

Université de Montréal

Influence des forces de cisaillement et des facteurs endothéliaux coronariens dans la
modulation de la fonction cardiaque

par

Pierre Beaucage
Département de pharmacologie
Faculté de Médecine

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures
en vue de l'obtention du grade de
Maître ès sciences (M.Sc.)
en pharmacologie

18 octobre 2000



W
4
158
2001
N. 084

Université de Montréal
Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé:

Influence des forces de cisaillement et des facteurs endothéliaux coronariens dans la
modulation de la fonction cardiaque

présenté par:

Pierre Beaucage

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes:

Patrick du Souich...président du jury

Louis Dumont.....directeur de recherche

Teresa Kus.....membre du jury

Mémoire accepté le:.....

SOMMAIRE

L'organisation spatiale unique des coronaires dans le myocarde assure aux cardiomyocytes un approvisionnement optimal en O₂ et en nutriments, des éléments essentiels au bon fonctionnement cardiaque. Le territoire coronarien est ainsi constitué d'une arborisation très développée, ce qui explique l'étroit contact entre les cardiomyocytes et les capillaires. Au cours des dernières décennies plusieurs études ont été entreprises afin de comprendre davantage l'influence du territoire coronarien dans la régulation de la fonction cardiaque (Feigl, 1983). Jusqu'à aujourd'hui, il est observé qu'une augmentation de la perfusion coronarienne produit une hausse de la contraction cardiaque et une détérioration de la relaxation, toutefois les mécanismes sous-jacents à ces adaptations restent encore mal compris.

L'influence mécanique de l'augmentation de la perfusion coronarienne est proposée comme le facteur responsable de l'accroissement de la contraction (inotrope) et de la détérioration de la relaxation (lusitrope) cardiaques. Une hausse de la PaO₂ constitue aussi un facteur potentiel de cette modulation des fonctions contractiles. De plus, il est observé qu'une augmentation du débit coronarien induit des forces de cisaillement qui peuvent activer des facteurs endothéliaux, modulateurs des fonctions inotrope et lusitrope cardiaques. Ainsi, l'interaction débit coronarien et facteurs endothéliaux serait important dans la modulation de la fonction cardiaque. Jusqu'à présent, peu d'études se sont intéressées à l'influence des médiateurs endothéliaux coronariens dans la modulation des fonctions contractiles cardiaques. De plus, aucune étude n'a évalué dans un modèle de coeur isolé l'importance des forces de cisaillement, induites par l'augmentation du débit coronarien dans l'activation de médiateurs endothéliaux qui interfèrent avec les fonctions inotrope et lusitrope cardiaques. L'objectif de cette étude est donc de déterminer l'importance des principaux médiateurs endothéliaux dans l'interaction entre la hausse du débit coronarien et les modifications de la fonction cardiaque qui en résultent.

Des cœurs de hamsters normaux âgés de >225 jours sont prélevés et perfusés à débit constant (5-10 mL/min) selon la méthode de Langendorff. La fréquence cardiaque, les pressions ventriculaires systolique et diastolique et le débit coronarien sont mesurés de façon continue. Après stabilisation et enregistrement des données de base, une augmentation graduelle du débit coronarien (mL/min= +2,+4,+6,+8,+10) est induite avant et après un pré-traitement de 30 minutes avec un antagoniste de la NO synthase (L-NAME, 30 μ M), un antagoniste du cytochrome P-450 (SKF525A, 1 μ M) et un antagoniste de la cyclooxygénase (indométhacine, 10 μ M).

Nos résultats indiquent que l'augmentation mécanique du débit coronarien entraîne une chute de la résistance coronarienne. L'ajout de L-NAME augmente la résistance coronarienne en situation basale. Cependant, lors des augmentations du débit coronarien, une diminution de la résistance est quand même observée en présence de L-NAME. Le SKF525A et l'indométhacine ne modifient pas la diminution de la résistance coronarienne induite par la hausse du débit. Au niveau du compartiment myocardique, l'augmentation du débit coronarien se traduit par une augmentation de la pression systolique ventriculaire (PSV), tout comme de la composante diastolique (PDV). En présence de L-NAME, la PSV augmente comme celle du groupe témoin, toutefois une augmentation de +2 et +4 ml/min tend à augmenter davantage la PDV. Le SKF525A ne modifie pas les effets de l'augmentation du débit coronarien sur la PSV et sur la PDV. En présence d'indométhacine, la PSV reste identique à celle du groupe témoin. Toutefois, la PDV est significativement plus élevée qu'en situation contrôle lorsque la hausse du débit est de l'ordre de +6 à +10 mL/min. ($P < 0,05$).

En conclusion, ces résultats suggèrent qu'aucun des trois systèmes enzymatiques étudiés (NO synthase, cytochrome P450 et cyclooxygénase) n'est indispensable à l'effet érectile cardiaque associé à l'augmentation du débit coronarien. Par contre, les dérivés de la cyclooxygénase empêchent une détérioration excessive de la relaxation ventriculaire lors de la hausse du débit

coronarien. Une atteinte du territoire coronarien est souvent associée aux pathologies cardiaques impliquant une dysfonction myocardique. L'amélioration de la perfusion coronarienne est essentielle afin d'aider la contractilité cardiaque. La compréhension des mécanismes (mécanique, métabolique et enzymatique) régissant l'interaction coronaire/myocarde constitue une base essentielle du développement de nouvelles approches thérapeutiques efficaces.

TABLE DES MATIÈRES

SOMMAIRE	iii
LISTE DES TABLEAUX	ix
LISTE DES FIGURES	x
LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS.....	xii
 REMERCIEMENTS	 xiv

CHAPITRE 1: INTRODUCTION

1.1 Le compartiment coronarien.....	2
1.1.1 L'anatomie de l'arbre artériel coronarien	2
1.1.2 Le contrôle de la circulation coronarienne.....	3
1.2 L'interaction entre le compartiment coronarien et myocardique	6
1.3 L'influence mécanique.....	12
1.4 L'influence métabolique	20
1.5 L'influence de médiateurs d'origine endothéliale: Le NO, les dérivés du cytochrome P-450 et de la cyclooxygénase	23
1.5.1 NO synthase et le NO	23
1.5.2 Les dérivés du cytochrome P-450	32
1.5.3 Les dérivés de la cyclooxygénase.....	36

1.6 But du projet de recherche.....	42
-------------------------------------	----

**CHAPITRE 2: Role of NO-synthase, cytochrome P450 and cyclooxygenase
in the myocardial response to increased coronary perfusion**

2.1 Abstract.....	49
2.2 Introduction.....	50
2.3 Materials and methods.....	51
2.4 Results.....	54
2.5 Discussion.....	55
2.6 Acknowledgments.....	59
2.7 References.....	60
2.8 Figure legends.....	68

CHAPITRE 3: DISCUSSION ET CONCLUSION

3.1 Critique de la méthodologie.....	74
3.1.1 Choix du modèle expérimental.....	74
3.1.2 Conditions expérimentales.....	75
Utilisation du modèle à débit constant.....	75
Durée de l'expérience.....	76
Débit coronarien.....	76
Modèle isovolumique.....	77
3.2 Discussion des résultats.....	79
3.2.1 Interactions entre le compartiment coronarien et le compartiment myocardique.....	79
Le L-NAME.....	79

Le SKF525A	80
L'indométhacine.....	81
Mécanismes impliqués	82
3.1 Perspectives thérapeutiques	87

CHAPITRE 4: BIBLIOGRAPHIE

LISTE DES TABLEAUX

TABLE 2-1	Baseline haemodynamics parameters.....	66
TABLE 2-2	Changes in cardiac function in the presence of L-NAME, SKF525A and indomethacin	67

LISTE DES FIGURES

FIGURE 1-1. L'arborisation artérielle coronarienne.....	5
FIGURE 1-2. L'influence des médiateurs endothéliaux dans la modulation de la fonction cardiaque.....	9
FIGURE 1-3. Mécanismes d'action du NO sous-jacents à la modulation de la contraction et de la relaxation cardiaque.....	31
FIGURE 1-4. Les dérivés du métabolisme de l'acide arachidonique	42
FIGURE 1-5. Le modèle de coeur isolé, perfusé	45
FIGURE 1-6. Le protocole expérimental	46
FIGURE 2-1. Effects of stepwise mechanical increases in coronary flow on perfusion pressure and cardiac dynamics.....	69
FIGURE 2-2. Effects of coronary flow changes on perfusion pressure under control conditions and in the presence of L-NAME, SKF525A and indomethacin	70

FIGURE 2-3. Changes in left ventricular systolic pressure (LVSP) following stepwise mechanical increases in coronary flow.....	71
FIGURE 2-4. Changes in left ventricular diastolic pressure following coronary flow changes.....	72
FIGURE 3-1. Action des dérivés de la cyclooxygénase.....	86

LISTES DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS

Ach, Acétylcholine

AMPC, Adénosine monophosphate cyclique

Bk, Bradykinine

°C, Degré celsius

Ca²⁺, Calcium

CaCl₂, Chlorure de calcium

CO₂, Gaz carbonique

COX, Cyclooxygénase

CPP, Coronary perfusion pressure

dp/dt max, Vitesse maximale du changement de la pression ventriculaire gauche

EDRF, Endothelium Derived Relaxing Factor;

EDHF, Endothelium Derived Hyperpolarizing Factor;

EETs, Acides époxyeicosatriénoïques

GMPc, guanyl monophosphate cyclique

K⁺, Potassium

KCl, Chlorure de potassium

L-NAME, N-nitro-L-arginine methyl ester

L-NMMA, L-nitro-monomethyl arginine

LVDP, Left ventricular diastolic pressure

LVSP, Left ventricular systolic pressure

MgSO₄, Sulfate de magnésium

ml/min, Millilitre par minute

mmHg, Millimètre de mercure

mM, Millimolaire

NaCl, Chlorure de sodium

NaHCO₃, Bicarbonate de sodium

NMA, N^G-monomethyl-L-arginine

NO, Nitric Oxide

NPS, Nitroprussiate de sodium

NTG, Nitroglycérine

O₂, Oxygène

PGI₂, Prostacycline

PO₂, Pression partielle d'oxygène

pmol/min, pico mole par minute

SNAP, S-nitroso-N-acetyl-penicillamine

SERCA, Sarcoplasmic endoplasmic reticulum calcium ATPase

µg/min, Microgramme par minute

µM, Micromolaire

REMERCIEMENTS

J'aimerais tout d'abord remercier mon directeur de recherche, le Docteur Louis Dumont pour m'avoir confié ce merveilleux défi. Merci de m'avoir encouragé et surtout d'avoir cru en moi tout au long des trois années passées dans son équipe. J'aimerais aussi souligner sa grande disponibilité et sa patience. Grâce à son support et aux nombreux conseils qu'il m'a donnés, j'ai pu découvrir le côté passionnant de la recherche.

Je tiens aussi à remercier les membres de notre équipe avec lesquels j'ai travaillé tout au long de ma maîtrise. Merci à Éric Fontaine, France Paquette et Jean-François Boileau pour leur dévouement et leur générosité lors de mes débuts au laboratoire. De plus, je ne pourrais oublier Julie Massicotte qui m'a supporté techniquement tout au long de mon expérimentation. À tous les autres, avec qui j'ai pu échanger au cours des nombreuses réunions de laboratoire, je voudrais vous exprimer toute ma gratitude car ces années n'auraient guère été aussi agréables sans votre présence.

Je tiens à remercier tout le personnel de l'Université qui ont participé indirectement à la réalisation de ce projet. Merci aux personnels d'entretien de l'animalerie et plus particulièrement à Jacques Poirier pour son aide technique et sa bonne humeur lors de mes expériences en laboratoire. Je remercie, du fond du coeur, Elisabeth Pérès pour sa disponibilité, sa patience et sa grande compétence en infographie.

Finalement, tous ces efforts n'auraient pas été aussi possibles sans le soutien moral de ma famille. Je remercie mon père Gilles et ma mère Louise ainsi que ma soeur Annie pour leur grande compréhension tout au long de cette aventure. De plus, je ne pourrais oublier le support de nombreux amis, ainsi que collègues de travail au Club Médico Sportif qui ont su m'encourager et me supporter dans les moments les plus difficiles.

CHAPITRE I

INTRODUCTION

1.1 LE COMPARTIMENT CORONARIEN

Depuis les dernières décennies le nombre de travaux qui traitent des mécanismes impliqués dans le contrôle de la perfusion coronarienne a augmenté de façon importante (145). Il est connu que la circulation coronarienne se compose de grands vaisseaux permettant au sang d'être acheminé et de plus petits vaisseaux impliqués dans le contrôle du débit. Toutefois, la structure de l'arbre artériel coronarien est beaucoup plus complexe et la compréhension des fonctions des micro-vaisseaux coronariens s'est souvent avérée une tâche difficile. Au cours des dernières années, de nombreuses recherches ont permis, grâce à de nouvelles approches expérimentales, de mieux comprendre ce territoire complexe. Ainsi, il est rapporté que l'hétérogénéité de ce territoire sur le plan structural et fonctionnel permet un contrôle précis de la perfusion sanguine (25, 84). Ce contrôle de la perfusion coronarienne est très important car il influence directement la fonction cardiaque. Il s'avère donc important de bien comprendre les mécanismes liés au contrôle de la perfusion coronarienne. De plus, la compréhension du dialogue pouvant s'établir entre les compartiments coronarien et myocardique constituent un élément important dans le développement de nouvelles thérapeutiques applicables à des conditions pathologiques associées à une dysfonction myocardique.

1.1.1 Anatomie de l'arbre artériel coronarien

Le compartiment coronarien permet de perfuser le cœur qui à son tour génère une pression de perfusion dans la circulation systémique. La conformation de l'arbre artériel coronarien est très élaborée (Figure 1-1). Les vaisseaux primaires de la circulation coronarienne émergent de l'aorte pour se diviser graduellement en petits vaisseaux afin d'atteindre toutes les fibres cardiaques. Les coronaires gauche et droite prennent leur origine à la base de l'aorte au-dessus des trois feuillets semi-lunaires formant la valve aortique. La coronaire gauche descend le long de la face antérieure du myocarde à la gauche du sillon antérieur interventriculaire entre

l'artère pulmonaire et l'oreillette gauche. La portion proximale de l'artère coronaire gauche est généralement appelée coronaire commune gauche. Ce vaisseau se divise en deux branches, soit la coronaire antérieure descendante et la branche circonflexe. La première suit le sillon interventriculaire antérieur et irrigue la région du ventricule gauche ainsi que la région septale. La seconde dessert l'oreillette gauche et la paroi postérieure du ventricule gauche. Quant à l'artère coronaire droite, elle descend sur la face antérieure du cœur et s'imbrique dans le sillon atrioventriculaire jusqu'à l'extrémité droite du cœur. Deux ramifications naissent à ce niveau; le rameau marginal droit qui irrigue le myocarde de la partie latérale du côté droit du cœur et le rameau interventriculaire postérieur, plus important, qui atteint l'apex du cœur et dessert les parois postérieures des ventricules (85).

Ces voies principales de la circulation coronarienne possèdent de nombreuses ramifications qui constituent des vaisseaux supplémentaires pour l'irrigation du myocarde. Les principales ramifications de la circulation coronarienne sont logées dans la couche épicaudique du myocarde. Les branches qui naissent de ces vaisseaux majeurs pénètrent dans le myocarde afin de nourrir les fibres cardiaques situées dans la région sous-épicaudique. L'organisation de l'arbre artériel à l'intérieur des différentes couches myocardiennes est donc composée d'artères coronaires primaires qui acheminent le sang vers les cardiocytes. Ces dernières se divisent pour devenir des artérioles, principal lieu du contrôle de la résistance coronarienne et finalement en capillaires. À ce niveau, pratiquement chaque capillaire est en contact avec une cardiocyte, ce qui permet les échanges entre le compartiment coronarien et myocardique (102).

1.1.2 Contrôle de la circulation coronarienne

L'organisation anatomique de l'arbre artériel coronarien étant complexe, le contrôle de la circulation coronarienne l'est également. La perfusion myocardique s'effectue de façon phasique. Lors de la systole, les forces de compression s'effectuent de façon croissante de la région épicaudique à la région sous-

endocardique (13). Ainsi, la perfusion de la région sous-endocardique est pratiquement nulle et sous-perfusée en fin de systole. C'est pendant la phase diastolique quand les forces extra-vasculaires sont très faibles que la perfusion coronarienne s'effectue de façon optimale (13). L'hétérogénéité anatomique du réseau coronarien nous permet aussi de comprendre les différences fonctionnelles. En plus de subir l'influence du cycle contractile cardiaque, le contrôle de la perfusion coronarienne est aussi dépendant de plusieurs mécanismes régulant chaque composante artériolaire. Selon le calibre des vaisseaux, différents mécanismes sont activés pour le contrôle du tonus coronarien. Les plus petites artérioles (<30 μm) démontrent beaucoup de sensibilité aux stimuli métaboliques (77). Par contre, les petites artérioles de 30 à 60 μm semblent produire la réponse myogénique la plus importante (77). Enfin, les artérioles de 120 à 150 μm présentent la sensibilité la plus grande à l'augmentation du débit (forces de cisaillement) (77).



Tiré de HEARSE, D.J. (2000) The elusive coypu: the importance of collateral flow and the search for an alternative to the dog. *Cardiovasc Res.*, 45, 215-219.

Figure 1-1 L'arborisation artérielle coronarienne

1.2 INTERACTION ENTRE LE COMPARTIMENT CORONARIEN ET MYOCARDIQUE

Le compartiment myocardique peut influencer la perfusion coronarienne lorsque sa performance est augmentée. Par exemple, lors d'un exercice physique, le métabolisme cardiaque s'active et une plus grande quantité d'adénosine est libérée dans les coronaires. Cette augmentation de métabolites dans le territoire coronarien induit une chute de la résistance, ce qui entraîne une dilatation des vaisseaux (63). Ce mécanisme d'adaptation permet donc au myocarde d'augmenter son apport sanguin en fonction des demandes énergétiques. Le compartiment coronarien peut aussi influencer le fonctionnement du myocarde. Ainsi, il est rapporté que des changements de la contraction et de la relaxation myocardique prennent place en présence d'une augmentation de la perfusion coronarienne (5, 32, 48, 64, 72, 117, 121, 131, 150).

L'augmentation du débit coronarien, dans le coeur perfusé, modifie le tonus coronarien et la fonction cardiaque. Premièrement, la hausse du débit coronarien entraîne une augmentation de la pression coronarienne, suggérant un manque d'autorégulation de la pression lorsque le débit s'accroît de façon importante (40). Toutefois, l'augmentation de la pression coronarienne est moins importante que l'augmentation du débit coronarien, ce qui explique la chute de la résistance coronarienne (40). Deuxièmement, l'augmentation du débit coronarien produit une hausse de la contraction myocardique (157) et une diminution de la relaxation myocardique (45, 150).

La compréhension de l'influence de la perfusion coronarienne sur la fonction cardiaque captive l'intérêt des chercheurs depuis plusieurs décennies. Au début des années soixante, Gregg rapporte, suite à une augmentation de la perfusion coronarienne, une amélioration du métabolisme et de la contractilité cardiaque (48). Par la suite, un nombre important d'études sont menées afin d'approfondir les mécanismes expliquant l'interaction entre ces deux compartiments (5, 33, 64, 72, 101). Il est proposé que les variations de la pression de perfusion sont responsables

de l'augmentation de la contraction myocardique et de la hausse de consommation d'O₂ (5, 72, 124). Par contre, ceci ne fait l'unanimité car on observe aussi que les variations du débit constitue le facteur responsable du changement de l'état contractile du coeur (1, 28, 33). Encore aujourd'hui, un consensus n'est pas établi: il est même suggéré que les deux paramètres (pression et débit) ont un rôle dans cette adaptation myocardique (48, 101). De plus, il est postulé que l'accroissement du débit et de la pression entraîne une hausse du volume coronarien (95, 123). Cette augmentation volumique des coronaires induit un phénomène mécanique en étirant les fibres myocardiques et produit une plus grande contraction (95, 123). Le volume coronarien représente donc un facteur pouvant expliquer l'effet inotrope positif associé à l'augmentation de la perfusion coronarienne.

Salisbury et coll., (1960) démontrent l'influence mécanique de la perfusion coronarienne sur la relaxation myocardique (121). Selon ces derniers, une diminution de la relaxation myocardique se produit lors d'une hausse de la pression de perfusion. L'importance du débit et de la pression dans la détérioration de la relaxation myocardique suite à la hausse de la perfusion coronarienne reste aussi ambiguë (100, 150). Gaasch et coll., (1978) et Olsen et coll., (1981) proposent que l'augmentation du débit et de la pression influencent le volume des vaisseaux coronariens (45, 100). Ainsi, l'expansion volumique des coronaires altère la compliance myocardique. Malgré que la détérioration de la relaxation myocardique premièrement observée par Salisbury et coll. (1960) soit rapportée par Gaasch et coll. (1978); Olsen et coll. (1981); Vogel et coll. (1982); Resar et coll. (1993), cette observation ne semble pas être reproduite par tous dans la littérature. Un bon nombre de travaux n'ont pu observer de modifications de pression diastolique ventriculaire dans les mêmes conditions expérimentales (1, 5, 64, 101, 104, 143).

