Fréquence (Hz)
Avant	696,97	3,63
Après	1393,94	2,63

On note une fréquence qui diminue plutôt que d'augmenter. Cette erreur est due aux imprécisions de mesure.

2. Analyse et interprétations :

La perfusion d'atropine pendant 5 minutes n'a aucun effet sur l'activité du cœur. En effet, l'action de l'atropine est révélée seulement au moment de la perfusion de l'acétylcholine, puisque la rythmicité cardiaque reste basale même après passage de l'acétylcholine. On ne constate donc aucune inhibition de l'activité cardiaque ; l'atropine s'oppose aux actions de l'acétylcholine sur les récepteurs

muscariniques. L'atropine n'empêche pas la libération de l'acétylcholine mais agit en se combinant aux récepteurs cholinergiques : cette substance pharmacologique présente donc un pouvoir antagoniste envers l'acétylcholine.

En outre, nous pouvons affirmer que l'atropine agit spécifiquement sur les récepteurs cholinergiques. En effet, quelques minutes après le passage de l'acétylcholine, nous avons perfusé le cœur avec la solution d'adrénaline dont la concentration est celle de la valeur seuil déclenchant un effet ; le résultat est immédiat : l'amplitude et la fréquence augmentent de la même manière que l'expérience sans atropine. Par conséquent, on peut en déduire que l'atropine est un antagoniste spécifique des récepteurs cholinergiques muscariniques.

Enfin, même si cela n'apparaît pas sur notre graphique, nous savons que l'effet de l'adrénaline en présence d'atropine est supérieur à ce qui était observé préalablement en adrénaline seule. Ce phénomène peut être expliqué par la rupture de « l'équilibre » entre les effets du système parasympathique et ceux du système sympathique ; ces derniers étant favorisés lorsque l'atropine est présente, puisque l'on sait désormais qu'il s'agit d'une substance qui présente un pouvoir antagoniste envers l'acétylcholine.

III. Conclusion

C'est donc à travers ces quelques expériences que nous avons pu mettre en évidence certains mécanismes de régulation du rythme cardiaque. Nous n'allons pas ici faire un résumé des conclusions de chaque expérience, mais projeter nos expériences et voir plus loin, déterminer l'utilité de ces connaissances dans le cas de pathologies.

Dans le cas de maladies de type Arythmiques, c'est-à-dire des troubles du rythme respiratoire, on peut utiliser deux types de médicaments, en fonction de la modification du rythme. Dans le cas d'un rythme trop rapide (Tachycardie), on utilise des β -bloquants, des sédatifs ou des tranquillisants. Les β -bloquants empêchent la fixation de l'adrénaline, et donc son effet inotrope et chronotrope positif, le rythme cardiaque diminue. Dans le cas de bradycardie (rythme trop rapide), on utilise des dérivés atropiniques, antagonistes de l'acétylcholine, et donc répresseurs de l'activité inotrope et chronotrope négative, le rythme peut alors remonter.

En cas d'insuffisance cardiaque, on utilise principalement des tonicardiaques (digitaline, ouabaine) et de diurétiques, mais on peut aussi utiliser des dérivés nitrés ou des inhibiteurs de l'enzyme de conversion.

En cas d'hypertension artérielle, on utilise encore une fois les diurétiques, mais aussi les β -bloquants, des inhibiteurs calciques. Dans tous ces cas, ils s'opposent à l'action de l'adrénaline, et permettent de réduire le rythme cardiaque, d'éviter que le problème ne s'aggrave.

Enfin, dans le cas des angines de poitrine, les dérivés nitrés, les inhibiteurs calciques et les digitaliques sont les médicaments les plus répandus.

On voit alors l'utilité de tests tels que les nôtres sur un cœur, de grenouille ou humain.