

Effets vasodilatateurs de la pentoxifylline chez le cheval : étude dans les veines digitées

Par :

- *N. Kabbesh, M.Y. malle, J.-C. Desfontis, J. Noireaud et M. Gogny*
- *Unité de Physiopathologie Animale et Pharmacologie Fonctionnelle, UPSP 5304, Ecole Nationale Vétérinaire, Atlanpôle la chantrerie, BP 40706, 44307 Nantes, France*

Résumé

L'objectif de ce travail est d'étudier l'effet vasodilatateur de la pentoxifylline (PTX) dans les veines digitées de chevaux (VDC) sains. Des VDC palmaires sont coupées en anneaux (3 à 4 mm de longueur) puis montées dans des cuves à organes isolés contenant une solution de Krebs. Sur les anneaux de VDC précontractés à la phényléphrine (2 μ M), la PTX (1 nM à 300 μ M) induit une vasodilatation dépendante de l'endothélium et indépendante des récepteurs de l'adénosine. Cet effet est principalement médié *via* l'activation des voies du monoxyde d'azote (NO) et des prostaglandines vasodilatatrices. En revanche, l'activation des protéines kinases-A ou l'inhibition de phosphodiesterases ne semble pas intervenir dans le mode d'action de ce médicament dans les VDC. L'aptitude de la PTX à induire la synthèse du NO et des prostaglandines vasodilatatrices dans les VDC pourrait lui conférer une action vasculo-protectrice dans la circulation digitée de chevaux fourbus. Des expériences supplémentaires sont nécessaires pour déterminer l'intérêt thérapeutique potentiel de l'action vasculaire digitée induite par la PTX dans la fourbure équine.

Mots clés : pentoxifylline, équine, veines digitées, vasodilatation, fourbure.

Summary

The present work was designed to investigate the vasodilatory effect of pentoxifylline (PTX) in equine digital veins (EDV) isolated from healthy horses. Palmar EDV were cut into rings (3 to 4 mm in length). Thereafter, EDV rings were suspended in an organ bath containing Krebs solution. In phenylephrine (2 μ M)-precontracted EDV rings, PTX (1 nM à 300 μ M) produced an endothelium-dependent vasodilation independently of the adenosine receptors activation. The vasodilation evoked by PTX occurred mainly through nitric oxide (NO) and vasodilatory prostaglandins pathways. However, protein kinases-A activation or phosphodiesterases inhibition did not seem to play a role in the PTX-mediated EDV vasodilation. The ability of PTX to induce NO synthesis and vasodilatory prostaglandins in EDV supports the hypothesis that the drug could have a vasculoprotective action on the vascular digit of laminitic horses. Further experiments are required to determine the potential therapeutic interest of the PTX-mediated EDV vasodilation in equine laminitis.

Key-words : pentoxifylline, equine, digital veins, vasodilation, laminitis.

Introduction

La fourbure équine aiguë est une affection podale d'origine systémique, souvent associée à des épisodes vasoconstricteurs affectant préférentiellement le territoire veineux digité. Un des objectifs du traitement et/ou de la prévention de cette affection est d'améliorer l'hémodynamique digitée par action vasodilatatrice et/ou rhéologique. Dans ce contexte, la pentoxifylline (PTX), un dérivé méthylxanthine, a été proposée dans le traitement de la fourbure équine notamment pour ses propriétés hémorhéologique et anti-endotoxinique. Cependant, ses propriétés vasodilatatrices restent encore peu connues dans l'espèce équine. L'objectif de cette étude est de caractériser *in vitro* l'effet vasodilatateur induit par la PTX dans les veines digitées des chevaux (VDC) sains.