Des changements d'origine métabolique peuvent tout aussi bien expliquer l'influence de la perfusion coronarienne sur les fonctions inotrope et lusitrope du coeur. Dans un intervalle physiologique de débit coronarien, une augmentation du débit induit une plus grande consommation myocardique en O₂ et une hausse de la performance cardiaque (48, 157). Cette plus grande consommation en O₂ en

présence d'une hausse du débit coronarien confère à l'approvisionnement en O₂ un rôle dans la hausse de la performance cardiaque. Similairement, Bacaner et coll., (1971) observent, en modulant soit le débit coronarien, le taux d'hématocrite ou la saturation en O₂ de la solution physiologique, une corrélation directe entre l'apport myocardique en O₂ et la performance cardiaque (6). Ainsi, l'état métabolique du myocarde, déterminé par l'apport en O₂, joue un rôle physiologique important dans la régulation de la performance cardiaque.

L'influence mécanique des vaisseaux coronariens et la hausse de l'état métabolique induits lors de l'augmentation de la perfusion coronarienne, constituent des facteurs importants dans le contrôle de la fonction cardiaque. Toutefois, ces facteurs ne sont pas les seuls à expliquer le dialogue s'établissant entre les coronaires et le myocarde. Ainsi, il est proposé que des facteurs endothéliaux seraient impliqués dans ces mécanismes physiologiques. L'action de ces derniers dans la modulation des fonctions inotrope et lusitrope myocardiques représente un aspect très important de notre étude (Figure 1-2).

Compartiment coronarien

Compartiment myocardique

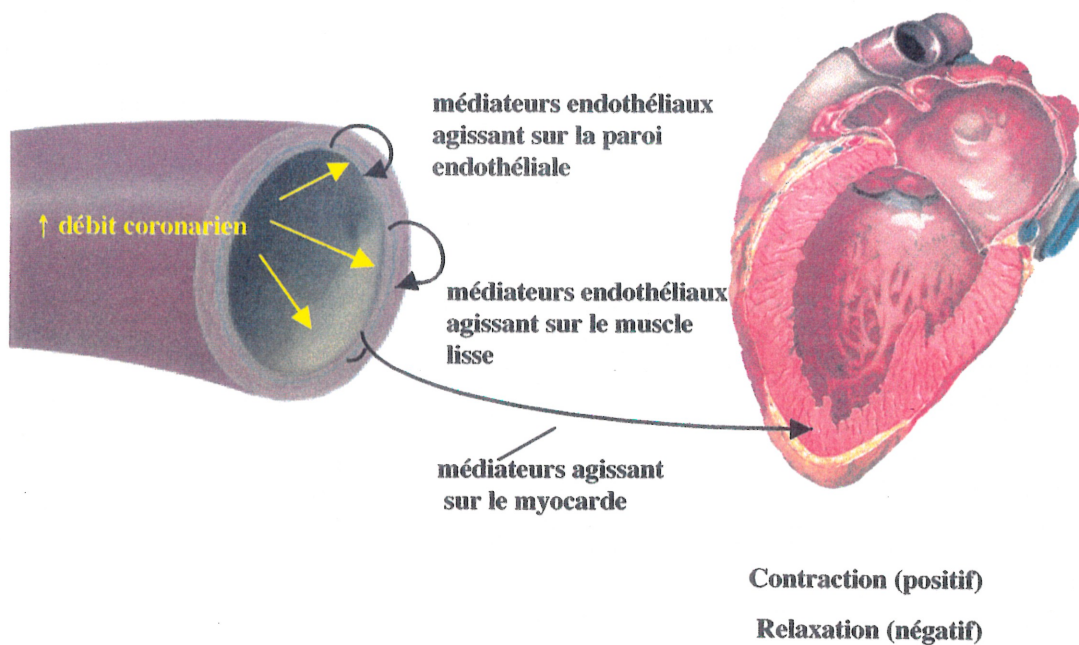


Figure 1-2 L'influence des médiateurs endothéiaux dans la modulation de la fonction cardiaque

Depuis la découverte du rôle fonctionnel de l'endothélium dans le maintien du tonus vasculaire (43), il est démontré que cette couche cellulaire participe au contrôle des fonctions cardiaques (115). Le monoxyde d'azote (NO) (19, 137), l'endothéline (ET-1) (87, 137), les prostaglandines (68, 89) et des facteurs non-identifiés (135) sécrétés par l'endothélium, sont proposés comme modulateurs de la contractilité cardiaque. Cependant, de nombreuses questions ne sont pas résolues quant à l'implication de ces facteurs dans la modulation de la contraction et spécialement de la relaxation myocardique.

Au cours des dernières années un très grand intérêt s'est développé pour le NO. En dépit de la grande proximité existant entre les capillaires coronariens et les cardiomyocytes, il est suggéré que ce médiateur endothélial transige facilement vers la cellule cardiaque et module la contraction (19). Smith et coll., (1991); Brady et coll., (1993); Shah et coll., (1994); Balligand et coll., (1995); Kojda et coll., (1996); Mohan et coll., (1996) ont rapporté à l'intérieur de différentes expériences, une influence du NO sur la contraction cardiaque (8, 19, 74, 92, 135, 137). De plus, il est observé que ce médiateur endothélial améliore la relaxation myocardique (50, 107, 108).

Le NO ne constitue pas le seul médiateur d'origine endothéliale pouvant moduler la fonction cardiaque. Les dérivées époxyeicosatriénoïques (EETs), libérés par l'endothélium vasculaire, sont suggérés comme étant les médiateurs responsables de l'hyperpolarisation des cellules musculaires lisses (24, 54). Ces dérivés provenant de l'activation du cytochrome P-450 sont sécrétés par l'intermédiaire de différents stimuli (93, 141, 158). Par exemple, l'augmentation du débit coronarien crée des forces de cisaillement, produisant la relaxation et l'hyperpolarisation du muscle lisse coronarien (141). Ainsi, il est proposé que les EETs induisent une hyperpolarisation en activant des canaux potassiques (K^+) des cellules musculaires lisses (9, 23, 54). Toutefois, l'implication de ces dérivés dans la modulation de la contraction et de la relaxation myocardique reste inconnue.

Une troisième voie enzymatique est aussi impliquée dans le contrôle du tonus vasculaire. Ce sont les dérivés de la cyclooxygénase. Il est observé que les prostaglandines, produits de l'activité de la cyclooxygénase, possèdent des propriétés vasoactives (34, 55, 66, 97, 126). Toutefois, il n'existe pas de travaux démontrant une implication significative de ces dérivés dans le contrôle basal du tonus coronarien. Contrairement au compartiment coronarien, le compartiment myocardique semble être influencé par l'action des prostaglandines. Il est observé que les prostaglandines E_1 , I_2 et $F_{2\alpha}$ peuvent augmenter la contraction myocardique (2, 83, 103, 148). Néanmoins, Metsä-Ketelä et coll., (1981) rapportent que les prostaglandines E_1 et I_2 modulent la diastole cardiaque du cycle contractile sans modifier la composante systolique (89).

La compréhension des effets inotrope positif et lusitrope négatif tributaires de l'augmentation du débit coronarien reste encore mal comprise. Parmi les facteurs pouvant moduler la fonction cardiaque, l'endothélium coronarien est considéré comme une structure importante (115). Ainsi, des médiateurs originant de l'endothélium tels le NO, les dérivés du cytochrome P-450 et de la cyclooxygénase peuvent être sécrétés en présence de forces de cisaillement afin d'atténuer le tonus coronarien et permettre une meilleure irrigation. En dépit de la grande proximité entre les vaisseaux coronariens et les cardiomyocytes, ces facteurs endothéliaux vasodilatateurs constituent des éléments potentiels dans la modulation de la fonction cardiaque lorsque le débit coronarien est augmenté.

Cette courte révision des facteurs pouvant contribuer à la modulation de la fonction cardiaque lorsque le débit coronarien augmente nous démontre la complexité du phénomène. Au cours des prochaines sections, nous aborderons plus en détails les rôles mécanique et métabolique associés à l'augmentation de la perfusion coronarienne dans la modulation de la fonction cardiaque. De plus, nous établirons les effets coronariens et cardiaques de 3 médiateurs endothéliaux vasodilatateurs (NO, dérivés du cyt P-450 et de la cyclooxygénase).

1.3 INFLUENCE MÉCANIQUE

En 1963, Gregg rapporte que l'augmentation de la pression de perfusion coronarienne entraîne une hausse du débit coronarien, une plus grande consommation en oxygène et une augmentation de la contraction cardiaque (48). Au cours de cette même année, Weisberg et coll., obtiennent des résultats similaires et concluent que la plus grande consommation myocardique en O₂ est reliée à une hausse de la contractilité (157). L'augmentation de la contraction cardiaque en présence d'une hausse du débit coronarien est rapportée ensuite par de nombreux auteurs (118, 99, 5, 40, 138, (28). Cependant, ce constat ne fait pas l'unanimité, Ross et coll. (1963); Boatwright et coll.(1980); Miller et coll. (1990); Schulz et coll. (1991); Schwartz et coll. (1992) ne constatent pas le même changement (17, 91, 119, 130, 131). Le modèle et les conditions expérimentales qui influencent ces résultats sont des éléments non-négligeables dans la comparaison des résultats. Il est donc important d'en tenir compte afin de mieux comprendre les facteurs régulant cette adaptation physiologique.

Changements de la contractilité cardiaque

Les premières expériences de Gregg qui traitent de l'influence du compartiment coronarien sur le compartiment myocardique sont effectuées à thorax ouvert, chez le chien. Afin de valider l'importance des résultats observés, Gregg effectue une série d'expériences sur des coeurs de chiens isolés, ce qui élimine les influences périphériques vasculaires qui sont souvent difficiles à contrôler. Comme Gregg, Weisberg et coll., (1963) en utilisant un modèle de cœur isolé de rat, observent une plus grande consommation en oxygène et une augmentation de la contractilité cardiaque lorsque la pression de perfusion coronarienne augmente. De nombreux travaux ont par la suite utilisé le modèle de cœur perfusé où les compartiments coronarien et myocardique sont bien isolés des influences périphériques. Ce cadre expérimental permet donc de bien étudier l'interaction entre le territoire coronarien et le myocarde (149). En utilisant cette méthodologie chez le rat, Opie et coll (1965)

démontrent que l'augmentation graduelle de la pression de perfusion coronarienne entraîne un changement similaire du débit coronarien et une amélioration de la performance myocardique (101). De la même façon, Salisbury et coll. (1962) obtiennent une meilleure contraction cardiaque lorsqu'une augmentation de la pression de perfusion est induite (122).

Ainsi, l'influence de la perfusion coronarienne sur la contraction cardiaque a été rapportée dans un grand nombre d'études. Par ailleurs, plusieurs groupes de recherches se sont interrogés sur l'identité du paramètre hémodynamique, soit la pression ou le débit coronarien, responsable du changement de contractilité. Depuis les premières expériences de Gregg, de nombreuses études ont cherché une réponse à cette question qui semble encore aujourd'hui non résolue. Les premières études impliquent une hausse de la pression et du débit coronarien (48, 101). Toutefois, ces expériences ne peuvent différencier l'importance des deux paramètres sur ce phénomène.

Ce n'est qu'en 1968, qu'Arnold et coll., rapportent des résultats qui démontrent une différence entre les effets de la pression et du débit coronarien. Dans un modèle isovolumique de cœur isolé de cochon d'Indes, ils observent qu'une augmentation de la pression de perfusion est associée à une hausse du débit et à une plus grande contractilité. Toutefois, en produisant une hausse du débit coronarien, en diminuant la PaO_2 , à pression constante, la contractilité reste identique. De façon similaire, à débit constant, la pression de perfusion est augmentée en modifiant la viscosité du perfusé. Les résultats suggèrent que la performance cardiaque augmente lorsque la pression de perfusion est plus grande. Ainsi, les auteurs concluent que la pression de perfusion coronarienne est le paramètre responsable des changements de contractilité et ils expliquent le phénomène de la façon suivante: L'augmentation de la pression de perfusion induit un étirement des vaisseaux ce qui entraîne un étirement des fibres myocardiques, un étirement qui est associé à l'augmentation de la pression ventriculaire développée par le muscle cardiaque, tout comme l'effet créé par la pression à l'intérieur d'un boyau d'arrosage (rigidité) (5). L'hypothèse

du « Garden-Hose effect » constitue une explication au phénomène d'augmentation de la contractilité associé à la hausse de la perfusion coronarienne. Néanmoins, cette hypothèse est mise en doute (1, 40, 48).

En 1969, une équipe rapporte que le débit coronarien influence la contractilité (40). Contrairement à Arnold et coll. (1968) qui utilisent la pression développée à l'intérieur du ventricule, l'équipe de Fisher utilise un modèle de cœur isolé de chien et mettent sous tension un muscle papillaire du septum afin de mesurer le travail contractile des fibres cardiaques. Selon leurs résultats, la perfusion à débit constant maintient la tension développée par le muscle papillaire lorsqu'une période hypoxique est initiée. De plus, une augmentation du débit coronarien en présence d'hypoxie permet au muscle papillaire de développer une plus grande tension. Il observe aussi qu'au moment où l'hypoxie est induite, la pression de perfusion chute de façon importante. Selon ces résultats, il semble que l'augmentation du débit en soi représente le facteur déterminant de la hausse de la contractilité. Ainsi, il est possible que la pression de perfusion joue un rôle dans cette adaptation, toutefois il est possible que ce rôle soit secondaire (40).

Les résultats d'Abel et coll. (1970) appuient le rôle prédominant du débit. Ces derniers utilisent dans un modèle de cœur isolé de chien un protocole similaire à celui de Fisher et coll. (1969). Cependant, une différence dans la méthodologie paraît exister entre les deux protocoles. Fisher et coll. (1969) ont induit une augmentation du débit à pression constante en présence d'une PaO_2 diminuée. Contrairement à ces derniers, Abel et coll. (1970) ont infusé de la nitroglycérine (NTG) dans un modèle à pression constante afin d'augmenter le débit coronarien. Ainsi, ils observent que l'infusion de NTG, dans un modèle à pression constante augmente de façon significative la contractilité. Par ailleurs, lorsqu'ils diminuent la pression de perfusion dans un modèle à débit constant, aucun changement de la contractilité n'est observé. L'étude d'Abel et coll. (1970) suggère donc que le débit coronarien a plus d'influence que la pression coronarienne dans la modulation de la contractilité. Une meilleure irrigation des coronaires permettrait une meilleure

évacuation des métabolites qui altèrent la contractilité (40, 48). Abel et coll. (1970) ont, entre autre, proposé que l'augmentation du débit coronarien permet la libération de substances qui modulent la contractilité.

Des controverses sur l'importance de la pression coronarienne et du débit coronarien dans l'effet inotrope positif, associés à l'augmentation de la perfusion coronarienne, sont rapportées dans les études présentées plus tôt. Malgré le manque de consensus, il est possible que les deux paramètres (débit et pression) influencent la contractilité cardiaque en modulant le volume intra-coronarien (95, 123). Selon Scharf et coll.(1973) et Morgenstern et coll. (1973) le volume intra-myocardique augmente lorsque la perfusion coronarienne devient plus importante. Cet accroissement du volume intra-myocardique correspond à une augmentation du volume des coronaires influencée par le débit coronarien et la pression coronarienne (95). Ainsi, Morgenstern et coll. (1973) et Scharf et coll. (1973) concluent que le facteur déterminant dans l'augmentation de la contractilité cardiaque associé à la hausse de la perfusion coronarienne constitue le volume intra-coronarien.

Par ailleurs, la phase de contraction ne semble pas être la seule phase du cycle contractile cardiaque à être modifiée par la perfusion coronarienne. Comme il sera présenté à l'intérieur de la prochaine section, la relaxation myocardique peut aussi être influencée par la perfusion coronarienne.

Changements de la relaxation myocardique

L'effet inotrope (contraction) est augmenté lorsque la perfusion coronarienne devient plus importante (48). Toutefois, Salisbury et coll. (1960) démontrent que l'augmentation de la perfusion détériore la relaxation myocardique (121). Selon ces auteurs, l'augmentation de la pression dans le compartiment coronarien augmente le volume vasculaire coronarien. Ainsi, cette plus grande rigidité vasculaire altère l'élasticité des fibres cardiaques et influence négativement la relaxation myocardique. Cette altération de la relaxation induite par l'augmentation de la

perfusion coronarienne est aussi observée par d'autres groupes (45, 51, 100, 117, 150).

Le volume résiduel télédiastolique augmente pendant la défaillance cardiaque. Cette augmentation de volume est associée à une augmentation de la pression diastolique qui se traduit par une moins bonne relaxation myocardique (53). Ainsi, une dysfonction diastolique est observée chez des patients porteurs d'une insuffisance cardiaque et il est constaté que le contrôle de la pression diastolique ventriculaire gauche améliore leur état pathologique (21, 108). La fonction diastolique du ventricule gauche est influencée par de multiples facteurs: le niveau de la relaxation de la chambre ventriculaire, l'état structural de la paroi de la chambre ainsi que l'épaisseur de la paroi. Depuis le travail de Salisbury et coll. (1960), des indices d'évaluation se sont ajoutés afin d'identifier les modifications de la relaxation myocardique induite par la perfusion coronarienne. L'épaisseur de la paroi est définie par le groupe de Grossman et coll. (1974) comme un déterminant majeur de la rigidité de la paroi et de l'augmentation de la pression diastolique (52). Cet indice d'évaluation de la relaxation myocardique est repris par Vogel et coll. (1982) afin de démontrer que la perfusion coronarienne peut détériorer la compliance diastolique (150). En plus de mesurer la pression développée en phase télédiastolique, l'équipe de Olsen et coll. (1981) porte une attention particulière au diamètre de l'axe mineur du ventricule gauche comme indice du volume ventriculaire (100). Ainsi, ils observent une diminution de l'axe mineur du ventricule lorsque la pression de perfusion augmente. Cette diminution de l'axe mineur est directement reliée, selon des études antérieures (116, 140), à une chute du volume ventriculaire gauche, conséquemment une moins grande relaxation du ventricule gauche.

Resar et coll. (1993) ont aussi rapporté un effet lusitrope (relaxation) myocardique négatif suite à l'augmentation de la perfusion coronarienne (117). Afin de caractériser les changements propres aux fibres cardiaques, ils isolent, dans une chambre, sous tension, une partie du septum interventriculaire. En augmentant la

pression de perfusion de l'artère septale, ils observent une plus grande rigidité du tissu contractile. De plus, en infusant des microsphères dans cette même artère, ils observent que les vaisseaux coronariens de diamètre supérieur à 15-20 μm ne sont pas impliqués dans la réponse érectile associée à l'augmentation de la perfusion dans l'artère septale. Cette observation suggère donc que l'augmentation du volume de la portion distale de l'arbre artérielle (i.e. $< 15\mu\text{m}$) soit responsable de la détérioration de la compliance diastolique.

Comme il est observé pour la contraction myocardique, une controverse existe sur l'importance du débit coronarien et de la pression de perfusion coronarienne dans la modulation de la relaxation myocardique. Il est observé par Gaasch et coll. (1978) et Vogel et coll. (1982) que le débit coronarien est dominant dans cette adaptation (45, 150). Par ailleurs, Olsen et coll. (1981) observent que la pression de perfusion coronarienne influence davantage cette adaptation (100). Comment expliquer ces études divergentes ?

Vogel et coll. (1982) démontrent clairement dans un modèle de cœur isolé de lapin qu'à pression de perfusion constante, l'infusion d'adénosine induit une vasodilatation importante ainsi qu'une augmentation de la rigidité de la chambre ventriculaire (150). De même, à débit constant, l'infusion d'adénosine engendre une diminution de la pression de perfusion et, la rigidité de la paroi ventriculaire est peu affectée. Ces observations suggèrent donc une plus grande influence du débit que de la pression de perfusion coronarienne sur la fonction lusitrope myocardique.

Contrairement à Vogel et coll. (1982), Olsen et coll. (1981) remarquent une détérioration significative de la compliance ventriculaire lorsque la pression de perfusion coronarienne augmente (100). Dans un modèle de cœur de chien, un cathéter de pression est installé à l'intérieur du ventricule gauche ainsi que deux capteurs ultrasoniques implantés de chaque côté du cœur, au niveau épicaudique, permettant d'enregistrer les changements de pression à l'intérieur de la chambre ventriculaire et les changements de diamètre de l'axe mineur du cœur. Afin

d'augmenter la pression de perfusion dans les coronaires, la portion distale de l'aorte est comprimée. Ainsi, la variation de la compliance ventriculaire est observée lorsque la pression de perfusion coronarienne est modifiée. Ils se sont aussi intéressés à l'effet du débit en infusant de l'adénosine. L'adénosine ne modifie pas la réponse lusitrope malgré le fait que le débit coronarien soit doublé. Si l'on observe de plus près la méthodologie utilisée, on constate que des cœurs asystoliques sont utilisés, contrairement aux autres études qui utilisent des cœurs développant une contraction. Le débit de base utilisé est aussi très bas contrairement aux expériences de Vogel et coll. (1982). Il est possible que la faible pression diastolique de base et l'absence de systole dans l'expérimentation de Olsen et coll. (1981) impliquent un phénomène non-physiologique qui empêche une modulation de la compliance diastolique en présence d'une augmentation de la perfusion coronarienne.

De façon similaire, les études de Opie et coll. (1965); Arnold et coll. (1968); Abel et coll. (1970); Templeton et coll. (1972); Palacios et coll. (1976) et Iwamoto et coll. (1994) ne rapportent pas de changements diastoliques lorsque la perfusion coronarienne est augmentée (1, 5, 64, 101, 104, 143). Si l'on observe plus en détail les approches expérimentales utilisées, on constate que de faibles variations du débit coronarien ou de la pression de perfusion sont appliquées, contrairement à l'étude de Vogel et coll. (1982). Ainsi, dans les travaux d'Arnold et coll. (1968) la pression de perfusion coronarienne est augmentée dans un mince intervalle se situant entre 60 et 120 mmHg. La pression diastolique de base, fixée à un niveau très bas de 2 mmHg, ne change pas avec l'augmentation de la pression de perfusion. Il est possible que le faible intervalle d'augmentation soit responsable de l'absence de changement. Finalement, il est possible que les conditions basales appliquées par Arnold et coll. (1968) soient non-physiologiques, ce qui expliquerait l'absence de variation de la pression diastolique (150).

Après avoir pris connaissance des différentes études traitant de l'influence de la perfusion coronarienne sur la compliance diastolique, on constate que le débit

coronarien et la pression de perfusion coronarienne peuvent moduler cette phase du cycle contractile. Toutefois, l'importance de leur influence dépend de la pression de perfusion et du débit coronarien appliqués en condition basale (150). En ce sens, il est possible que ces deux paramètres modulent la compliance diastolique via le volume intra-coronarien. Ainsi, il est proposé que le volume intra-myocardique constitue le déterminant majeur de l'influence de la compliance diastolique (45, 95, 100, 153). De plus, ce volume intra-myocardique semble être principalement influencé par le volume intra-coronarien. Selon Judd et coll. (1991) et Hyde et coll. (1986) les compartiments vasculaires qui influencent principalement le volume intra-myocardique sont les capillaires, les veinules et l'espace interstitiel entourant ces vaisseaux (61, 65). Ainsi, cette observation concorde avec l'étude de Resar et coll. (1993) qui rapporte une influence directe du volume intra-coronarien dans sa portion distale, dans la réduction de la compliance diastolique associée à l'augmentation de la perfusion coronarienne (117).

En conclusion, il est rapporté que la contraction et la relaxation myocardique sont modifiés en présence d'une augmentation de la perfusion coronarienne. La pression de perfusion coronarienne est proposée comme le paramètre responsable de ces modifications. Par contre, le débit coronarien est aussi suggéré comme responsable de la modulation de la fonction cardiaque. Au cours des dernières années, Resar et coll. (1993) ont cherché à établir un consensus dans la compréhension de ces adaptations fonctionnelles. Ainsi, ils proposent que la variation du volume intra-coronarien constitue le facteur déterminant de ces changements. Leurs résultats démontrent une influence du volume des compartiments vasculaires distaux. De plus, il est aussi observé que le volume intra-myocardique est directement influencé par le volume des capillaires, des veinules et de l'espace interstitiel entourant ces vaisseaux distaux. Ainsi, il est possible que l'accroissement du volume intra-coronarien, influencé par le débit coronarien et la pression coronarienne, produise des effets inotrope positif et lusitrope négatif cardiaques.

1.4 INFLUENCE MÉTABOLIQUE

L'effet mécanique ne représente pas le seul facteur responsable de la modulation de la fonction cardiaque. Dans un modèle de cœur de chien isolé, on rapporte, en présence d'un petit débit coronarien qu'une augmentation du débit entraîne une plus grande consommation myocardique en O_2 (157). Toutefois, lorsque le débit coronarien devient trop élevé, la consommation myocardique en O_2 devient indépendante du débit (157). Il est proposé que l'extraction en O_2 soit diminuée lorsque le débit coronarien atteint des valeurs trop élevées (157). Il est aussi possible que l'extraction en O_2 devienne moins importante lorsque le calibre des vaisseaux augmente et que le temps en phase systolique s'accroisse (157). Ainsi, pour la première fois Weisberg et coll. (1963) démontrent l'importance de l'apport en O_2 dans la performance cardiaque.

Bacaner et coll. (1971) rapporte aussi que l'apport en O_2 module la fonction cardiaque lorsque la perfusion coronarienne s'accroît. Ils proposent que le débit, la valeur de l'hématocrite dans l'effluent artériel et/ou la saturation en O_2 constituent les facteurs déterminants du maintien des fonctions myocardiques (6). Dans des cœurs de chien perfusés avec du sang, à pression de perfusion et PaO_2 constante, Bacaner et coll. (1971) observent une plus grande contraction myocardique lorsque le débit coronarien augmente. De plus, en abaissant la PaO_2 , la tension ventriculaire gauche développée est réduite. Ce phénomène semble être indépendant du débit et de la pression de perfusion coronarienne. Lorsque la valeur de l'hématocrite est réduite par l'ajout de solution physiologique (dilution), on observe une chute de la tension ventriculaire gauche. Selon les résultats de l'étude de Bacaner et coll. (1971), l'apport en O_2 est un des déterminants majeurs du niveau de la performance cardiaque.

Il est aussi observé que la relaxation myocardique peut être modulée lorsque la tension en O_2 est altérée (150). Vogel et coll. (1982) démontrent, dans des cœurs isolés de lapin, perfusés à débit constant, qu'une diminution de la PaO_2 produit une dilatation des coronaires et par conséquent une plus grande détérioration de la

relaxation myocardique. Par contre, en présence d'adénosine, en condition de saturation normale en O_2 , une dilatation du territoire coronarien est observée, mais la relaxation myocardique n'est pas détériorée (150). Ce phénomène est aussi rapporté par le groupe de Serizawa et coll. (1981) (132). Selon Vogel et coll. (1982), l'effet direct mécanique de la dilatation coronarienne et de l'engorgement vasculaire n'explique probablement pas la plus grande rigidité des chambres ventriculaires en hypoxie. C'est plutôt la production accrue de métabolites qui explique, en hypoxie, l'effet lusitrope négatif plus important (150).

Il est rapporté que la tension en O_2 modifie la production de facteurs endothéliaux (22, 44). De plus, il est observé que la variation de la PaO_2 affecte la production de facteurs endothéliaux impliqués dans la modulation de la fonction cardiaque (115). Ramaciotti et coll. (1993) ont perfusé des cœurs rats et ils ont conservé le perfusat (solution Krebs) à la sortie du tronc pulmonaire. Après réoxygénation, le perfusat est utilisé comme solution physiologique dans un bain où un muscle papillaire cardiaque de rat est mis sous tension. En détériorant uniquement l'endothélium coronarien du cœur perfusé, Ramaciotti et coll. (1993) observent une augmentation de 30% de la tension développée par le muscle papillaire cardiaque. Ceci suggère qu'un agent inotrope négatif est libéré de l'endothélium vasculaire. De plus, en conservant l'endothélium vasculaire du cœur isolé et en éliminant l'endocarde du muscle papillaire cardiaque, Ramaciotti et coll. (1993) observent une diminution de 11% de la tension développée du muscle papillaire cardiaque. Ceci suggère qu'un agent inotrope positif est produit en présence de l'endocarde. Ils observent aussi que l'effet inotrope négatif produit par l'endothélium vasculaire est dépendant de l'augmentation du débit coronarien. De même, l'effet inotrope positif induit par l'endocarde du muscle papillaire cardiaque est sensible à la variation de la PaO_2 (115).

Ainsi, l'étude de Ramaciotti et coll. (1993) démontre que la tension en O_2 modifie la production de facteurs endothéliaux impliqués dans l'augmentation de la contraction myocardique. On a cherché à connaître l'identité de l'agent qui permet une hausse du travail cardiaque lors d'une augmentation de la PaO_2 (115). Mebazaa

et coll. (1993) et McClellan et coll. (1995) démontrent en utilisant un antagoniste du récepteur ET_A à l'endothéline (BQ-123) qu'une inhibition significative de l'augmentation de la contraction myocardique prend place lorsque la PaO_2 devient plus importante (86, 87). Ces auteurs identifient l'endothéline comme le médiateur responsable de l'effet augmentant la contraction myocardique lors d'une hausse de la PaO_2 . Un senseur myocardique régulant la sécrétion de l'endothéline par la cellule endothéliale réagit au variation de la PaO_2 myocardique (159). Lorsque la PaO_2 devient plus importante, la cellule endothéliale reçoit le message de sécréter plus d'endothéline, permettant une augmentation de la contraction myocardique. De façon similaire, une chute de la PaO_2 entraîne une diminution de la sécrétion endothéliale d'endothéline, produisant une chute de la contraction myocardique (159). De plus, il est proposé par Winegrad (1997) que d'autres médiateurs, comme le NO, peuvent être impliqués dans la régulation de la fonction cardiaque en fonction des variations de la PaO_2 . Ainsi, un système régulateur cardiaque, sensible aux variations de la PaO_2 , permet un contrôle spécifique en fonction des conditions locales (159).

En conclusion, bien que peu de travaux se soient intéressés à l'influence métabolique dans la modulation des fonctions cardiaques, les études de Weisberg et coll. (1963); Bacaner et coll. (1971) et Vogel et coll. (1982) rapportent que l'apport en O_2 module la fonction cardiaque. Différents facteurs, c'est-à-dire le débit, la valeur de l'hématocrite et la PaO_2 peuvent moduler l'apport en O_2 et ainsi changer la fonction cardiaque. Par ailleurs, Ramaciotti et coll. (1993) rapportent que la variation de la PaO_2 dans les vaisseaux coronariens stimule la libération de facteurs endothéliaux impliqués dans le contrôle des fonctions cardiaques. La PaO_2 régularise de façon locale la libération de facteurs endothéliaux (endothéline, NO et autres facteurs non-identifiés) afin de maintenir le niveau de contraction myocardique en fonction de l'apport en O_2 (159).

1.5 INFLUENCE CORONARIENNE ET MYOCARDIQUE DE MÉDIATEURS D'ORIGINE ENDOTHÉLIALE: LE NO, LES DÉRIVÉS DU CYTOCHROME P-450 ET DE LA CYCLOOXGÉNASE

1.5.1 NO synthase et NO

Contrôle du tonus coronarien

Au début des années 80, Furchgott rapporte que la couche interne des vaisseaux, l'endothélium, contribue de façon essentielle à l'action vasoactive de l'acétylcholine (43). Lorsque l'endothélium est endommagé, une stimulation à l'acétylcholine produit une vasoconstriction plutôt qu'une vasodilatation. Ce n'est que plus tard, en voulant identifier le médiateur issu de l'endothélium, permettant cette vasodilatation, que cet agent est désigné sous le vocable anglais, EDRF «endothelium-derived relaxing factor» (42). Aujourd'hui, le terme EDRF correspond à l'adénosine, à la prostacycline, à des métabolites de l'acide arachidonique et au NO (62). Ces médiateurs agissent sur le muscle lisse vasculaire et participent au contrôle du tonus. Toutefois, il faudra attendre environ 7 ans avant que l'EDRF soit identifié à un premier médiateur (105). Ainsi, à la fin des années 80, l'équipe de Moncada démontre que le NO est libéré par l'endothélium et constitue un médiateur de l'EDRF (105).

De multiples études sont réalisées afin de mieux caractériser l'action du NO sur la fonction cardiaque (76). La production de NO provient, entre autres, des cellules endothéliales qui tapissent l'intérieur des vaisseaux coronariens et de la paroi interne des ventricules (71, 129). Les cellules cardiaques et les cellules neuronales synthétisent aussi du NO (128). Un nombre considérable d'études ont démontré l'implication de ce médiateur dans la régulation de la fonction cardiaque. Le NO peut agir directement sur le muscle cardiaque en activant la voie du GMPc (74). Le NO peut aussi influencer indirectement la fonction cardiaque en modifiant le tonus vasculaire périphérique (4). Ainsi, le NO module la fonction cardiaque en produisant une chute de la pression artérielle par une diminution de la résistance

périphérique. De la même façon, une chute de la capacitance veineuse altère le retour veineux et conséquemment diminue le débit cardiaque. Le NO agit aussi sur le muscle lisse des vaisseaux coronariens et induit une augmentation de la perfusion coronarienne. Ces changements de perfusion influencent la contractilité et la relaxation myocardique via l'effet Gregg et les changements en apport en O_2 (4, 37). Dans la présente section, nous remontrons les observations issues des travaux effectués dans différents modèles se rattachant aux effets directs du NO sur la fonction cardiaque.

Changements de la contractilité cardiaque

Dans des cellules cardiaques isolées, il est démontré que la production de NO n'est pas importante pour le maintien de la contractilité (7). Néanmoins, le NO atténue l'effet inotrope positif de la stimulation β -adrénergique (7). De plus, l'effet répresseur des agonistes muscariniques sur la réponse inotrope positive de la stimulation β -adrénergique, semble impliquer l'action du NO (8). Ces résultats suggèrent donc un effet répresseur du NO sur la contraction cardiaque. Brady et coll. (1993) ont de même rapporté un effet inotrope négatif du NO. Dans une préparation de cellules endothéliales et cardiaques, le nitroprusside de sodium (NPS) ($10 \mu\text{M}$), un donneur de NO, atténue l'amplitude de la contraction (19).

Par ailleurs, une action biphasique en présence du NO est démontrée dans une étude sur des cellules cardiaques isolées (74) et sur le muscle papillaire de chat (92). Ainsi, un effet inotrope positif est observable en présence de $1 \mu\text{M}$ de NPS; tandis qu'à une concentration de $100 \mu\text{M}$ un effet inotrope négatif prend place (74, 92). Sachant que les donneurs de NO et les dérivés nitrés augmentent la production de GMPc, les travaux de Kodja et coll. (1996) ont permis de mieux caractériser le rôle du GMPc sur la contractilité. Une petite augmentation du GMPc peut inhiber la phosphodiesterase III, responsable de l'hydrolyse de l'AMPc. Ainsi, une meilleure contractilité est observée car l'AMPc n'est pas métabolisé. Une concentration plus élevée d'AMPc permet l'activation de la protéine kinase A qui entraîne la phosphorylation du canal calcique à la membrane plasmique (49). Ceci permet une plus grande entrée de Ca^{2+} à l'intérieur du cardiomyocyte et conséquemment une

accélération de la contraction myocardique (12) (Figure 1-3). À une concentration plus importante de GMPc, un effet inotrope négatif est induit. Cet effet s'explique par l'activation de la protéine kinase G qui diminue la sensibilité des myofilaments cardiaques au Ca^{2+} (109) (Figure 1-3). Brady et coll. (1993) et Shah et coll. (1991) ont aussi rapporté une détérioration de la contractilité en stimulant différemment la voie du NO (19, 134). Lorsque la bradykinine (BK) ($0,1 \mu\text{M}$), un stimulant de la production de NO, est incorporée à une préparation de cellules endothéliales et myocardiques, une détérioration significative de l'amplitude de contraction est observée (19). De plus, en présence d'un analogue du GMPc, le 8-bromo-cGMP, la contractilité des cellules ventriculaires isolées est diminuée (134).

L'influence du NO sur la contractilité est aussi étudiée dans le muscle papillaire isolé. En présence de NO exogène, la contractilité cardiaque est atténuée (90). Bien que ces résultats démontrent un effet inotrope négatif du NO, Brodie et coll. (1976) et Rodger et coll. (1984) n'ont pu observer, en présence de NPS, une influence significative sur la contractilité cardiaque (20, 118). D'autres auteurs ont rapporté un effet inotrope positif en présence d'une forte concentration de NPS (31). De plus, les études de Smith et coll. (1991), Shah et coll. (1991) et Kojda et coll. (1999) démontrent, dans une préparation de muscle papillaire isolé, un effet inotrope négatif en utilisant le SNAP (S-nitroso-N-acetyl-penicillamine) et la NTG (76, 134, 137). En présence de substance P, un stimulant de la production de NO endothéliale, un effet inotrope négatif, tributaire à une augmentation du GMPc, est aussi observé (137). Ces effets rapportés, en présence de substance P, sont supprimés lorsque l'endothélium est éliminé (137). Les analogues du GMPc, c'est-à-dire le 8-bromo-cyclic-GMP et l'atriopeptine III, produisent aussi une détérioration de la contractilité cardiaque (134). Enfin, une étude récente, dans un muscle papillaire de hamster, démontre un effet dépresseur du NO dans la réponse contractile associée à une stimulation électrique (38). Il est reconnu qu'un entraînement électrique cardiaque produit une hausse de la contractilité dans des cellules myocardiques de cochon d'Indes et de l'homme (49). Toutefois, chez le hamster il existe une relation négative entre la stimulation électrique et la contractilité des cellules cardiaques

(38). C'est-à-dire qu'une réduction de la contractilité cardiaque est observée plus la stimulation électrique du muscle papillaire est grande (38). L'ajout du L-NMMA, un antagoniste de la NO synthase, entraîne une augmentation de la tension développée par le muscle papillaire dans les mêmes conditions (38). Ceci suggère que le NO altère la fonction inotrope cardiaque. Finkel et coll. (1995) proposent que le NO agit sur le canal sensible à la ryanodine en diminuant la libération de calcium du réticulum sarcoplasmique (38).

L'influence du NO est aussi examinée dans des études effectuées *in vivo*. Kojda et coll. (1997) démontrent que le NO produit un effet inotrope positif et ce, en infusant une petite concentration de SNAP ($1\mu\text{M}$) dans les coronaires de cœurs de rats isolés (75). De plus, en bloquant la synthèse du NO, Kodja et coll. (1997) observent une détérioration de la contractilité cardiaque. Selon ces résultats, la synthèse endogène du NO est importante pour le maintien du niveau basal de la contractilité cardiaque. D'autres auteurs rapportent aussi une détérioration de la contractilité cardiaque en présence d'un antagoniste de la NO synthase (73, 161). Ils rapportent que la dépression cardiaque observée ne semble aucunement liée à une augmentation de la résistance vasculaire systémique. Zappellini et coll. (1997) ont infusé dans la veine fémorale du NPS après avoir observé une chute de la contractilité en présence d'un inhibiteur de la NO synthase. Le NPS est associé à une amélioration de la contractilité. Par ailleurs, lorsque l'iloprost, un analogue de la prostacycline (PGI_2), est infusé, des changements hémodynamiques similaires à ceux observés avec le NPS sont observés, tandis que la fonction cardiaque demeure réduite. De la même façon, Klabunde et coll. (1991) comparent l'effet du NMA, un inhibiteur de la NO-synthase, avec celui d'un agoniste α -adrénergique, la phényléphrine. Le NMA induit une vasoconstriction moins importante que la phényléphrine tandis que l'effet inotrope négatif est beaucoup moins marqué en présence de l'agoniste α -adrénergique.

Chez l'homme, on a étudié l'influence des dérivés nitrés sur la contractilité cardiaque. Hood et coll. (1980) infusent de la NTG intra-coronarienne et ils

observent une dilatation significative des coronaires, une augmentation de la fréquence cardiaque et une hausse de la contractilité (dp/dt max) sans aucun changement de pression et du volume ventriculaire gauche (57). Ainsi, ces auteurs concluent que les effets cardiaques produits par la NTG sont attribuables à des effets indirects périphériques. Par contre, Strauer et coll. (1978) ont observé un effet direct de la NTG sur la contractilité cardiaque (139). Afin d'éviter les effets systémiques de la NTG, ils adoptent une approche expérimentale différente. En contrôlant la fréquence cardiaque, la pression télédiastolique et la post-charge ils démontrent que les dérivés nitrés induisent directement une augmentation de la contraction cardiaque.

Changements de la relaxation myocardique

On constate à la lecture des études précédentes que le NO ne possède pas d'effet clairement défini sur la contractilité cardiaque. Par ailleurs, la contractilité n'est pas la seule fonction cardiaque modulée par le NO. Il est aussi rapporté que le NO améliore la relaxation myocardique (21, 50, 107, 108, 113, 135).

En présence de NPS, on observe une amélioration de la relaxation myocardique (50). Cette modification de la relaxation se manifeste sans changement de la contractilité. De plus, cet effet ne semble pas être tributaire d'un effet indirect vasodilatateur. Afin de vérifier l'action directe du NO sur la relaxation myocardique, Grocott-Masson et coll. (1994) ont utilisé un antagoniste des canaux calciques, la nicardipine, un vasodilatateur qui possède un mécanisme d'action indépendant du GMPc (50). Ils ont démontré que la nicardipine induit une augmentation du débit coronarien sans toutefois engendrer de changement de la relaxation myocardique. De plus, l'action du NO sur la relaxation myocardique est inhibée lorsque l'hémoglobine, un capteur de NO, est infusée (50). Le NO d'origine exogène agit directement sur les cardiomyocytes et améliore la relaxation myocardique sans modifier la fonction systolique.