1. Matériel et méthode

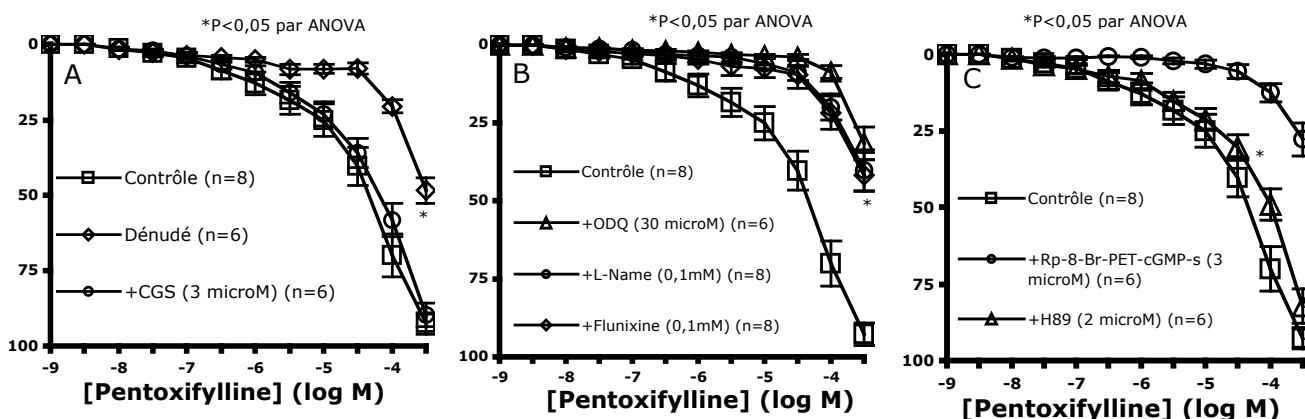
Des VDC palmaires prélevées sur des chevaux sains ont été coupées en anneaux de 3 à 4 mm de longueur, puis ces derniers sont suspendus dans des cuves à organes isolés contenant une solution de Krebs. Les anneaux sont étirés à une tension de 2 g, puis précontractés avec 2 μ M de phényléphrine, un agoniste α 1-adrénérique. Des courbes concentration-relaxation cumulatives à la pentoxifylline (1 nM à 300 μ M) sont établies sur des VDC dans différentes conditions expérimentales.

2. Résultats

Sur des VDC intactes, la PTX induit un effet vasodilatateur dépendant de la concentration. L'effet maximal (E_{max}) obtenu pour la concentration la plus élevée est de $90 \pm 0,7\%$, $n=8$). Cet effet est significativement inhibé après abrasion de l'endothélium ($E_{max}=49,9 \pm 3,7\%$, $n=6$, $P < 0,05$ vs contrôle) mais conservé en présence de CGS (3 μ M), un inhibiteur non sélectif des récepteurs de l'adénosine (Figure IA). En présence de L-Name (100 μ M), d'ODQ (30 μ M) ou de flunixin méglumine (100 μ M), trois inhibiteurs, respectivement des monoxydes d'azote (NO)-synthases, des guanylate cyclases et des cyclooxygénases, la relaxation à la PTX est fortement inhibée (respectivement $E_{max}=32,8 \pm 7,3\%$, $E_{max}=38,4 \pm 4,3\%$, et $E_{max}=41,8 \pm 5\%$, $n=6-8$, $P < 0,05$ vs contrôle) (Figure IB). Afin de déterminer le rôle des protéines kinases-A (PKA) ou des protéines kinases-G (PKG) dans l'action de la PTX, des VDC ont été incubées en présence de H-89 (2 μ M) ou de Rp-8-Br-PET-cGMP (3 μ M), deux inhibiteurs, respectivement des PKA et des PKG. Seule l'inhibition des PKG réduit fortement la réponse induite par la PTX ($E_{max}=27,8 \pm 5,3\%$, $n=6$) (Figure IC). Afin de déterminer si l'effet relaxant induit par la PTX implique une action inhibitrice sur les phosphodiésterases (PDEs), des courbes de relaxation à la forskoline, un activateur direct des adénylate cyclases ou au nitroprussiate de sodium, un donneur de NO, ont été réalisées. Les relaxations induites par ces deux agonistes ne sont pas modifiées en présence de 1 μ M de PTX (Figure II).

Figure I- Mécanismes impliqués dans l'effet vasodilatateur induit par la pentoxifylline dans les veines digitées de chevaux sains

Figure I- Mechanisms involved in the pentoxifylline-induced vasodilation in equine digital veins of healthy horses

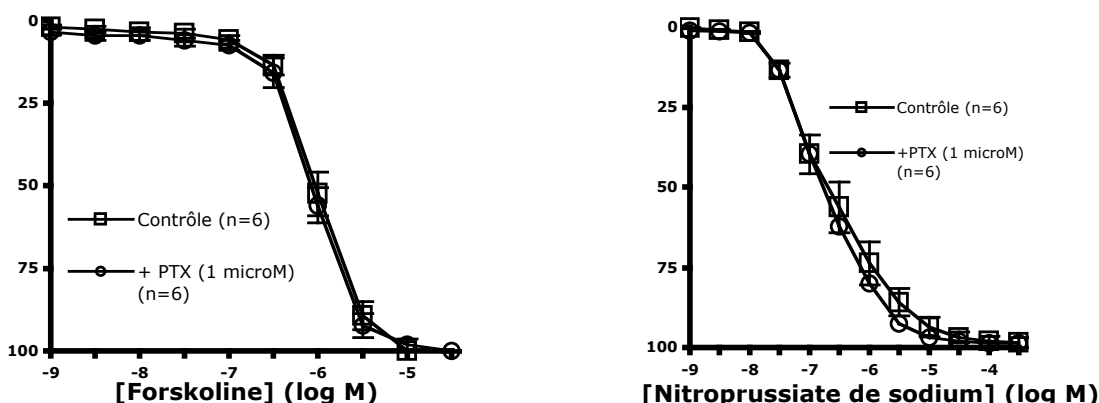


CGS : antagoniste non sélectif des récepteurs de l'adénosine ; dénudé : veine sans endothélium ; flunixin méglumine : inhibiteur non sélectif des cyclooxygénases ; H89 : inhibiteur des protéines kinases-A ; L-Name : inhibiteur non sélectif des monoxyde d'azote synthases ; ODQ : inhibiteur des guanylate cyclases ; Rp-8-Br-PET-cGMP-s : inhibiteur des protéines kinases-G.