Dans une préparation de muscle papillaire, le NO sécrété par l'endocarde augmente le GMPc et accélère la relaxation myocardique (134, 137). Ainsi, le GMPc semble jouer un rôle important dans la régulation du cycle contractile myocardique. Smith et coll. (1991); Shah et coll. (1991) et Grocott-Masson et coll. (1994) observent que le GMPc influence plus spécifiquement la phase diastolique en permettant à la relaxation de prendre place plus tôt sans démontrer de changement significatif lors de la phase systolique. Shah et coll. (1994) ont alors tenté d'élucider le ou les mécanisme(s) intracellulaire(s) expliquant l'effet du NO lors de la relaxation myocardique (133). Dans une préparation de cardiomyocytes, le 8-bromo-cGMP (un donneur de NO) atténue la sensibilité des myofilaments au Ca^{2+} (133). Il est démontré que le GMPc, en stimulant la protéine kinase G, diminue l'entrée de Ca^{2+} à l'intérieur des cardiomyocytes (88). Il est aussi rapporté que le GMPc diminue l'entrée de Ca^{2+} à l'intérieur des cardiomyocytes, en stimulant la phosphodiesterase III responsable de l'hydrolyse de l'AMPc (39). Toutefois, Shah et coll. (1994) observent aucun changement de Ca^{2+} intra-cellulaire en présence d'une diminution de la tension diastolique, suggérant que d'autres mécanismes expliquent cet effet. Shah et coll. (1994) proposent donc une désensibilisation des myofilaments cardiaques au Ca^{2+} via la protéine kinase G. L'activation de la protéine kinase G, suite à l'augmentation du GMPc, phosphoryle le même site sur la troponine I que celui phosphorylé par la protéine kinase A (16, 81). Ainsi, la phosphorylation de la troponine I par la protéine kinase A ou G diminue l'affinité du Ca^{2+} pour la troponine C et favorise la relaxation myocardique (56) (FIGURE 1-3).

L'effet direct du NO sur la fonction lusitrope est rapporté dans des études initiées chez l'homme (107, 108). Après avoir infusé du NPS, à de faibles concentrations, une accélération de la relaxation myocardique, une plus grande distension diastolique de la chambre ventriculaire et une baisse de la pression télésystolique ont été observées (108). Des résultats similaires ont été rapportés par Paulus et coll. (1995) après une infusion intra-coronarienne de substance P (107). Ils signalent aussi une chute précoce et plus rapide de la pression ventriculaire, sans variation de

la pression systolique maximale. Plusieurs explications sont proposées pour ces effets du NO.

Selon Paulus et coll. (1994), (1995) les effets cardiaques associés à l'infusion du NPS et de la substance P ne sont pas secondaires à un effet vasodilatateur systémique. En administrant dans l'oreillette droite les mêmes doses de NPS ($\leq 4 \mu\text{g}/\text{min}$) ou de substance P ($20 \text{ pmol}/\text{min}$), aucun changement significatif des fonctions ventriculaires n'est observé. Il est aussi possible que l'infusion de NPS produit un engorgement du lit vasculaire coronarien. Toutefois, comme il est démontré dans l'étude de Resar et coll. (1993), une augmentation du volume coronarien engendre une diminution de la compliance diastolique et non une augmentation (117). On peut aussi émettre l'hypothèse que des changements de la PaO_2 et du débit coronarien peuvent être impliqués dans la modulation de la fonction cardiaque (108). Lors d'une hausse du débit coronarien et de la PaO_2 , la production de médiateurs endothéliaux augmentant la fonction cardiaque et/ou diminuant la fonction cardiaque peuvent être activés et induire des changements fonctionnels cardiaques (115). Ainsi, suite à l'augmentation du débit coronarien, la production de NO peut être augmentée, permettant sa diffusion dans le compartiment myocardique afin d'accélérer l'initiation de la phase de relaxation et diminuer la pression télédiastolique. Conséquemment, ces effets améliorent le remplissage ventriculaire et la perfusion sous-endocardique (108).

Les effets lusitropes positifs observés chez l'homme suggèrent aussi un effet direct du NO sur le compartiment myocardique. Le NO stimule la guanylate cyclase et la production du GMPc. Ce second messenger peut activer la protéine kinase G qui entraîne la phosphorylation de la protéine phospholambane (107). Cette protéine régulatrice du canal SERCA (Sarcoplasmic endoplasmic reticulum calcium ATPase) est responsable de l'entrée du Ca^{2+} dans le réticulum sarcoplasmique. Ainsi, lorsqu'elle est phosphorylée, une quantité plus importante de Ca^{2+} est séquestrée à l'intérieur du réticulum sarcoplasmique, produisant une amélioration de la relaxation myocardique (114) (Figure 1-3). De façon similaire, il est observé que l'augmentation de l'AMPc par le NO active la protéine kinase A qui entraîne aussi la phosphorylation de la phospholipide, permettant ainsi une augmentation de la

recapture du Ca^{2+} et par conséquent une meilleure relaxation myocardique (114) (Figure 1-3).

En conclusion, plusieurs études se sont intéressées à l'influence du NO sur la contraction et la relaxation myocardique. Les résultats obtenus nous permettent de constater que le NO est important dans la régulation de la fonction cardiaque. Toutefois, l'influence du NO sur la contraction cardiaque est très contradictoire. Comment expliquer ces divergences? Les concentrations d'inhibiteurs de la NO synthase et les concentrations de NO exogène sont très variables et même souvent non-physiologiques. De plus, les conditions expérimentales et les modèles utilisés sont souvent très différents et peuvent s'éloigner beaucoup des conditions physiologiques. Malgré cela, Grocott-Mason et coll. (1994); Shah et coll. (1994); Paulus et coll. (1994); Paulus et coll. (1995) et Prendergast et coll. (1997) dans différents modèles expérimentaux et différentes espèces, en utilisant des doses physiologiques, démontrent une influence uniforme du NO sur le cycle contractile. Cette influence semble être sélective pour la phase diastolique montrant uniquement un faible effet sur la pression systolique. De plus, il est observé que l'effet préférentiel du NO sur la phase de relaxation permet au cœur d'augmenter le remplissage ventriculaire dans certaines conditions, comme en présence de tachycardie (60). Lors d'une hausse excessive de la fréquence cardiaque, le débit coronarien devient pulsatile, ce qui augmente les forces de cisaillement sur la paroi endothéliale (60, 78). Ainsi, il y a plus de NO libéré au niveau endothélial. Le NO transige alors vers les cardiomyocytes afin d'améliorer le remplissage ventriculaire lors de la phase télédiastolique (60, 78). Au cours de l'exercice chez des chiens, une hausse très importante de la libération de NO est observé (152). Il est suggéré que cette plus grande production de NO participe aux adaptations cardiaques associées à l'entraînement aérobique.

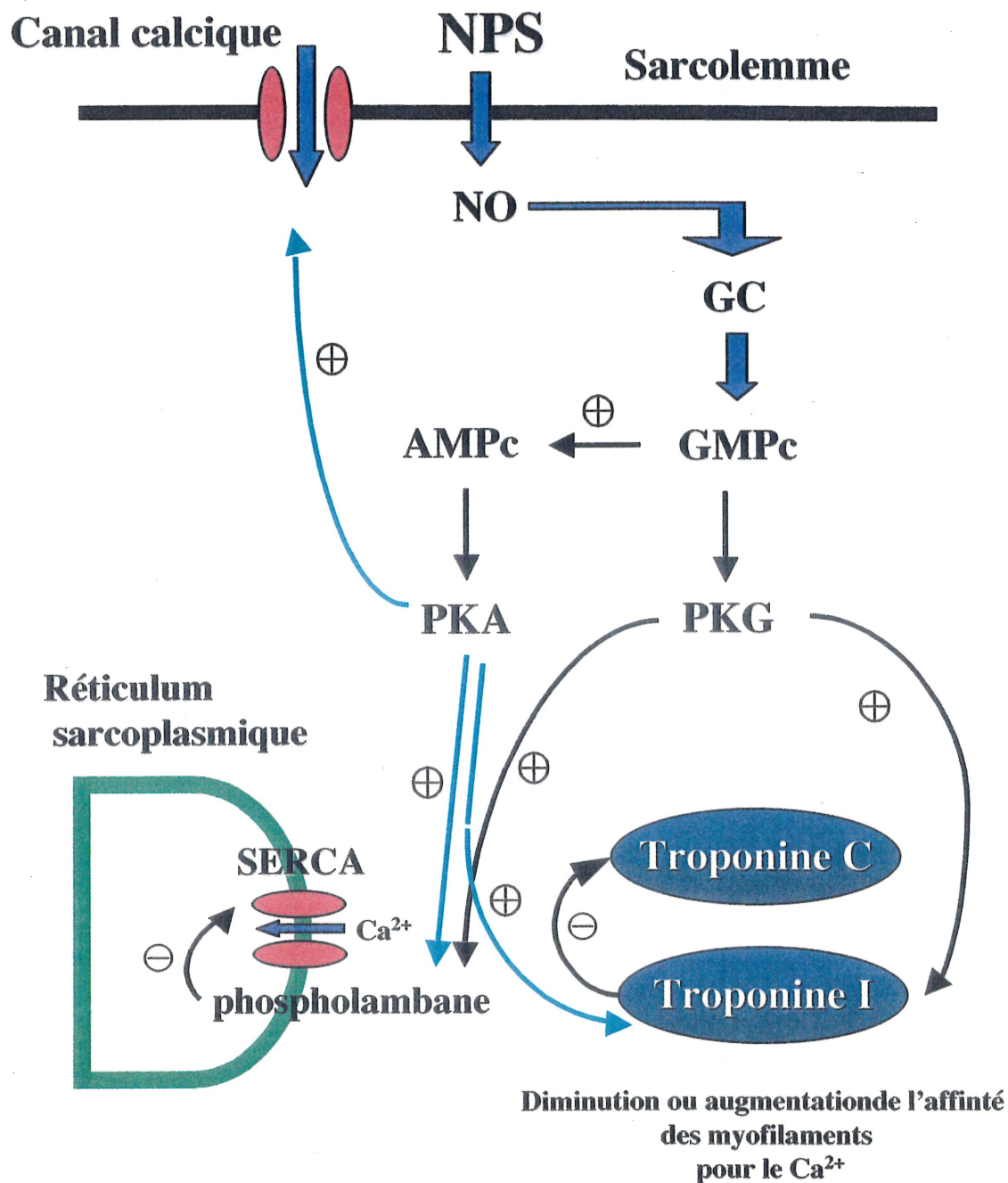


Figure 1-3 NO: Mécanismes intracellulaires sous-jacents à la modulation de la contraction et de la relaxation cardiaque

1.5.2 Dérivés du cytochrome P-450

Les cellules endothéliales vasculaires produisent différents facteurs relaxants (EDRF) impliqués dans le maintien du tonus vasculaire. Le NO et les prostaglandines sont parmi ces principaux médiateurs produits par l'endothélium. De plus, il est démontré que la relaxation du muscle lisse vasculaire est accompagnée d'une hyperpolarisation (18) et il est observé que ce phénomène est présent même en compagnie d'antagonistes de la NO synthase et de la cyclooxygénase (11, 96). Ces résultats suggèrent qu'un facteur encore mal défini participe à la vasodilatation dépendante de l'endothélium et ce, via une hyperpolarisation des cellules musculaires lisses (utilisée sous le vocable anglais EDHF: Endothelium Derived Hyperpolarizing Factor) (58).

Au cours des dernières années, on a cherché à expliquer l'hyperpolarisation du muscle lisse vasculaire en présence d'une vasodilatation dépendante de l'endothélium. La conduction électrique est proposée comme explication de l'hyperpolarisation du muscle lisse vasculaire (10, 151). Selon ces auteurs, l'hyperpolarisation consiste en un phénomène électrique qui se propage des cellules endothéliales aux cellules musculaires lisses. Toutefois, il s'est avéré impossible de démontrer que la conduction électrique s'effectue entre les deux types cellulaires. Il est aussi proposé que le NO et les dérivés prostanoïdes hyperpolarisent le muscle lisse vasculaire (106, 136) mais les concentrations de NO nécessaires pour créer une hyperpolarisation du muscle lisse vasculaire sont très élevées et non-physiologiques (26). De plus, il est peu probable que le NO et les prostaglandines soient impliqués compte tenu du fait que l'hyperpolarisation est observable en présence d'antagonistes du NO et des prostaglandines (11, 96). L'utilisation des antagonistes des canaux K^+ suggère que ceux-ci participent à l'hyperpolarisation des cellules musculaires lisses. Campbell et coll. (1996) rapportent, dans une préparation de coronaires isolées, une atténuation significative de la relaxation et de l'hyperpolarisation en présence de tétraéthylammonium, un inhibiteur des canaux K^+ dépendant du calcium (23). Par ailleurs, en présence de glibenclamide, un inhibiteur

des canaux K^+ ATP-dépendant, aucun changement sur la relaxation et l'hyperpolarisation n'est observé (54). Ces résultats suggèrent que l'EDHF n'implique que l'activation des canaux K^+ dépendant du calcium.

D'autres hypothèses sont fournies pour expliquer l'hyperpolarisation du muscle lisse vasculaire en présence d'une vasodilatation dépendante de l'endothélium (26). Parmi les hypothèses proposées, les dérivés du métabolisme du cytochrome P-450 sont considérés comme des médiateurs impliqués dans l'action de l'EDHF (Figure 1-4). Les dérivés du cytochrome P-450 (EETs) sont produits par les cellules endothéliales (110) et peuvent activer les canaux K^+ (23, 54). Weintraub et coll. (1997) rapportent une potentialisation de la relaxation induite par la BK lorsque des EETs (11,12 EET et 14,15 EET) sont incorporés dans une préparation d'anneaux de coronaires (156). Campbell et coll. (1996) observent aussi une relaxation après avoir appliqué des dérivés du cytochrome P-450 dans une préparation de coronaires de bœuf. De plus, après avoir bloqué les canaux K^+ dépendant du calcium avec du tétraéthylammonium et de la charybdotoxine, Campbell et coll. (1996) observent une atténuation significative de la relaxation induite par les dérivés du cytochrome P-450. Dans une étude d'électrophysiologie sur des cellules musculaires lisses coronariennes, Campbell et coll. (1996) rapportent qu'un traitement avec des 14,15-EETs augmente l'ouverture de canaux K^+ . Cette augmentation de l'activité des canaux K^+ est inhibée lorsque le TEA, un antagoniste des canaux K^+ dépendant du calcium est ajouté à la préparation, suggérant que les dérivés EETs hyperpolarisent la cellule via l'ouverture canaux K^+ dépendant du calcium (23). Les EETs semblent donc importants dans l'activation des canaux K^+ dépendant du calcium. Par ailleurs, il est aussi proposé que ces dérivés du cytochrome P-450 induisent une stimulation autocrine sur la cellule endothéliale (9). Ainsi, en activant les canaux K^+ dépendant du calcium endothéliaux, les EETs participent à l'hyperpolarisation de la membrane et à son activation cellulaire (9).

Bien que les résultats exposés précédemment démontrent l'implication des EETs dans l'action de l'EDHF, Fukao et coll. (1997) n'accordent pas un rôle majeur aux

EETs dans l'hyperpolarisation du muscle lisse de l'artère mésentérique induite par l'acétylcholine (41). Premièrement, Fukao et coll. (1997) observent une inhibition de l'hyperpolarisation induite par l'acétylcholine en présence de SKF525A, un antagoniste du cytochrome P-450. Deuxièmement, Fukao et coll. (1997) rapportent que le SKF525A bloque l'hyperpolarisation du muscle lisse vasculaire induit par le pinacidil, un activateur non-spécifique des canaux K^+ . Ainsi, comme Edwards et coll. (1996) et Zygmunt et coll. (1996) le démontrent, il est possible que l'action du SKF525A soit non-spécifique au cytochrome P-450, suggérant une inhibition des canaux K^+ par le SKF525A (35, 162). Troisièmement, le 17-ODYA, un autre inhibiteur du cytochrome P-450, ne produit aucun changement de l'hyperpolarisation induite par l'acétylcholine. Quatrièmement, ils observent que le ETYA (l'acide eicosatétraénoïque) qui inhibe toutes les voies métaboliques de l'acide arachidonique, ne bloque pas l'hyperpolarisation de l'artère mésentérique induite par une concentration de 10 μ M d'acétylcholine. Finalement, Fukao et coll. (1997) rapportent qu'une incorporation d'acide arachidonique ne produit aucun effet sur le potentiel membranaire de cellules musculaires lisses. Ainsi, l'étude de Fukao et coll. (1997) permet de constater que les EETs ne jouent pas un rôle prépondérant dans l'hyperpolarisation de l'artère mésentérique induite par l'acétylcholine. Toutefois, les inhibiteurs du cytochrome P-450 peuvent bloquer l'ouverture des canaux K^+ produite lors de l'hyperpolarisation du muscle lisse vasculaire mésentérique (41).

D'autres auteurs ont aussi étudié le phénomène en bloquant la synthèse endogène des EETs. En présence d'inhibiteurs du cytochrome P-450 Hecker et coll. (1994); Campbell et coll. (1996) démontrent que l'hyperpolarisation, induite par la bradykinine et la méthacholine, associée à la relaxation coronarienne dans un modèle de vaisseau isolé est significativement atténuée. De même, en utilisant deux inhibiteurs du cytochrome P-450, le clotrimazole et le 17-octadécynoïque, Widmann et coll. (1998) démontrent, dans des artérioles épicaudiques de chien ($< 100 \mu$ m), que la vasodilatation induite par l'ACh est partiellement tributaire des métabolites du cytochrome P-450. Toutefois, l'utilisation du SKF525A (proadifen), un

inhibiteur du cytochrome P-450, démontre aucune implication des EETs dans le phénomène d'hyperpolarisation de cellules musculaires lisses (3, 35, 162). Selon Alvarez et coll. (1992) le SKF525A inhibe les canaux K^+ dépendant du calcium. Comme nous l'avons exposé précédemment, Fukao et coll. (1997) rapportent aussi que l'effet répresseur du SKF525A sur l'EDHF ne s'explique pas seulement par l'inhibition de la synthèse des EETs mais aussi par une inhibition non-spécifique des canaux K^+ . Enfin, il est important d'observer que les travaux qui signalent une inhibition des canaux K^+ par le SKF 525A, sont effectués dans l'artère mésentérique (147), l'artère hépatique (162) et la veine porte (35). Aucune étude n'a démontré, jusqu'à présent, dans le territoire coronarien, une inhibition des canaux K^+ en présence de SKF525A.

Les changements de la perfusion vasculaire pourraient expliquer l'hyperpolarisation du muscle lisse vasculaire. Ainsi, dans des coronaires de porc une hyperpolarisation du muscle lisse vasculaire en présence d'une vasodilatation dépendante de l'endothélium est observable en réponse aux forces de cisaillement (shear stress) (111). Takamura et coll. (1999) démontrent que l'EDHF, induit par les forces de cisaillement, est important dans la relaxation dépendante de l'endothélium. Selon ces auteurs, les dérivés du cytochrome P-450 ne sont pas responsables de l'hyperpolarisation du muscle lisse vasculaire, par contre les canaux K^+ dépendant du calcium y sont impliqués (141).

En conclusion, l'hyperpolarisation du muscle lisse vasculaire en présence d'une vasodilatation dépendante de l'endothélium reste encore mal comprise. Le NO, les dérivés prostanoïdes et un couplage électrique myoendothélial sont proposés comme facteurs hyperpolarisants dépendants de l'endothélium. Il est démontré que les dérivés du cytochrome P-450 sont impliqués dans l'hyperpolarisation induite lors d'une vasodilatation dépendante de l'endothélium (23, 156). Cette hyperpolarisation du muscle lisse vasculaire semblent être reliée à l'activation des canaux K^+ dépendant du calcium. L'utilisation d'inhibiteurs du cytochrome P-450 permet aussi d'observer l'implication endogène des EETs dans l'hyperpolarisation du muscle

lisse coronarien. De plus, il est rapporté dans des cellules isolés de thymus, l'artère mésentérique, la veine porte et l'artère hépatique de rat que des inhibiteurs du cytochrome P-450 peuvent inactiver les canaux K^+ (3, 35, 41, 162). Ainsi, les résultats obtenus avec des inhibiteurs du cytochrome P-450, dans ces types de vaisseaux, sont plus difficiles à interpréter car ils interfèrent au niveau du muscle lisse et au niveau du cytochrome P-450. Toutefois, cette interaction entre les inhibiteurs du cytochrome P-450 et les canaux K^+ n'est pas observée dans les vaisseaux coronariens. Finalement, il se peut, suite aux travaux portant sur le compartiment vasculaire, que les dérivés époxyeicosatriénoïques, présents au niveau coronarien, modulent la contractilité et la relaxation myocardique.

1.5.3 Dérivés de la cyclooxygénase

Contrôle du tonus coronarien

Dans une préparation d'artère coronaire de bœuf isolé, Kalsner et coll. (1975) observent que les dérivés de la cyclooxygénase sont importants pour le maintien du tonus coronarien (66). Selon ces auteurs, la prostaglandine E_1 (PGE_1) synthétisée dans la paroi vasculaire coronarienne agit comme vasodilatateur endogène. On démontre, dans plusieurs espèces et chez l'homme, que la prostacycline (PGI_2) à faibles concentrations induit une chute de la résistance coronarienne (34, 97, 99). Schrör et coll. (1976) observent aussi, dans le cœur isolé et perfusé de cochon d'Indes, que l'indométhacine, un antagoniste de la cyclooxygénase, augmente de façon significative la résistance coronarienne (126). Dans ce modèle, en infusant la prostaglandine E_2 (PGE_2), les auteurs rapportent que l'effet induit par l'indométhacine est supprimé. L'augmentation de la résistance coronarienne associée à l'indométhacine a été observée par le groupe de Hintze et coll. (1977) (55). Selon leurs résultats, l'indométhacine diminue d'environ 15% le débit coronarien chez le chien. Cependant, il n'est pas démontré que la PGI_2 module la perfusion coronarienne chez l'homme (125).

Les études de Kalsner et coll. (1975); Dusting et coll. (1977); Needleman et coll. (1977); Ogletree et coll. (1980) et Schrör et coll. (1976) observent que les prostaglandines de type E et I₂ produisent une vasodilatation du territoire coronarien. Toutefois, d'autres auteurs n'ont pu obtenir les mêmes conclusions. Needleman et coll. (1975) et Block et coll. (1975) rapportent que la production de dérivés prostanoides dans les coronaires de lapin est négligeable. Selon eux, ceci explique pourquoi l'indométhacine n'altère pas le contrôle du tonus coronarien. Hintze et coll. (1977) rapportent aussi que l'indométhacine ne produit pas d'effet substantiel sur le tonus basal coronarien. Il est possible que certains facteurs comme la durée et les traumatismes de l'expérimentation stimulent, dans certains cas, la synthèse de prostaglandines (15). Ceci peut expliquer pourquoi dans l'étude de Hintze et coll. (1977) on rapporte un effet des dérivés de la cyclooxygénase sur le tonus coronarien.

Changements de la contractilité cardiaque

Les eicosanoïdes représentent une famille de plus de 100 médiateurs qui possèdent de nombreuses activités biologiques. Au cours des dernières décennies on a rapporté que ces médiateurs modulent la contractilité cardiaque (68, 125, 127, 148). Parmi les eicosanoïdes, les dérivés de la cyclooxygénase (Figure 1-4) sont des médiateurs pouvant être synthétisés au niveau cardiaque (80, 98). Le muscle lisse vasculaire coronarien est aussi proposé comme un site important de leur synthèse. De plus, Moncada et coll. (1977) rapportent que les cellules endothéliales des vaisseaux coronariens isolés peuvent être un site potentiel de synthèse des dérivés de la cyclooxygénase (94). En opposition, Schrör (1988) rapportent que les dérivés de la cyclooxygénase pouvant moduler les fonctions du cœur sont d'origine extra cardiaque. Selon lui, les cellules cardiaques possèdent une capacité limitée pour la synthèse de ces dérivés. Ainsi, l'importance des dérivés de la cyclooxygénase endogène dans la régulation des fonctions cardiaques est peu importante. Toutefois, les prostaglandines exogènes démontrent une influence significative sur la fonction inotrope cardiaque (68, 127, 148).

Il est bien connu que l'augmentation de l'AMPc dans le tissu cardiaque est associée à un effet inotrope positif. Les catécholamines, en activant les récepteurs β -adrénergiques, augmentent l'AMPc et améliorent la contractilité cardiaque. De façon similaire, les prostaglandines augmentent la contractilité myocardique en stimulant la synthèse de l'AMPc (148). Selon Lopaschuck et coll. (1989) les prostaglandines de type E possèdent leurs propres sites de liaison sur la membrane plasmique (82). Toutefois, il semble que les catécholamines endogènes participent à cette action car l'inhibition des récepteurs β -adrénergiques élimine l'effet inotrope positif induit par les prostaglandines (148).

Il est rapporté dans des préparations cellulaires de rats, que les prostaglandines exogènes augmentent la contractilité cardiaque (27, 29, 103, 148). Vapaatalo et coll. (1978) démontrent qu'à la concentration de 100 μ M, la PGE₁ augmente la contraction myocardique (148). Otani et coll. (1988) rapportent que la PGF_{2 α} (EC₅₀: < 0,1 μ M) induit aussi un effet inotrope positif (103). De plus, l'addition d'acide arachidonique entraîne une augmentation de la contractilité cardiaque et cet effet est inhibé en présence d'indométhacine (103). Ces données suggèrent donc que les dérivés de la cyclooxygénase ont un effet inotrope positif. Cependant Das et coll. (1983) rapportent, dans une préparation de cellules cardiaques de rats, un effet inotrope négatif en présence de PGI₂ (> 1 nM) et PGE₂ (> 0,1 μ M). Finalement, Couttenye et coll. (1985) n'observent pas, dans des cellules cardiaques isolés, d'effet inotrope en présence de PGI₂, PGE₁ ou de PGE₂. Des controverses sur l'influence des prostaglandines sur l'effet inotrope existent aussi dans des études d'électrophysiologie (2, 59). Selon Alloatti et coll. (1991) la PGI₂ augmente le courant calcique dans les canaux calciques de type L. Ces résultats suggèrent qu'une concentration élevée de PGI₂ (> 0,5 μ M) est associée à un effet inotrope positif. Par contre, Huang et coll. (1991) démontrent que la PGI₂ inhibe le courant calcique des canaux L.

Les prostaglandines produisent des effets variables dans le cœur isolé perfusé. Une amélioration de la contractilité cardiaque est observée en présence de PGE₁ dans des cœurs de rats et de cochon-d'Indes (14, 83). Cependant un effet inotrope négatif est produit en présence d'une concentration se situant entre 0,28 nM et 0,28 μM (68). Le modèle de cœur perfusé constitue un modèle expérimental où le territoire coronarien et le territoire myocardique sont isolés des influences périphériques. Ainsi, il a été proposé que les effets inotropes produits en présence de prostaglandines ne correspondent pas à un effet direct sur le tissu cardiaque. Selon Schrör et coll. (1992) les effets inotropes de la PGI₂ dans les cœurs isolés de rats sont attribuables à un effet indirect en provenance des vaisseaux coronariens (127). Ceci reste toutefois à démontrer.

Selon Karmazyn et coll. (1979) les concentrations de prostaglandines utilisées dans de nombreuses expériences sont non-physiologiques. Ceci explique les nombreuses contradictions. Ces auteurs rapportent que les prostaglandines peuvent induire des effets cardiaques, variables selon les concentrations utilisées. En présence d'une faible concentration de PGI₂, la résistance coronarienne et la contractilité cardiaque sont augmentées. Par ailleurs, en présence d'une concentration plus importante de PGI₂, la résistance coronarienne et la force de contraction cardiaque sont réduites. Ils rapportent aussi que la PGD₂ et la PGF_{2α} augmentent la pression de perfusion coronarienne et induisent un effet inotrope positif. Dans ce cas, l'augmentation de la pression de perfusion coronarienne serait tributaire des forces de compressions extravasculaires induites par l'augmentation de la contractilité cardiaque. Néanmoins, des changements au niveau du territoire coronarien peuvent influencer la contractilité cardiaque (127). Selon Schrör et coll. (1992) l'augmentation de la pression de perfusion coronarienne peut produire un étirement des fibres cardiaques (Garden-Hose effect), ce qui entraîne une hausse de la contractilité cardiaque (127). Malgré cela, il est possible que les effets coronariens et myocardiques rapportés en présence de dérivés de la cyclooxygénase soient indépendants les uns des autres. Afin d'appuyer cette affirmation, Dhalla et coll. (1970) rapportent qu'une augmentation de la contractilité cardiaque peut se

manifester sans être associée à des changements au niveau du territoire coronarien (30).

La complexité de l'action des prostaglandines tient aussi au fait que les prostaglandines peuvent modifier les effets cardiaques attribués à d'autres prostaglandines. Karmazyn et coll. (1979) ont étudié l'interaction des prostaglandines PGD_2 , PGE_1 , PGE_2 , $\text{PGF}_{2\alpha}$ et PGI_2 à différentes concentrations. Les résultats indiquent que certaines prostaglandines modifient l'effet inotrope induit par une autre prostaglandine. Par exemple, la prostaglandine PGE_2 seule n'induit aucun effet inotrope, tandis que la prostaglandine PGD_2 , augmente la contraction cardiaque à une concentration de 0,28 nM. L'infusion de PGD_2 en présence de PGE_2 , inhibe la contraction cardiaque.

Enfin, il est suggéré que les prostaglandines interviennent dans la modulation de la contractilité en influençant l'action du calcium. Les prostaglandines peuvent se lier à des sites spécifiques sur les protéines contractiles et de ce fait augmenter ou diminuer l'affinité du calcium pour la troponine C. Les résultats de Karmazyn et coll. (1979) suggèrent que l'action synergique de certaines prostaglandines peut stimuler la fixation d'une prostaglandine à son site et ainsi amplifier la sensibilité des protéines contractiles au calcium (68). De la même façon, certaines prostaglandines peuvent bloquer le site de liaison d'une autre prostaglandine et empêcher cette dernière d'influencer la fixation du calcium à la troponine C (68).

Changements de la relaxation myocardique

Jusqu'à aujourd'hui, une seule étude s'est intéressée à l'influence des dérivés de la cyclooxygénase sur la relaxation myocardique (89). Ce sont Metsä-Ketelä et coll. (1981) qui observent une modulation inotrope en présence de prostaglandines (50 μM) au niveau auriculaire. Sachant que l'AMPC est le second messager augmenté en présence de prostaglandines (148), Metsä-Ketelä et coll. (1981) se sont intéressés à l'effet inotrope induit par les prostaglandines $\text{PGF}_{2\alpha}$, PGE_2 , PGE_1 et PGI_2 . La $\text{PGF}_{2\alpha}$

démontre le plus grand effet inotrope. Par la suite, la PGE₂ et finalement la PGE₁ et la PGI₂ démontrent l'effet inotrope positif le moins important. Toutefois, leur capacité à augmenter le niveau intra-cellulaire d'AMPc n'est pas reliée à leur capacité inotrope (89). Contrairement aux résultats attendus, les prostaglandines I₂ et E₁ augmentent de façon significative l'AMPc. Ces observations suggèrent que l'AMPc ne constitue pas le second messenger impliqué dans l'effet inotrope positif de ces dérivés. Selon Metsä-Ketelä et coll. (1981) le PGF_{2α} et le PGE₂ augmentent la contractilité en activant un second messenger indépendant de l'AMPc. De plus, le faible effet inotrope positif produit par les prostaglandines E₁ et I₂ s'explique par une augmentation de la phase de relaxation du cycle contraction-relaxation. Il est démontré par Katz et coll. (1979) que l'AMPc accélère la pompe Ca²⁺ ATPase du réticulum sarcoplasmique et désensibilise les protéines contractiles au calcium (69). Ainsi, l'AMPc est associé au potentiel lusitrope et non au potentiel inotrope (89).

Toutes ces observations font en sorte qu'il est difficile de bien interpréter les effets cardiovasculaires des dérivés de la cyclooxygénase. Plusieurs techniques (in vitro/ex vivo/in vivo), différentes espèces, différentes prostaglandines et différentes doses sont utilisées. Bien que les prostaglandines influencent le fonctionnement du cœur, des travaux supplémentaires sont nécessaires pour bien comprendre leur rôle dans le dialogue entre le compartiment coronarien et le compartiment myocardique.

En conclusion, il existe des interactions entre le compartiment coronarien et myocardique. Ces interactions sont mal définies et on ne connaît pas complètement les mécanismes impliqués. Cette compréhension est importante du point de vue thérapeutique parce que les vasodilatateurs coronariens sont indispensables à l'amélioration de plusieurs pathologies cardiaques dont l'insuffisance cardiaque. De plus, des interactions médicamenteuses pourraient aggraver la dysfonction cardiaque tributaire d'une interaction entre le compartiment coronarien et le compartiment myocardique.

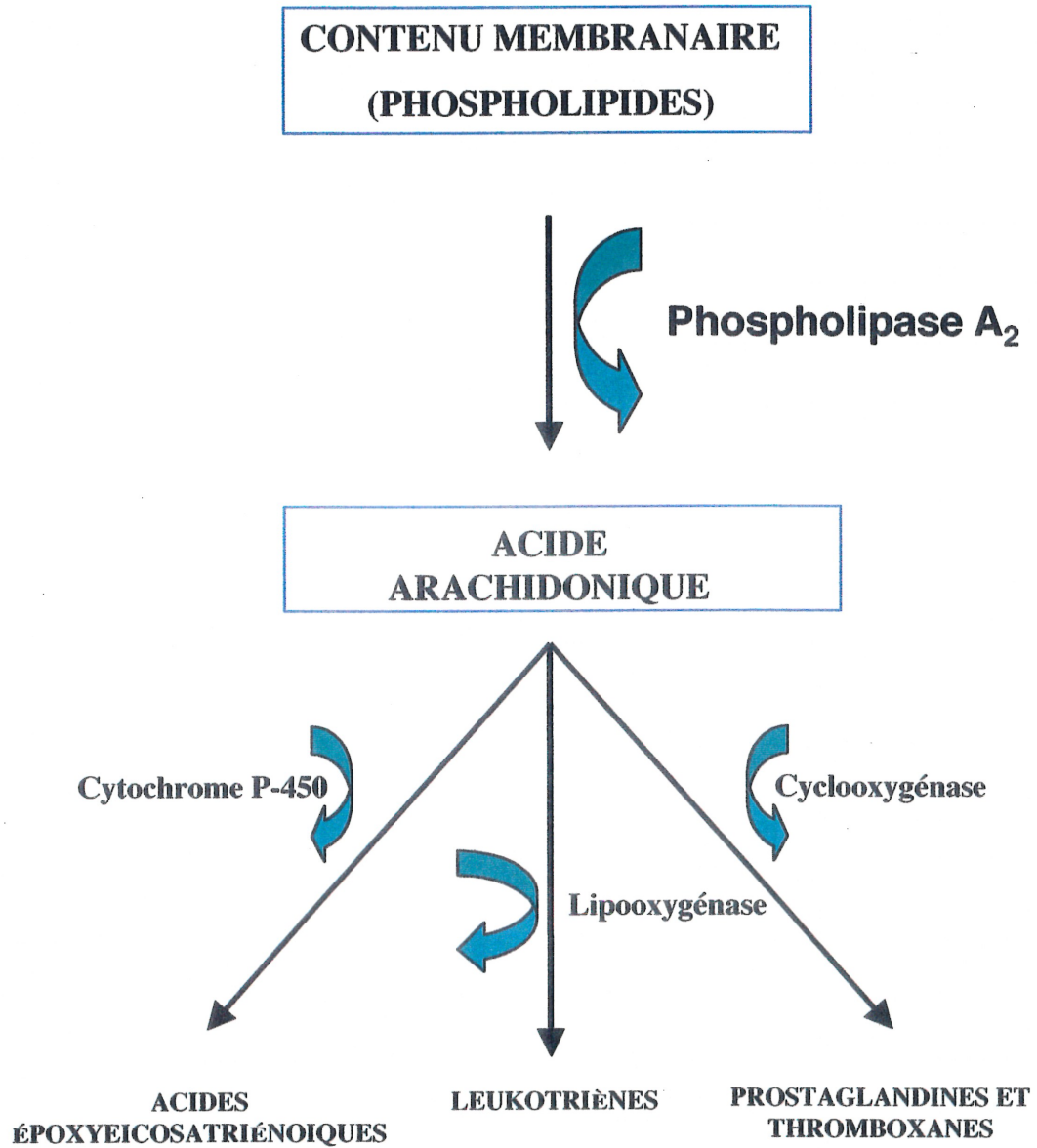


Figure 1-4 Dérivés du métabolisme de l'acide arachidonique

1.6 BUT DU PROJET DE RECHERCHE

Au cours des dernières décennies les chercheurs s'intéressant à la perfusion coronarienne ont constaté que l'activité mécanique des vaisseaux et les apports métaboliques constituent les facteurs les plus importants dans la régulation de la fonction cardiaque. Il est aussi proposé que des médiateurs endothéliaux sont stimulés lors d'une augmentation du débit coronarien modulent la fonction cardiaque. Il apparaît important de bien comprendre les bases de l'interaction entre le territoire coronarien et le myocarde pour pallier à l'aggravation de dysfonctions contractiles susceptibles de se manifester lors d'une hausse de la perfusion coronarienne.

Depuis la découverte du rôle fonctionnel de l'endothélium dans le maintien du tonus vasculaire, des évidences sont rapportées démontrant que des médiateurs endothéliaux transigent facilement vers le compartiment myocardique et modulent la fonction cardiaque. Ainsi, dans ce travail de recherche, nous avons émis l'hypothèse suivante: des médiateurs endothéliaux coronariens vasodilatateurs, libérés lors d'une augmentation du débit coronarien, participent à la modulation des réponses inotrope et lusitrope cardiaques secondaires au changement de la perfusion.

Afin de vérifier notre hypothèse, nous avons inhibé trois voies métaboliques (NO synthase, cytochrome P-450 et cyclooxygénase) impliquées dans la vasodilatation coronarienne. Par la suite, nous avons observé la modulation des fonctions inotrope et lusitrope cardiaques lors d'augmentations du débit coronarien.

À cette fin, des cœurs de hamsters syriens normaux âgés de >225 jours sont utilisés. La méthode de Langendorff (Figure 1-5) choisie dans ce travail permet d'observer l'influence du territoire coronarien sur la fonction myocardique. Cette technique permet aussi d'isoler le cœur de l'influence des éléments circulants, de l'innervation sympathique et parasympathique ainsi que de la pré- et de la post-charge. Les cœurs sont perfusés à débit constant en utilisant une solution Krebs-

Henseleit. La température et le pH sont maintenus à 37°C et à 7,4 respectivement. Les valeurs des pressions ventriculaires gauches (systolique, diastolique) et de la fréquence cardiaque sont enregistrées afin d'évaluer l'impact des variations du débit coronarien sur les fonctions inotrope et lusitrope cardiaques.

Le projet de recherche comporte deux parties (Figure 1-6). Dans un premier temps, après avoir stabilisé et effectué un enregistrement des données fonctionnelles de base, nous avons induit, à débit constant, une augmentation graduelle du débit coronarien (Δ mL/min= +2,+4,+6,+8,+10) afin d'en évaluer les effets sur les fonctions inotrope et lusitrope cardiaques. Dans un deuxième temps, nous avons évalué l'importance de trois systèmes enzymatiques d'origine endothéliale soit la NO synthase, le cytochrome P-450 et la cyclooxygénase lors d'une augmentation graduelle du débit coronarien. Pour se faire, nous avons infusé au niveau coronarien, durant 30 minutes, un antagoniste de la NO synthase (L-NAME), un antagoniste du cytochrome P-450 (SKF 525A) et un antagoniste de la cyclooxygénase (indométhacine). Nous avons ainsi tenté de déterminer le rôle des principaux médiateurs endothéliaux dans les réponses inotrope et lusitrope à une augmentation de débit coronarien.

Cette étude nous permettra de déterminer l'importance des médiateurs endothéliaux coronariens impliqués dans les modifications de la performance cardiaque. Enfin, une meilleure compréhension du rôle de l'endothélium coronarien dans les effets délétères cardiaques associés à une augmentation de la perfusion coronarienne constituera une base essentielle dans le développement d'agents thérapeutiques applicables à des conditions pathologiques cardiaques.