CGS : non-selective adenosine receptors antagonist ; denuded : veins without endothelium ; flunixin meglumine : non-selective cyclooxygenases inhibitor ; H89 : protein kinase-A inhibitor ; L-Name : non-selective nitric-oxide synthases inhibitor ; ODQ : guanylyl cyclases inhibitor ; Rp-8-Br-PET-cGMP-s : protein kinases-G inhibitor.

Figure II- Effet de la pentoxifylline sur les vasodilatations dépendantes des voies de l'AMPc (forskoline) et du GMPc (nitroprussiate de sodium)

Figure II- Effect of pentoxifylline on the cAMP (forskolin) and cGMP (sodium nitroprusside)-mediated vasodilations



Forskoline : activateur des adénylate cyclases ; nitroprussiate de sodium : donneur de monoxyde d'azote et vasodilatateur endothélium-indépendant ; PTX : pentoxifylline.

Forskolin : adenylyl cyclases activator ; sodium nitroprusside : nitric-oxide donor and endothelium-independent vasodilator ; PTX : pentoxifylline.

3. Discussion

Afin de mieux définir l'intérêt clinique de la pentoxifylline dans le traitement de la fourbure équine, il est d'abord nécessaire d'identifier les mécanismes intervenant dans son action pharmacodynamique. Nos résultats démontrent que la PTX induit une vasodilatation des VDC qui implique une action endothéliale, mais également musculaire lisse pour les concentrations les plus élevées. Bien que cette drogue soit décrite comme un inhibiteur de la recapture de l'adénosine, nos expériences montrent que l'effet de la PTX est insensible à l'antagonisme des récepteurs de l'adénosine indiquant que son action, dans les VDC, emprunte un autre récepteur membranaire ou s'effectue directement par voie intracellulaire. Nous montrons que le NO et les prostaglandines vasodilatatrices (i.e. prostacycline) sont les seconds messagers majoritaires impliqués dans cette action. L'activation de la voie AMPc/PKA ou l'inhibition des PDEs ne semble pas intervenir dans l'action de la PTX dans les VDC.

Conclusion

La PTX exerce un effet vasodilatateur dans les VDC qui dépend de la libération du NO et des prostaglandines vasodilatatrices. Cette propriété pourrait lui conférer dans la circulation digitée chez le cheval fourbu, une action protectrice contre les vasospasmes et les agrégations plaquettaires. Des expériences supplémentaires sont nécessaires pour déterminer l'intérêt de l'action vasculaire digitée de la PTX dans le traitement de la fourbure équine.

Bibliographie

- Barton, M.H., Moore, J.N., Norton, N. 1997. Effects of pentoxifylline infusion on response of horses to *in vivo* challenge exposure with endotoxin. *Am J Vet Res* 58, 1300-1307.
- Belknap, J. Novembre/2005. Progrès dans la pathophysiologie de la fourbure équine – Peut-on tirer un enseignement de l'insuffisance viscérale dans le sepsis humain? *La médecine vétérinaire des grands animaux, rondes cliniques*, 5, n°9.
- Brumbaugh, G.W., Sumano López, H., Hoyas Sepúlveda, M.L. 1999. Pharmacologic and alternative therapies for the horse with chronic laminitis. *Vet Clin North Am Equine Pract* 15, 345-362.
- Eades, S.C., Holm, M.S., Moore, R.M. 2002. A review of the pathophysiology and treatment of acute laminitis: pathophysiologic and therapeutic implications of endothelin-1. *AAEP Proc Ann Convention*, 48, 353-361.
- Gogny, M., Mallem, M.Y. Mars/avril/Mai 2006. Pentoxifylline, rubrique principe actif. *Le nouveau praticien vétérinaire équine*, 381-382.

N. Kabbesh et al.

Mallem, M.Y., Gogny, M., Gautier, F., Bucas, V., Desfontis, J.-C. 2003. Evaluation of beta3-adrenoceptor-mediated relaxation in intact and endotoxin-treated equine digital veins. *Am J Vet Res*, 64, 708-714.

Weiss, D.J., Geor, R.J., Burger, K. 1996. Effects of pentoxifylline on hemorheologic alterations induced by incremental treadmill exercise in thoroughbreds. *Am J Vet Res* 57, 1364-1368.