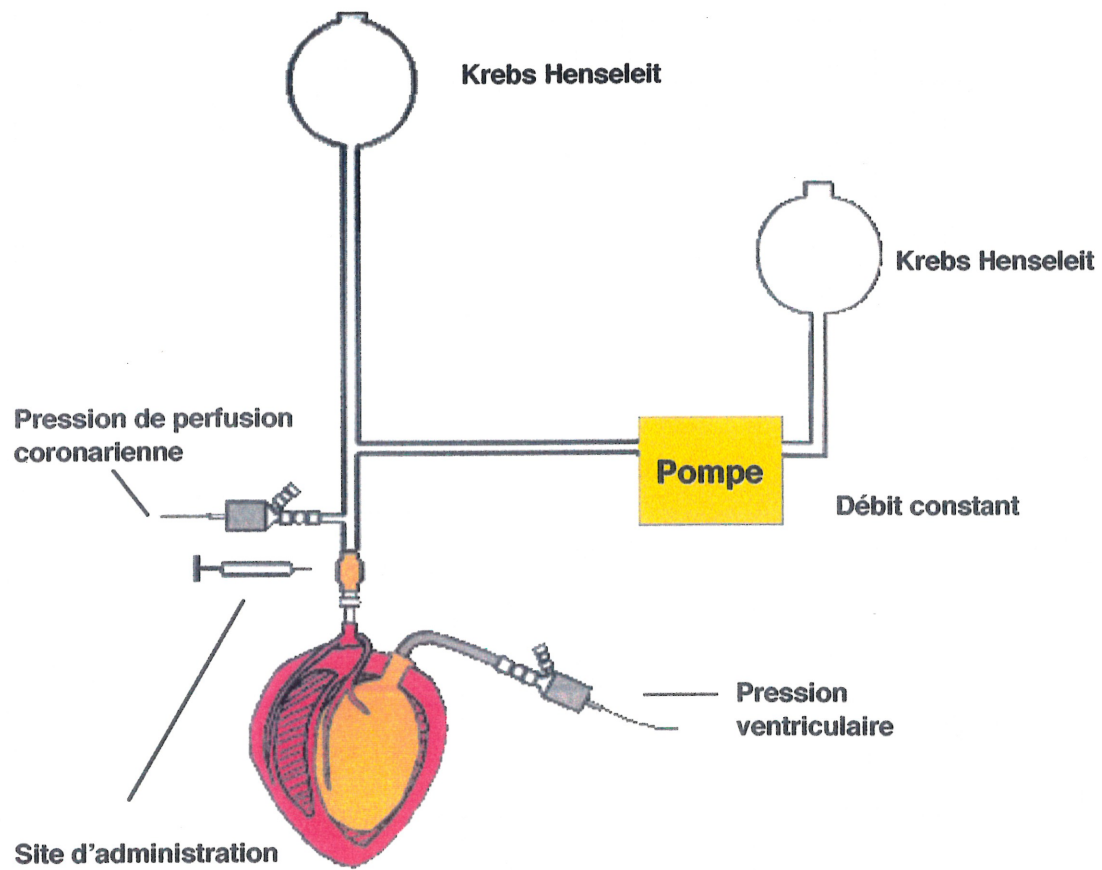


Figure 1-5 Montage du coeur isolé

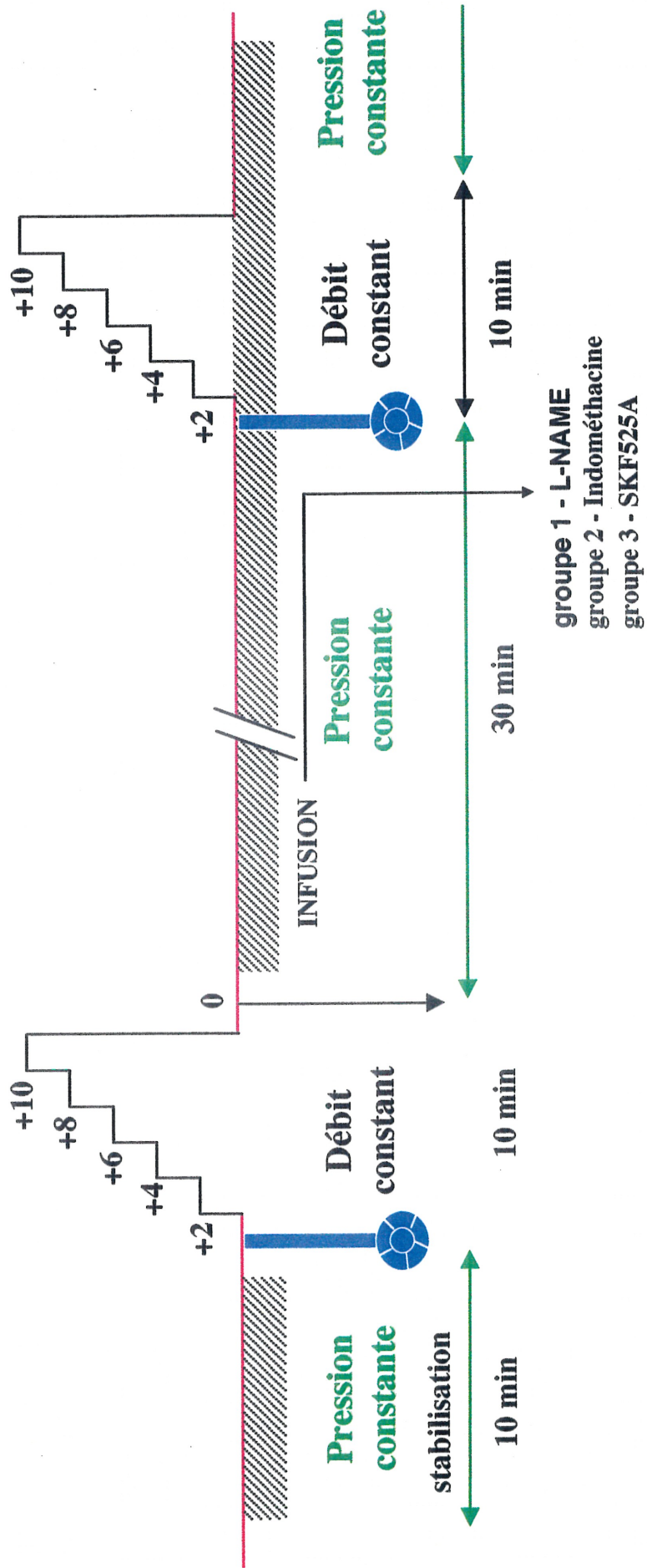


Figure 1-6 Protocole expérimental

CHAPITRE II

MANUSCRIT

Role of NO-synthase, cytochrome P450 and cyclooxygenase in the inotropic and lusitropic cardiac response to increased coronary perfusion in the isolated hamster heart model

P. Beaucage, J. Massicotte, G. Jasmin, and L. Dumont

**Départements de pharmacologie, de pathologie et biologie cellulaire, Faculté de médecine, Université de Montréal,
Montréal, QC, Canada H3C 3J7**

Short title: Increased coronary perfusion and myocardial function

Author to whom all correspondence should be addressed:

Louis Dumont, Ph.D.

Département de pharmacologie

Faculté de médecine, Université de Montréal

C.P. 6128, Succursale Centre-ville

Montréal, QC, Canada H3C 3J7

Tel: (514) 343-6341

Fax: (514) 343-2291

email: louis.dumont@umontreal.ca

ABSTRACT

While some studies have reported that an increase in coronary perfusion results in positive inotropic effects, the underlying mechanisms of these actions as well as the possible alterations in myocardial diastolic function are still not well defined. We hypothesized that nitric oxide, and derivatives of cytochrome P450 or cyclooxygenase might contribute to the interplay between coronary and myocardial compartments in presence of increased coronary perfusion. Using an isovolumically-contracting, isolated perfused hamster heart model, coronary flow was increased mechanically, stepwise in the physiological range (+2 to +10 ml/min), before and after inhibition of NO-synthase by L-NAME (30 μ M), cytochrome P450 by SKF525A (1 μ M) or cyclooxygenase by indomethacin (10 μ M). Coronary perfusion pressure, left ventricular systolic and diastolic pressures as well as heart rate were monitored continuously during the experiments. Mechanical increases in coronary flow resulted in a gradual change in coronary perfusion pressure (+20% to +100%), left ventricular systolic (+5% to +40%) and diastolic (+2% to +25%) pressure while heart rate was not affected. In the presence of L-NAME, the positive inotropic response and the negative lusitropic effect of coronary flow changes were similar. Exposure to SKF525A did not modify the cardiac response to mechanical increases in coronary flow. In the presence of the cyclooxygenase inhibitor, indomethacin, left ventricular systolic pressure rose to a level similar to that observed in control conditions while diastolic function was further deteriorated. These results suggest that mediators originating from NO-synthase, cytochrome P450 or cyclooxygenase do not contribute to the positive inotropic response elicited by increased coronary perfusion. However, cyclooxygenase derivatives appear to attenuate the impairment of myocardial relaxation observed in these conditions.

Key words: Coronary flow, contractility, relaxation, nitric oxide synthase, cytochrome P-450, cyclooxygenase.

INTRODUCTION

Salisbury et al. (1960) and Gregg (1963) were the first to report that an increase in coronary perfusion leads to enhanced cardiac performance. Following these early observations, now referred to as "Gregg's phenomenon", several studies with different experimental approaches have demonstrated that augmented coronary flow or perfusion pressure modulates the systolic (inotropic) and diastolic (lusitropic) function of the heart (Abel and Reis 1970; Templeton et al. 1972; Vogel et al. 1982; Resar et al. 1993; Iwamoto et al. 1994; Dijkman et al. 1996). Although several hypotheses have been put forward, the exact mechanisms involved in this phenomenon remain unclear.

One of the earliest explanations has been termed the "Garden Hose effect": increasing either coronary flow or pressure distends the coronary vessels, affecting myocardial fiber length and myocardial contractility by a Frank-Starling action (Salisbury et al. 1960; Arnold et al. 1968). Another explanation is that due to heterogenous blood flow distribution, local ischemia may occur in the myocardium, and an increase in coronary perfusion reduces the ischemic areas, resulting in better force of contraction (Bacaner et al. 1971). Apart from these explanations, Schouten et al. (1992) suggested that Gregg's phenomenon may derive from a direct change in myocardial contractility, either secondary to alterations in ionic composition, in interstitium volume, or the presence of endogenous inotropic factors.

Since endothelium-derived relaxing factors (EDRFs) play a major role in the control of coronary vascular tone and their production is augmented in the presence of increased coronary flow (shear stress), it has been postulated that EDRFs may influence cardiac function (Brutsaert et al. 1988; Wennmalm et al 1991; Ramaciotti et al 1993). Although several groups have investigated the importance of nitric oxide (NO) in the regulation of myocardial contraction, the results are still inconsistent: NO has been shown to either augment, decrease or play no role in the modulation of cardiac function (Brady et al. 1993; Crystal and Gurevicius 1996; Prendergast et al. 1997; Kojda and Kottenberg

1999). Similarly, NO influence on myocardial relaxation remains controversial (Grocott-Mason et al. 1994; Paulus et al. 1994). Indeed, apart from NO, studies have focused on the direct cardiac effects of other EDRFs, such as derivatives of cytochrome P450 and cyclooxygenase (Karmazyn et al. 1979; Schrör and Hohlfeld 1992; Cohen and Vanhoutte 1995). To the best of our knowledge, no detailed results of EDRFs influence on myocardial inotropic or lusitropic response to increased coronary perfusion are available.

In the present study, we investigated the impact of NO-synthase, cytochrome P450 and cyclooxygenase inhibition on the inotropic and lusitropic response to stepwise mechanical increases in coronary flow. To alleviate the confounding effects of blood circulating elements and indirect sympathetic or neurohumoral activation, we used an isovolumically-contracting, isolated hamster heart model. Coronary flow was increased mechanically, stepwise in the physiological range of +2 to +10 ml/min, with or without the presence of the NO-synthase inhibitor L-NAME, the cytochrome P450 inhibitor SKF525A or the cyclooxygenase inhibitor indomethacin. The results indicate that none of the three enzymatic systems studied contribute either to the positive inotropic or negative lusitropic responses observed with coronary flow increment. However, cyclooxygenase derivatives appear to protect against exaggerated impairment of myocardial relaxation under these conditions.

MATERIALS AND METHODS

Experimental model. The present study was performed on 32 normal Syrian hamsters (LVG, Charles River Canada Inc., St-Constant, QC, Canada), aged 225-250 days in accordance with guidelines on the care and use of experimental animals published by the Canadian Council on Animal Care (1993). The animals had free access to Purina laboratory chow and tap water. After cervical dislocation, the heart was excised, mounted on a perfusion system and perfused with modified Krebs-Ringer buffer consisting (in mM) of 119 NaCl, 4.8 KCl, 1.3 CaCl₂, 1.2 MgSO₄, 25 NaHCO₃ and 15

glucose. The buffer solution was kept saturated by a gas mixture (95% O₂ and 5% CO₂) with temperature being maintained at 37°C and pH at 7.4. Throughout the study, the heart was kept at 37°C by placing it in a temperature-controlled chamber. Since the experimental protocol required stepwise mechanical increases in flow, we choose a constant flow model as previously described (Fontaine et al. 1998) with a peristaltic pump (Model 325A, Sage Instruments, Cambridge, MA, USA). After stabilization, hemodynamic parameters were followed: coronary perfusion pressure (CPP), expressed in mmHg, was monitored with a pressure transducer (Model PX272, Baxter Corporation, Mississauga, Ont., Canada) placed on a side-arm of the perfusion line, left ventricular systolic (LVSP) and diastolic (LVDP) pressures (mmHg) were obtained with a saline-filled latex balloon inserted in the left ventricle via the atrium and connected to a pressure transducer (Model PX272, Baxter Corporation). Balloon volume was adjusted to maintain diastolic pressure at 10 mmHg, and this volume was kept constant for the duration of the experiment (constant load model). Heart rate (beats/min) was calculated from the pressure recordings. All haemodynamic parameters were registered continuously on a multichannel recorder (Polygraph Model 5D, Grass Instruments, Quincy, MA, USA) and data collected at similar time points were used for the statistical analysis.

Experimental protocol. After stabilization for 15-30 min, baseline values for CPP, LVSP, LVDP and heart rate were recorded. The constant flow mode, once stabilized (5-10 ml/min), was augmented mechanically in a stepwise manner (+2, +4, +6, +8, +10 ml/min). Each experimental group was comprised of 6 to 12 isolated hearts. In the first group, coronary flow was increased twice at a 30-min interval, to verify stability and time for recovery to baseline. In the second group, after control stepwise mechanical increments of coronary flow, the hearts were exposed to 30-min infusion of the NO-synthase inhibitor L-NAME (30 µM), followed by similar stepwise mechanical flow elevations. In the third and fourth experimental groups, the hearts were submitted to a protocol identical to the one in Group 2 except that the cytochrome P-450 inhibitor SKF525A (1 µM) or the cyclooxygenase inhibitor indomethacin (10 µM) was infused before repeating the mechanical increases in coronary flow. Each protocol with this

experimental design did not exceed 80 min. The infusion level of each inhibitor, L-NAME, SKF525A, and indomethacin, was selected from previous studies demonstrating complete inhibition of NO-synthase, cytochrome P450 and cyclooxygenase activity, respectively (Wang et al. 1993; Yang et al. 1993; Corriu et al. 1996; Graier et al. 1996). Isolated hearts were not paced since, in preliminary studies, stepwise increases in coronary flow (+2 to +10 ml/min) were not associated with significant alterations in heart rate.

Statistical analysis. The data are expressed as means \pm SEM. The evolution of haemodynamic parameters among the control situations was evaluated in a mixed model of repeated measures by 1-way ANOVA. Post hoc pairwise comparisons were made using the Bonferroni rule. To analyze changes in CPP, LVSP, LVDP and heart rate within each group (L-NAME, SKF525A and indomethacin), 2-way ANOVA (SAS program, version 6.12; SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) measured main (treatment and time) effects and time vs treatment interaction. When time vs treatment interaction was significant, slice effects (also known as simple effects) were analyzed, i.e. the time effect was analyzed for each level of treatment, and the treatment effect was analyzed for each level of time. A covariance structure design for multivariate repeated measures, which take into account the longitudinal aspect of measures among time levels and the repeated aspect of measures among treatment levels was also applied. Differences were considered statistically significant at $p < 0.05$.

Drugs. All products, including L-NAME, SKF525A and indomethacin, were of the highest quality available and purchased from Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA). Stock solutions of L-NAME and SKF525A, prepared in distilled water, and indomethacin in 95% ethanol, were kept refrigerated. L-NAME and SKF525A were diluted in distilled water and indomethacin in Krebs solution. Diluted solutions were infused via a side arm of the aortic cannula at 1% of coronary flow to produce the final molar concentrations detailed in this paper.

RESULTS

Baseline hemodynamic parameters of the different groups studied are presented in Table 1. There was no significant difference in heart rate value as well as in left ventricular systolic and diastolic pressure among these groups. The effects of 30 min exposure to L-NAME, SKF525A and indomethacin on cardiac function are illustrated in Table 2. In presence of L-NAME, coronary flow, LVSP and heart rate were significantly reduced while LVDP was not modified. In presence of SKF525A baseline haemodynamic parameters were not affected while only LVDP was significantly modified by indomethacin.

A typical recording of the effects of stepwise mechanical increments in coronary flow on coronary perfusion pressure and left ventricular function is presented in Figure 2-1. Stepwise increases in flow (+2 to +10 ml/min) resulted in significant changes in both coronary and cardiac function. Coronary perfusion pressure at baseline was in the range of 90-100 mmHg and reached 200 mmHg within the maximal elevation in coronary flow. Myocardial function was also significantly affected by gradual increment in flow: LVSP rose from 70 mmHg to 120 mmHg at the highest flow increase, and LVDP reached 40 mmHg at +10 ml/min from a baseline value of 10 mmHg. In terms of overall haemodynamic parameters changes, CPP climbed linearly with gradual mechanical elevations in flow (Figure 2-1). The myocardial compartment was also affected: LVSP and LVDP rose linearly in the flow range studied (Figure 2-1, Figure 2-3 and Figure 2-4 respectively).

L-NAME. In presence of L-NAME, the increase in CPP was similar to the one observed in control conditions (Figure 2-2) although coronary resistance was higher at baseline and at low flow increments in the group exposed to L-NAME (data not shown). L-NAME did not interfere with the positive inotropic response elicited by stepwise mechanical increases in flow (Figure 2-3). The negative lusitropic effects associated with coronary flow increment were also similar with or without L-NAME (Figure 2-4).

SKF525A. Isolated hearts exposed to the cytochrome P450 inhibitor SKF525A had a response similar to that observed in control conditions. CPP increased linearly in both conditions (Figure 2-2). The elevation of LVSP (Figure 2-3) and LVDP (Figure 2-4) following coronary flow changes was similar in control conditions and in the presence of SKF525A.

Indomethacin. Exposure to a 10 μ M infusion of the cyclooxygenase inhibitor indomethacin did not modify the increase in CPP elicited by stepwise mechanical increments in flow (Figure 2-2). Similarly, the presence of indomethacin did not alter the gradual rise in LVSP observed with augmented flow (Figure 2-3). On the contrary, the gradual change in LVDP associated with coronary flow modulation in the range of +6 to +10 ml/min was further increased in the presence of indomethacin, indicating additional negative lusitropy in this condition (Figure 2-4).

DISCUSSION

The aim of this study was to investigate the role of NO-synthase, cytochrome P450 and cyclooxygenase in the inotropic and lusitropic alterations evoked by elevated coronary perfusion. Experiments with isolated hamster hearts indicate that stepwise mechanical increases in coronary flow, in a physiological range, elicit a positive inotropic response while deteriorating myocardial diastolic function. In presence of inhibitors of NO-synthase (L-NAME), cytochrome P450 (SKF525A) and cyclooxygenase (indomethacin) suggest that the positive inotropic response observed with gradual increments in coronary flow is not tributary to derivatives of these enzyme systems. However, in the presence of indomethacin, diastolic function deteriorated further, indicating that cyclooxygenase byproducts protect against further impairment of myocardial relaxation in these conditions.

Several factors, including mechanical stretch, metabolic changes and release of cardioactive substances, may explain the impact of increased coronary perfusion on

myocardial function. Since the early work of Gregg (1963), numerous studies have focused on the identification of mechanism(s) regulating the interplay between the coronary and cardiac compartments in these conditions. The «Garden-Hose» hypothesis has been proposed as a mechanical interaction: after the change in coronary perfusion, increased coronary volume stretches the adjacent cardiomyocytes and, hence, a stronger contraction results via a Frank-Starling mechanism (Arnold et al. 1968; Scharf and Bromberger-Barnea 1973). Another explanation is that unrecognized local ischemia, particularly in the subendocardium, may be alleviated by enhancement of coronary perfusion and improved O₂ delivery, leading to better cardiac performance (Fisher et al. 1969; Bacaner et al. 1971). Other mechanisms involving endothelium-dependent or local release mediators have also been suggested (Brady et al. 1993; Ramaciotti et al 1993; Li et al. 1996). In contrast to this abundant literature, less interest has been directed at identifying the mechanism(s) governing the impact of increased coronary perfusion on myocardial relaxation (lusitropy). Studies, reporting a deterioration of left ventricular diastolic compliance under conditions of augmented coronary perfusion, indicate that altered chamber distensibility may result from heightened intramyocardial fluid volume (Salisbury et al 1960; Olsen et al. 1981; Vogel et al 1982). Because of the suspected role of EDRFs in cardiac function, we argue that EDRFs may also be involved in the interplay between coronary flow change and myocardial relaxation. In the present study, we focused on NO-synthase, cytochrome P450 and cyclooxygenase and used the isolated isovolumically contracting heart model in order to maintain load constant.

Controversies exist as to the role of NO on cardiac function: a positive, negative or no significant effects on myocardial contractility have been reported (Brady et al. 1993; Finkel et al. 1995; Crystal et al. 1996; Kojda et al. 1997). Apart from these divergent results, it is recognized that the direct contractile response to endogenous NO is small (Kojda and Kottenberg 1999). Although, as in the present study, inhibition of NO-synthase by L-NAME has been shown to reduce systolic function, an effect most probably attributable to diminished coronary perfusion (Amrani et al. 1992), its role in the inotropic response to stepwise mechanical increases in coronary flow is minimal. Our findings add to the more general findings by Dijkman et al. (1997) that vascular

endothelial cells are not involved in perfusion-induced change in myocardial contractility. The latter group did not take into account the fact that cardiomyocytes may produce and release NO (Balligand et al. 1993). Although some divergent results have been published, most studies indicate that diastolic function of the heart appears to benefit from exogenous NO while its endogenous production does not play a major role in myocardial relaxation (Grocott-Mason et al. 1994; Paulus et al. 1994; Prendergast et al. 1997; Kojda and Kottenberg 1999). The present experiments demonstrate that endogenous NO does not prevent the deterioration of myocardial relaxation when coronary flow is increased.

In view of recent identification of cytochrome P450 derivatives in the coronary compartment and their suspected participation in the regulation of coronary vascular tone (Campbell et al. 1996; Weintraub et al. 1997), we hypothesized that cytochrome P450 may play a role in the modulation of myocardial inotropic and lusitropic responses to augmented coronary perfusion. According to the present study, we must rule out this possibility since administration of SKF525A, an inhibitor of cytochrome P450 activity, did not modify systolic or diastolic left ventricular pressure either at baseline or during stepwise mechanical increments in coronary flow. Although cytochrome P450 derivatives including epoxyeicosatrienoic acids have been shown to participate in coronary vasorelaxation to agonists such as acetylcholine and bradykinin (Bauersachs et al. 1994; Fulton et al. 1995; Widmann et al. 1998), the present findings indicate that mechanical increases in flow and the accompanying shear stress phenomenon do not appear to activate sufficient production and/or release of these mediators.

While most studies suggest that prostaglandins and other cyclooxygenase derivatives are not important mediators of coronary perfusion in control conditions (Hintze and Kaley 1977; Yang et al. 1993; Véronneau et al. 1996), controversies surround their role in flow-mediated responses. Although earlier investigations reported the failure of cyclooxygenase derivatives to modulate flow-dependent arteriolar dilation (Alexander et al. 1975; Hintze and Vatner 1984; Holtz et al. 1984), recent data point to increased production of vasoactive prostaglandins mediating arteriolar dilation in response to

augmented blood flow velocity (Frangos et al. 1985; Koller and Kailey 1990; Okada 1991). In addition to these controversies, variable cardiac effects of prostaglandins have been noted (Karmazyn et al. 1979; Metsä-Ketelä 1981; Schrör and Hohfeld 1992), and the exact contribution of cyclooxygenase derivatives to the impact of increased coronary perfusion on cardiac function has, to the best of our knowledge, never been studied. In this investigation, the change in myocardial contractility elicited by coronary flow increments was not affected by indomethacin, indicating that cyclooxygenase derivatives do not contribute to the observed positive inotropic response. At high coronary flow, further deterioration of diastolic function is seen in the presence of indomethacin. The latter observation strongly suggests that local cyclooxygenase derivatives, most probably prostaglandins, are released locally after increased shear stress or generation of mechanical stretch of cardiac fibers, and preserve myocardial diastolic function. Supporting this assumption, Sadoshima and Izumo (1993) reported that stretch of cardiac myocytes resulted in arachidonic acid release and production of its derivatives. Since prostaglandins are known to increase cAMP and activate protein kinase A, the resultant actions would accelerate calcium entry into the sarcoplasmic reticulum and desensitize cardiac myofibrils to calcium (Metsä-Ketelä 1981), contributing to the observed positive lusitropic effect of cyclooxygenase byproducts at high coronary flow .

From our observations, it is clear that mechanisms other than activation of NO-synthase, cytochrome P450 or cyclooxygenase have to be proposed for positive inotropic response and altered relaxation after stepwise mechanical increments in coronary flow. The interaction between increased coronary perfusion and cardiac dynamics may be related to several mechanisms, including a vascular-derived contractile factor from the smooth muscle layer (Li et al. 1996), opening of stretch-activated ion channels (Crozatier 1996) without excluding the fact that such interaction may not be dependent on the production and release of mediators but may be only mechanical in nature.

Limitations of the study. Although results cannot be directly transferred to in vivo models and to clinical conditions, the model used offers significant advantages. The

isovolumically-contracting, isolated, perfused heart allows 1) to alleviate the confounding factors introduced by blood circulating elements and indirect sympathetic or neurohumoral activation, 2) to maintain chamber volume (constant load) and 3) to avoid limitations of oxygen supply. In addition, mechanical rather than drug-induced increases in coronary flow were selected because vasodilators may interact directly with contractility and myocardial relaxation; in the different protocols utilized, the selected coronary flow increases (+2 to +10 ml/min) were in the physiological range for the isolated hamster heart (Viau et al. 1997). Although interstitial oedema may be a concern in isolated hearts perfused with a cristalloid solution, this is unlikely to be case in the present study: All protocols were completed within 80 minutes, well before the critical time point described by Galinanes and Hearse (1990). Furthermore, in control conditions, each set of mechanical increments in coronary flow when completed, yielded to recovery to baseline values for left ventricular diastolic pressure.

In conclusion, using an isovolumically-contracting, isolated perfused hamster heart model, we demonstrated that the positive inotropic response observed with stepwise mechanical increases in coronary flow is not modified in the presence of inhibitors of NO-synthase (L-NAME), cytochrome P450 (SKF525A) and cyclooxygenase (indomethacin). However, in presence of indomethacin, myocardial diastolic function deteriorates further suggesting that cyclooxygenase byproducts protect against exaggerated impairment of myocardial relaxation in these conditions.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported by grants from La Fondation Québécoise des Maladies du Coeur (FQMC). We thank Mrs. Stéphanie David and Mr. Florine Sasarman for their excellent technical assistance, and Mrs. Elizabeth Pérès for the art illustrations.

REFERENCES

- Abel, R.M., and Reis, R.L. 1970. Effects of coronary blood flow and perfusion pressure on left ventricular contractility. *Circ. Res.* 27: 961-971.
- Alexander, R.W., Kent, K.M., Pisano, J.J., Keiser, H.R., and Cooper, T. 1975. Regulation of postocclusive hyperemia by endogenously synthesized prostaglandins in the dog heart. *J. Clin. Invest.* 55: 1174-1181.
- Amrani, M., O'Shea, J., Allen, N.J., Harding, S.E., Jayakumar, J., Pepper, J.R., Moncada, S., and Yacoub, M.H. 1992. Role of basal release of nitric oxide on coronary flow and mechanical performance of the isolated rat heart. *J. Physiol.* 456: 681-687.
- Arnold, G., Kosche, F., Miessner, E., Neitzert, A., Lochner, W. 1968. The importance of the perfusion pressure in the coronary arteries for the contractility and the oxygen consumption of the heart. *Pflüg. Archiv.* 299: 339-356.
- Bacaner, M.B., Lioy, F., and Vissecher, M.B. 1971. Coronary blood flow, oxygen delivery rate and cardiac performance. *J. Physiol.* 216: 111-127.
- Balligand, J.L., Kelly, R.A., Marsden, P.A., Smith, T.W., and Michel, T. 1993. Control of cardiac muscle cell function by an endogenous nitric oxide signaling system. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)*. 90: 347-351.
- Bauersachs, J., Hecker, M., and Busse, R. 1994. Display of the characteristics of endothelium-derived hyperpolarizing factor by a cytochrome P450-derived arachidonic acid metabolite in the coronary microcirculation. *Br. J. Pharmacol.* 113: 1548-1553.
- Brady, A.J.B., Warren, J.B., Poole-Wilson, P.A., Williams, T.J., and Harding, S.E. 1993. Nitric oxide attenuates cardiac myocytes contraction. *Am. J. Physiol.* 265: H176-H182.
- Brutsaert, D.L., Meulemans, A.L., Sipido, K.R., and Sys, S.U. 1988. Effects of damaging the endocardial surface on the mechanical performance of isolated cardiac muscle. *Circ. Res.* 62: 358-366.
- Campbell, W.B., Gebremedhim, D., Pratt, P.F., and Harder, D.R. 1996. Identification of epoxyeicosatrienoic acids as endothelium-derived hyperpolarizing factors. *Circ. Res.* 78: 415-423.

- Canadian Council on Animal Care. 1993. Guide to the Care and Use of Experimental Animals. Vol 1, 2nd Edition, Ottawa.
- Cohen, R.A., and Vanhoutte, P.M. 1995. Endothelium-dependent hyperpolarization. *Circulation*, 92: 3337-3349.
- Corriu, C., Félétou, M., Canet, E., and Vanhoutte, P.M. 1996. Inhibitors of the cytochrome P450-mono-oxygenase and endothelium-dependent hyperpolarizations in the guinea-pig isolated carotid artery. *Br. J. Pharmacol.* 117: 607-610.
- Crozatier, B. 1996. Stretch-induced modifications of myocardial performance: from ventricular function to cellular and molecular mechanisms. *Cardiovasc. Res.* 32: 25-37.
- Crystal, G., and Gurevicius, J. 1996. Nitric oxide does not modulate myocardial contractility acutely in in situ canine hearts. *Am. J. Physiol.* 270: H1568-H1576.
- Dijkman, M.A., Heslinga, J.W., Sipkema, P., and Westerhof, N. 1996. Perfusion-induced changes in cardiac O₂ consumption and contractility are based on different mechanisms. *Am. J. Physiol.* 271: H984-H989.
- Dijkman, M.A., Heslinga, J.W., Sipkema, P., and Westerhof, N. 1997. Perfusion-induced changes in cardiac contractility and oxygen consumption are not endothelium-dependent. *Cardiovasc. Res.* 33: 593-600.
- Finkel, M.S., Oddis, C.V., Mayer, H., Hattler, B.G., Simmons, R.L. 1995. Nitric oxide synthase inhibitor alters papillary muscle force-frequency relationship. *J. Pharmacol. Exptl. Ther.* 272: 945-952.
- Fischer, V.J., Martino, R.A., Harris, R.S., and Kavalier, F. 1969. Coronary flow as an independent determinant of myocardial contractile force. *Am. J. Physiol.* 217: 1127-1133.
- Fontaine, E.R., Viau, S., Jasmin, G., and Dumont, L. 1998. Effects of phosphoramidon, BQ 788 and BQ 123 on coronary and cardiac dysfunctions of the failing hamster heart. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 32: 12-20.
- Frangos, J.A., Eskin, S.G., McIntire, L.V., and Ives, C.L. 1985. Flow effects on prostacyclin production by cultured human endothelial cells. *Science*, 227: 1477-1479.
- Fulton, D., Mahboubi, K., McGiff, J.C., and Quilley, J. 1995. Cytochrome P450-dependent effects of bradykinin in the heart. *Br. J. Pharmacol.* 114: 99-102.

- Galinanes, M., and Hearse, D.J. 1990. Species differences in susceptibility to ischemic injury and responsiveness to myocardial protection. *Cardioscience*, 2; 127-143.
- Graier, W.F., Holzmann, S., Hoebel, B.G., Kukovetz, W.R., and Kostner, G.M. 1996. Mechanisms of L-NG nitroarginine / indomethacin-resistant relaxation in bovine and porcine coronary arteries. *Br. J. Pharmacol.* 119: 1177-1186.
- Gregg, D.E. 1963. Effect of coronary perfusion pressure or coronary flow on oxygen usage of the myocardium. *Circ. Res.* 13: 497-500.
- Grocott-Masson, R., Fort, S., Lewis, M.J., and Shah, A.M. 1994. Myocardial relaxant effect of exogenous nitric oxide in isolated ejecting hearts. *Am. J. Physiol.* 266: H1699-H1705.
- Hintze, T., Kaley, G. 1977. Prostaglandins and the control of blood flow in the canine myocardium. *Circ. Res.* 40: 313-320.
- Hintze, T.H., and Vatner, S.F. 1984. Reactive dilation of large coronary arteries in conscious dogs. *Circ. Res.* 54: 50-57.
- Holtz, J., Förstermann, U., Pohl, U., Giesler, M., and Bassenge, E. 1984. Flow-dependent, endothelium-mediated dilation of epicardial coronary arteries in conscious dogs: effects of cyclooxygenase inhibition. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 6: 1161-1169.
- Iwamoto, T., Xiao-Juan, B., and Downey, H.F. 1994. Coronary perfusion related changes in myocardial contractile force and systolic ventricular stiffness. *Cardiovasc Res* 28: 1331-1336.
- Karmazyn, M., Leung, C.K., and Dhalla, N.S. 1979. Prostaglandin actions and interactions on isolated perfused rat hearts. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 57: 1275-1282.
- Kojda, G., Kottenberg, K., Stasch, J.P., Schrör, K., Noack, E. 1997. Positive inotropic effect of exogenous and endogenous NO in hypertrophic rat heart. *Br. J. Pharmacol.* 122: 821-824.
- Kojda, G., and Kottenberg, K. 1999. Regulation of basal myocardial function by NO. *Cardiovasc. Res.* 41: 514-523.
- Koller, A., and Kaley, G. 1990. Prostaglandins mediate arteriolar dilation to increased blood flow velocity in skeletal muscle microcirculation. *Circ. Res.* 76: 529-534.

- Li, K., Xiuling, Q., Andries, L., and Brusaert, D.L. 1996. Vascular-derived myocardial contractile factor: positive myocardial inotropic substance released from medial layer of the canine aorta. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 28: 881-892.
- Metsä-Ketelä, T. 1981. Cyclic AMP-dependent and -independent effects of prostaglandins on the contraction-relaxation cycle of spontaneously beating isolated rat atria. *Acta Physiol. Scand.* 112: 481-485.
- Okada, T. 1991. Hypoxia-induced change in prostanoids production and coronary flow in isolated rat heart. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 23: 939-948.
- Olsen, C.O., Attarian, D.E., Jones, R.N., Hill, R.C., Sink, J.D., Lee, K.L., and Wechsler, A.S. 1981. The coronary pressure-flow determinants of left ventricular compliance in dogs. *Circ. Res.* 49: 856-865.
- Paulus, W.J., Vantrimpont, P.J., and Shah, A.M. 1994. Acute effects of nitric oxide on left ventricular relaxation and diastolic distensibility in humans. *Circulation*, 89: 2070-2078.
- Prendergast, B.D., Sagach, V.F., and Shah, A.M. 1997. Basal release of nitric oxide augments the Frank-Starling response in the isolated heart. *Circulation*, 96: 1320-1329.
- Ramaciotti, C., McClellan, A., Sharkey, A., Rose, D., Weisberg, A., and Winegrad, S. 1993. Cardiac endothelial cells modulate contractility of rat heart in response to oxygen tension and coronary flow. *Circ. Res.* 72: 1044-1064.
- Resar, J.R., Judd, R.M., Halperin, H.R., Chacko, V.P., Weiss, R.G., and Yin, F.C.P. 1993. Direct evidences that coronary perfusion affects diastolic myocardial properties in canine heart. *Cardiovasc. Res.* 27: 403-410.
- Sadoshima, J., and Izumo, S. 1993. Mechanical stretch rapidly activates multiple signal transduction pathways in cardiac myocytes: potential involvement of an autocrine/paracrine mechanism. *EMBO. J.* 12: 1681-1692.
- Salisbury, P.F., Cross, C.E., and Rieben, P.A. 1960. Influence of coronary artery pressure upon myocardial elasticity. *Circ. Res.* 8: 794-800.
- Scharf, S.M., and Bromberger-Barnea, B. 1973. Influence of coronary flow and pressure on cardiac function and coronary vascular volume. *Am. J. Physiol.* 224: 918-925.

- Schouten, V.J.A., Allaart, C.P., and Westerhof, N. 1992. Effect of perfusion pressure on force of contraction in thin papillary muscles and trabeculae from rat heart. *J. Physiol.* 451: 585-604.
- Schrör, K., and Hohlfeld, T. 1992. Inotropic actions of eicosanoids. *Bas. Res. Cardiol.* 87: 2-11.
- Templeton, G.H., Wildenthal, K., and Mitchell, J.H. 1972. Influence of coronary blood on left ventricular contractility and stiffness. *Am. J. Physiol.* 223: 1216-1220.
- Véronneau, M., Tanguay, M., Fontaine, E.R., Jasmin, G., and Dumont, L. 1997. Reactivity to endothelium-dependent and -independent vasoactive substances is maintained in coronary resistance vessels of the failing hamster heart. *Cardiovasc. Res.* 33: 623-630.
- Viau, S., Fontaine, E.R., Véronneau, M., Jasmin, G., and Dumont, L. 1997. Myocardial reactive hyperemia in experimental chronic heart failure: evidence for the role of K⁺ adenosine triphosphate-dependent channels and cyclooxygenase activity. *J. Card. Failure.* 3: 207-215.
- Vogel, W.M., Apstein, C.S., Briggs, L.L., Gaasch, W.H., and Ahn, J. 1982. Acute alterations in left ventricular diastolic chamber stiffness. *Circ. Res.* 51: 465-478.
- Wang, Y-X., Poon, C.I., and Pang, C.Y. 1993. Vascular pharmacodynamics of NG-nitro-L-arginine methyl ester in vitro and in vivo. *J. Pharmacol. Exptl. Ther.* 267: 1091-1099.
- Weintraub, N.L., Fang, X., Kaduce, T.L., VanRollins, M., Chatterjee, P., and Spector, A.A. 1997. Potentiation of endothelium-dependent relaxation by epoxyeicosatrienoic acids. *Circ. Res.* 81: 258-267.
- Wennmalm, A., Bexthen, G., Karwatowska-Prokopczuk, E., Lundberg, J., and Petersson, A-S. 1991. Release of endothelial mediators and sympathetic transmitters at different coronary flow rates in rabbit hearts. *J. Physiol.* 435: 163-173.
- Widmann, M.D., Weintraub, N.L., Fudge, J.L., Brooks, L.A., and Dellsperger, K.C. 1998. Cytochrome P450 pathway in acetylcholine-induced canine coronary microvascular vasodilation in vivo. *Am. J. Physiol.* 274: H283-H289.

Yang, B.C., Nichols, W.W., and Mehta, J.L. 1993. Cardiac effects of acetylcholine in rat hearts: role of endothelium-derived relaxing factor and prostaglandins. *Am. J. Physiol.* 264: H1388-H1393.

TABLE 2-1. Baseline haemodynamics parameters

	Control	L-NAME (30 μM)	SKF525A (1 μM)	Indomethacin (10 μM)
Heart rate (beats/min)	156 \pm 9	134\pm14	146\pm14	16\pm22
LVSP (mmHg)	47 \pm 4	55\pm 6	52\pm 4	51\pm 5
LVDP (mmHg)	9 \pm 1	14\pm 2	11\pm 1	13\pm 1
CPP (mmHg)	104 \pm 4	102\pm 5	102\pm 2	113\pm 4

Notes: Values are means \pm SEM (n = 6-12 per group). **Abbreviations.** LVSP, left ventricular systolic pressure; LVDP, left ventricular diastolic pressure; CPP, coronary perfusion pressure.

TABLE 2-2 Changes in cardiac function following exposure to L-NAME, SKF525A and indomethacin

	Coronary flow (ml/min)	LVP (mmHg)		Heart rate (beats/min)
		Systolic	Diastolic	
L-NAME (30 μ M)	-2.5 \pm 0.4*	-20 \pm 3 *	-3 \pm 2	-37 \pm 10*
SKF525A (1 μ M)	+0.3 \pm 0.3	+5 \pm 7	-1 \pm 1	+12 \pm 4
Indomethacin (10 μ M)	-1.6 \pm 0.7	+11 \pm 5	+10 \pm 3*	-2 \pm 1

Notes : Values are means \pm SEM (n = 6-12 per group). Changes (Δ) are expressed as absolute values.

* p < 0.05 vs baseline conditions within each group.

FIGURE LEGENDS

Figure 1. Typical recording of the effects of stepwise mechanical increases in coronary flow on coronary perfusion pressure (A) and cardiac dynamics (B)

Figure 2. Effects of coronary flow changes on coronary perfusion pressure in control conditions and in the presence of L-NAME, SKF525A and indomethacin

Panel A. Control conditions

Panels B, C and D. Open squares = Data obtained in control conditions within each group. Dark circles = Data obtained in the presence of L-NAME, SKF525A or indomethacin

Figure 3. Changes in left ventricular systolic pressure (LVSP) following stepwise mechanical increases in coronary flow

Panel A. Control conditions

Panels B, C and D. Open squares = Data obtained in control conditions within each group. Dark circles = Data obtained in the presence of L-NAME, SKF525A or indomethacin

Figure 4. Changes in left ventricular diastolic pressure following coronary flow changes

Panel A. Control conditions

Panels B, C and D. Open squares = Data obtained in control conditions within each group. Dark circles = Data obtained in the presence of L-NAME, SKF525A or indomethacin

- $p < 0.05$ versus control conditions within each group.

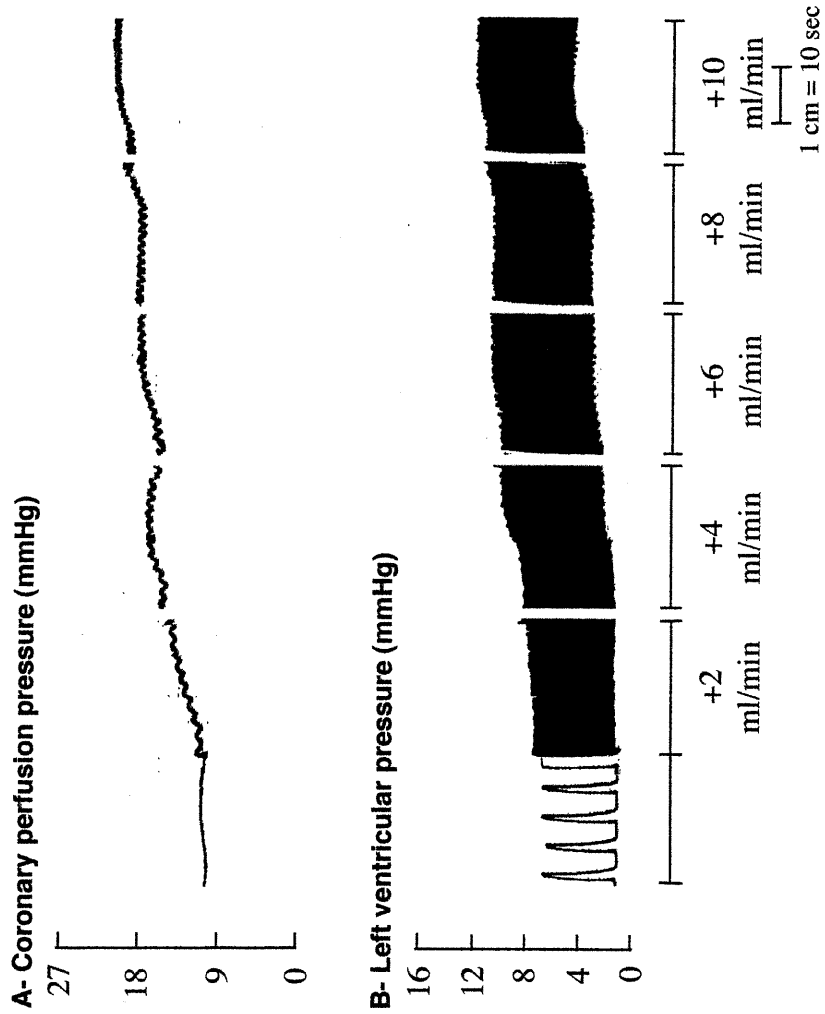


Figure 2-1 Effects of stepwise mechanical increases in coronary flow on perfusion pressure and cardiac dynamic

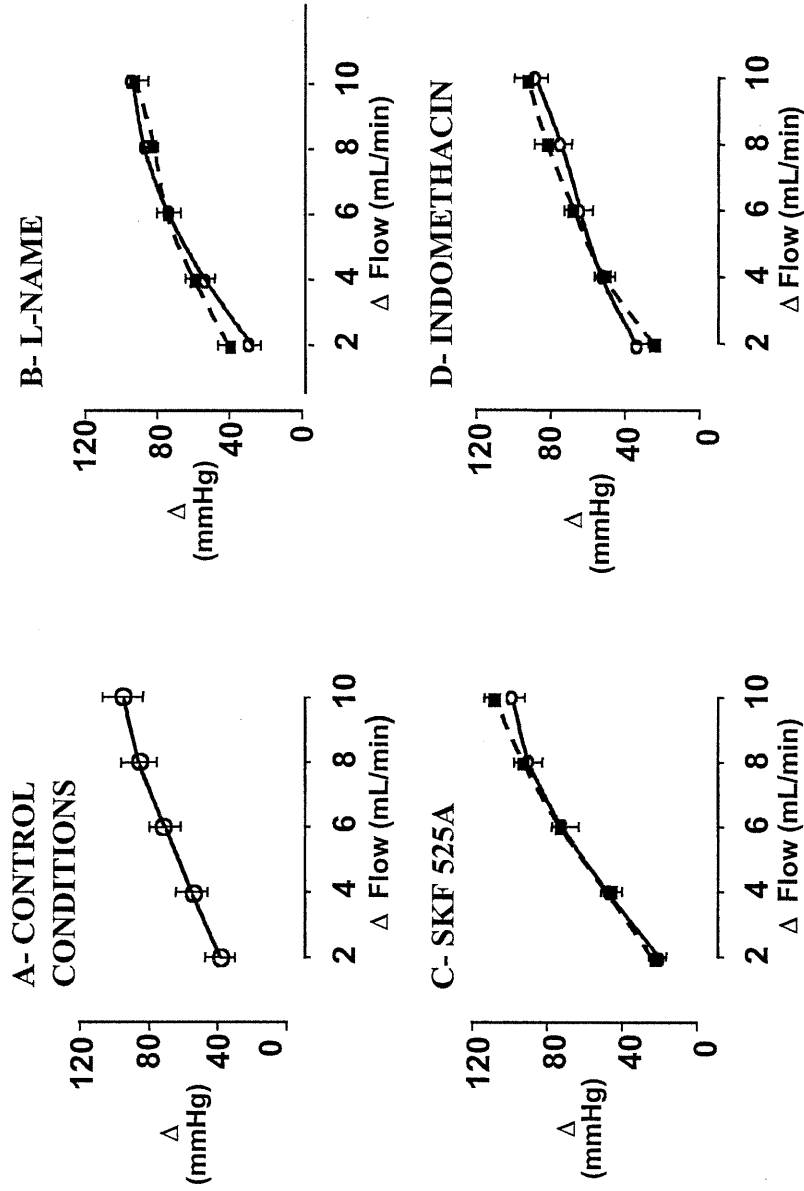


Figure 2-2 Effects of coronary flow changes on coronary perfusion pressure under control conditions and in the presence of L-NAME, SKF 525A and indomethacin

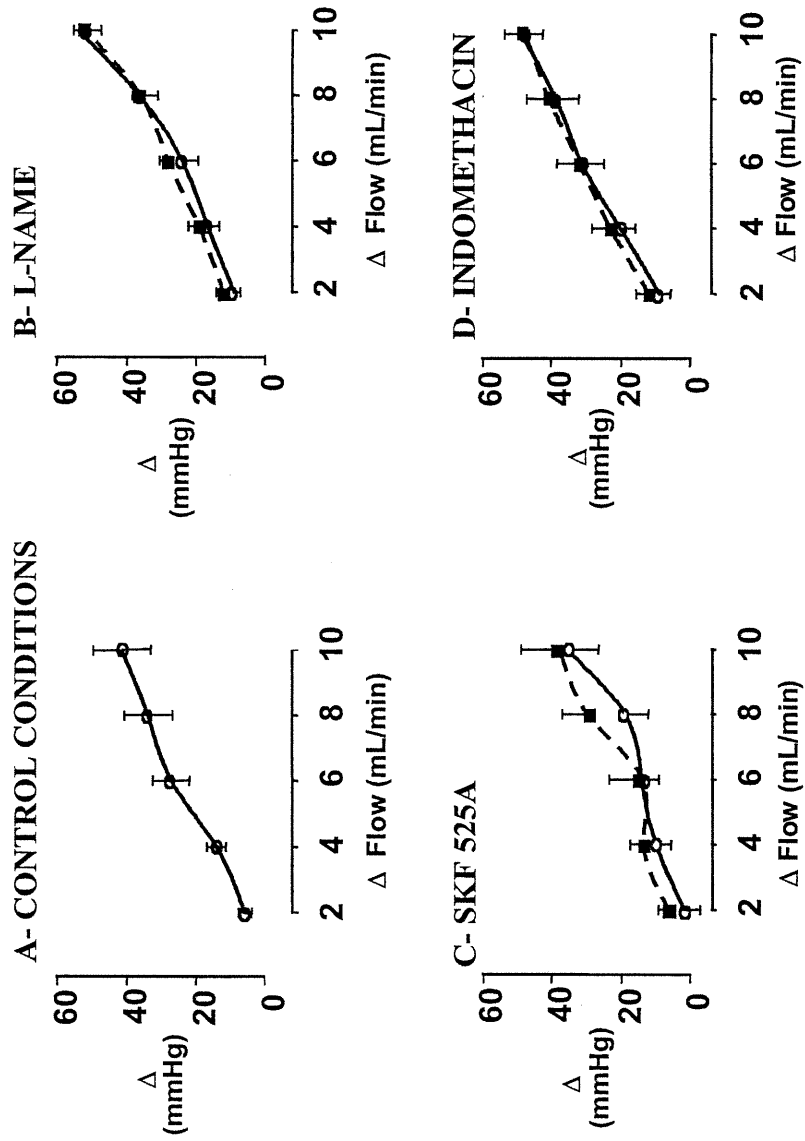


Figure 2-3 Changes in left ventricular systolic pressure (LVSP) following stepwise mechanical increases in coronary flow

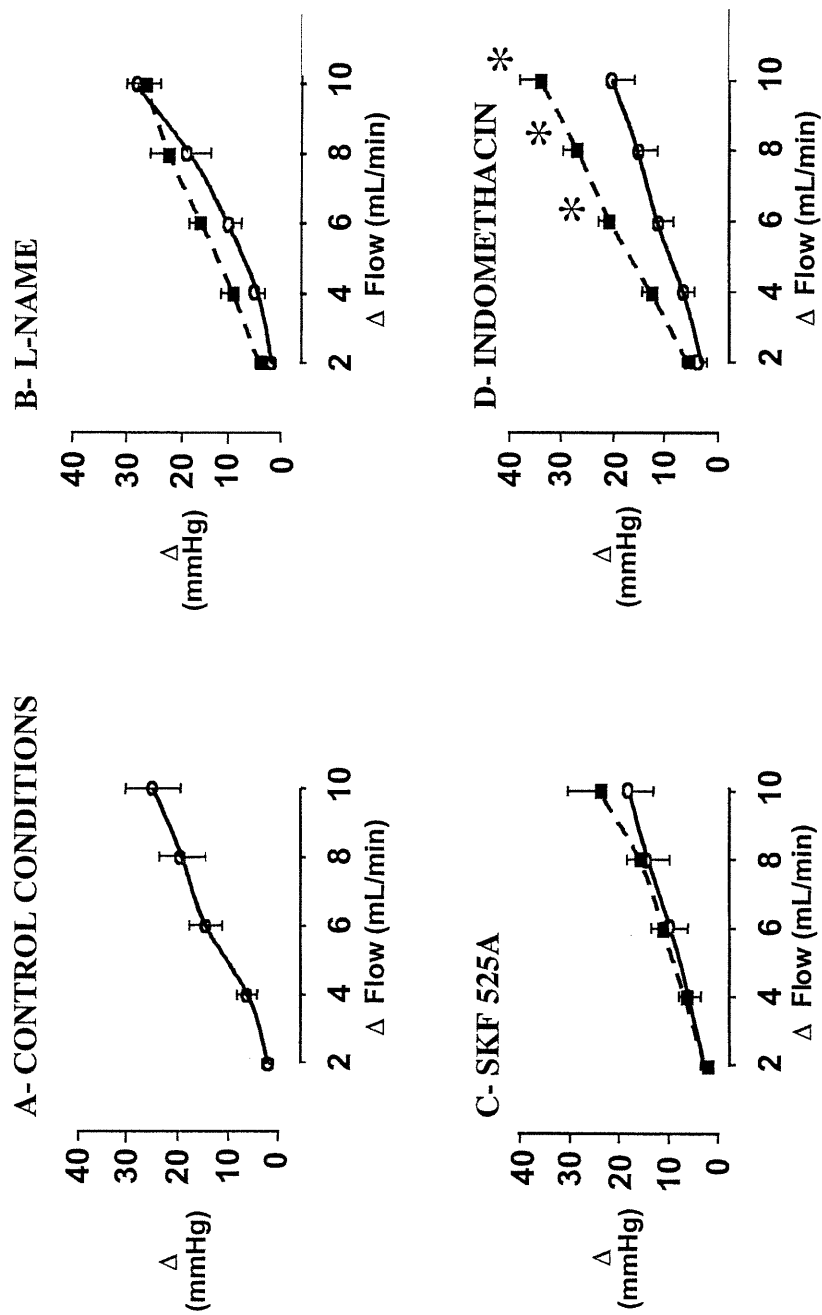


Figure 2-4 Changes in left ventricular diastolic pressure following coronary flow changes

CHAPITRE III

DISCUSSION ET CONCLUSION

3.1 CRITIQUE DE LA MÉTHODOLOGIE

3.1.1 Choix du modèle expérimental

De nombreux modèles sont utilisés pour étudier l'influence du compartiment coronarien sur le compartiment myocardique. Les premières expériences sont effectuées, à thorax ouvert, chez des chiens. Ce modèle expérimental implique l'influence de plusieurs facteurs tels les éléments circulants du sang, l'innervation sympathique et parasympathique, ainsi que les modifications de la pré et de la post charge. Comme ces facteurs influencent la fonction cardiaque, une compréhension et un contrôle plus élaboré des paramètres étudiés doivent être présents lors des expériences effectuées, à thorax ouvert, chez des chiens. Les conclusions divergentes rapportées dans les études à thorax ouvert ont favorisé l'utilisation de modèles expérimentaux isolant les coronaires et le myocarde du reste de l'organisme. Malgré leurs limites, les modèles de coeurs isolés sont plus sélectifs car ils excluent les influences provenant de la systémie.

L'isolement du coeur des influences périphériques peut se réaliser de plusieurs façons. Scharf et coll. (1973) rapportent l'utilisation d'un coeur isolé et perfusé à l'aide d'un animal de support (123). Le coeur est perfusé via l'oreillette gauche et, le ventricule gauche se contracte et expulse le sang via l'aorte qui alimente le territoire coronarien. Cette méthode du coeur travaillant est aussi utilisée dans le modèle de coeur isolé perfusé avec des cristaalloïdes (115). Bien que ce modèle mime davantage le travail cardiaque observé dans des conditions physiologiques, le coeur travaillant peut s'avérer un mauvais modèle dans l'étude de l'influence du compartiment coronarien sur le compartiment myocardique, car la perfusion coronarienne est dépendante de la contraction cardiaque. Ainsi, lorsque des problèmes de contraction cardiaque surviennent la perfusion du territoire coronarien est altérée. Dans notre étude nous avons cherché à comprendre les mécanismes responsables de l'influence d'une augmentation du débit coronarien sur la fonction cardiaque. Une déficience de la performance cardiaque, en utilisant un modèle de coeur isolé travaillant, entraîne une diminution de la perfusion coronarienne et ainsi empêche de bien observer

l'influence du débit coronarien sur la fonction cardiaque. Le modèle de perfusion rétrograde du coeur isolé s'avère donc plus approprié à ce type de projet car la perfusion coronarienne est indépendante de la contraction cardiaque.

Dans la présente étude, nous avons utilisé le coeur isolé, perfusé selon la méthode de Langendorff. Après avoir inséré une canule par l'aorte du coeur, ce dernier est installé sur un montage et perfusé, de façon rétrograde, avec une solution de Krebs. Ce montage permet de développer une pression de perfusion coronarienne de 100 mmHg correspondant à la pression artérielle coronarienne moyenne dans des conditions normales. La perfusion est effectuée à l'aide d'une solution physiologique (Krebs-Henseleit) qui est saturée en O₂ et maintenue à 37 °C et à pH 7,4. Ainsi, les échanges gazeux et l'approvisionnement en nutriments s'effectuent de façon adéquate. L'utilisation du sang dans ce type de montage serait un mauvais choix. En fait, la viscosité du sang à l'intérieur de la tubulure du montage rendrait l'expérimentation difficile à cause de l'hémolyse. Avec les conditions expérimentales utilisées, la fonction cardiaque est adéquate et les coeurs répondent adéquatement à différents stress (142, 149).

3.1.2 Conditions expérimentales

Utilisation du modèle à débit constant

L'utilisation de la solution de Krebs Henseleit permet d'étudier l'influence du débit coronarien sur la modulation de la fonction cardiaque sans l'interférence des éléments circulants et des différentes hormones endogènes que l'on retrouve normalement dans la circulation. Afin de mesurer les effets de la hausse du débit coronarien sur la contractilité et la relaxation myocardique, la perfusion du coeur est réalisée à débit constant. Ceci permet d'augmenter le débit coronarien de façon graduelle tout au long de l'expérience. Les augmentations de débit (+2,+4,+6,+8,+10 mL/min) sont choisies en fonction de la capacité d'adaptation du territoire coronarien (149). Ces auteurs ont rapporté qu'à la suite d'ischémie d'une

durée de 30 secondes, la réaction hyperémique entraîne une augmentation du débit coronarien de 100%. De plus, il est observé, dans une étude sur la réaction hyperémique, que la limite supérieure d'augmentation du débit coronarien est de +10 mL/min de sa valeur de base dans le coeur de hamster syrien (149).

Durée de l'expérience

L'absence d'hématocrite dans la solution de Krebs Henseleit est associée à de l'œdème contrairement à une perfusion avec du sang (154). L'absence de pression osmotique, dans la solution Krebs, contrairement au sang, entraîne plus rapidement une rigidité de la paroi ventriculaire, détériorant ainsi la fonction cardiaque. Il est même rapporté que la diffusion liquidienne dans l'espace extracellulaire se produit au début de l'expérimentation, mais cet œdème tissulaire devient plus important après une période de perfusion cardiaque supérieure à 120 minutes (67). Après une heure de perfusion cardiaque une baisse de 15% de la performance a été rapportée (67). Selon d'autres études les coeurs perdent de 18 à 40% de leur fonction après 2 heures de perfusion (46). Le facteur temps semble donc être une limite importante à l'utilisation du modèle de coeur isolé perfusé. À l'intérieur de notre travail de recherche nous avons utilisé le modèle de coeur isolé perfusé. La durée de nos expériences est d'environ 90 minutes et nos résultats ne démontrent aucune détérioration de la contractilité, causée par l'œdème, pouvant biaiser les résultats. Par ailleurs, après avoir effectué une augmentation graduelle du débit coronarien (+2 à +10 ml/min du débit de base), le débit est rétabli à sa valeur de base et ces manipulations n'altèrent en aucun cas les fonctions contractiles basales du coeur.

Débit coronarien

Le débit coronarien dans les coeurs perfusés avec une solution physiologique est beaucoup plus élevé (5-10 mL/min) que celui rapporté avec l'utilisation du sang (2-3 mL/min). En fait, on peut expliquer le plus grand débit dans les coeurs perfusés de la façon suivante. L'hémoglobine étant absente dans la solution de Krebs, l'efficacité du transport en O₂ est atténuée. Le débit coronarien est plus élevé afin d'assurer un approvisionnement adéquat en O₂ au tissu. Vogel et coll. (1982) ont

évalué, dans le modèle de perfusion avec du Krebs, l'impact d'un débit de perfusion élevé sur la fonction érectile cardiaque. En utilisant un modèle de coeur perfusé ces derniers ont constaté que l'effet érectile cardiaque associé à une augmentation du débit coronarien est présent indépendamment d'une perfusion avec le Krebs ou du sang. Bien que le territoire coronarien semble s'adapter à cette condition, on se doit d'augmenter le contenu en O_2 de façon importante. Dans le sang la portion d' O_2 libre est moins importante que la portion d' O_2 conjuguée à l'hémoglobine. Conséquemment, la saturation en O_2 est augmentée dans la solution Krebs (>400 mmHg) afin de suppléer à l'absence d'hémoglobine.

Modèle isovolumique

Enfin, la mesure de la fonction contractile ventriculaire gauche (pression systolique) et de relaxation ventriculaire gauche (pression diastolique) est effectuée à l'aide d'un ballon de latex inséré dans le ventricule gauche. Ce ballon qui est fixé à une canule permet de capter les variations de pression induites par le cycle contraction-relaxation du coeur. Le ballon, après avoir été inséré dans le ventricule, est étalé de façon à être en contact avec la paroi du ventricule. Un volume d'eau est ensuite poussé à l'intérieur du ballon afin de créer une résistance sur la paroi ventriculaire. La quantité de liquide contenue dans le ballon correspond au volume nécessaire pour développer une pression diastolique constante de 10 mmHg. Cette méthode permet d'isoler le rôle des coronaires sur le fonctionnement de la chambre ventriculaire, bien que certaines critiques aient été relevées. Ainsi, Olsen et coll. (1981) ont rapporté qu'il peut être difficile de donner la forme exacte de la surface endocardique au ballon inséré dans le ventricule gauche. De plus, il est proposé que la pose d'un ballon crée un traumatisme endocardique qui peut affecter la fonction cardiaque (32). Olsen et coll. (1981) suggèrent des techniques plus précises afin de bien quantifier les changements de la chambre ventriculaire. Ces auteurs ont démontré que l'épaisseur de la paroi ventriculaire, qui se révèle un indice de compliance myocardique, est inversement proportionnelle au diamètre de l'axe mineur ventriculaire. Selon Olsen et coll. (1981), la mesure de l'axe mineur constitue un indice plus précis de la compliance diastolique. De plus, contrairement

à la pose de transducteurs au niveau endocardique, l'installation de transducteurs épicaudiques entraînent moins de traumatisme pour le coeur (100). Finalement, malgré les critiques apportées à l'introduction d'un ballon de latex dans le ventricule, les réponses basales de la fonction cardiaque que nous avons obtenues se situent dans les limites comparables aux valeurs rapportées précédemment chez le hamster (142, 149).

3.2 DISCUSSION DES RÉSULTATS

3.2.1 Interactions entre le compartiment coronarien et le compartiment myocardique.

Dans la présente étude, il est observé qu'une augmentation du débit coronarien entraîne une augmentation de la contractilité cardiaque (effet inotrope positif) et une détérioration de la relaxation myocardique (effet lusitrope négatif). Ces changements fonctionnels rapportés pour la première fois par Gregg et Salisbury, ont amené d'autres chercheurs à essayer de comprendre les mécanismes impliqués dans cette interaction. Parmi les nombreuses hypothèses proposées, le « Gardenhose effect » constitue une explication aux changements de contractilité (5). La hausse de la perfusion coronarienne est associée à une augmentation du volume coronarien. L'engorgement du lit coronarien est suggéré comme responsable de la détérioration de la compliance diastolique (121). Bien que l'induction d'un phénomène mécanique puisse être impliqué dans l'effet érectile associé à l'augmentation de la perfusion coronarienne, la stimulation de certains systèmes enzymatiques au niveau de l'endothélium coronarien est proposée comme mécanisme régissant les changements observés au niveau du myocarde (19). En inhibant trois voies importantes de synthèse de médiateurs endothéliaux (NO synthase, cytochrome P-450 et cyclooxygénase) nous avons tenté de déterminer l'implication du NO, des dérivés du cytochrome P-450 et de la cyclooxygénase dans la modulation de la fonction cardiaque par une augmentation du débit coronarien.

Le L-NAME. Dans notre étude, la synthèse du NO est inhibée en utilisant le L-NAME (30 μ M). Le choix de l'inhibiteur de la NO synthase et la concentration utilisée sont sélectionnés sur la base de publications antérieures (138, 142). Il est rapporté que la production du NO dans les vaisseaux coronariens contribue à la régulation de la résistance coronarienne (71, 142). Cette production de NO est bloquée en présence de L-NAME (30 μ M) (138, 142). Smith et coll. (1992) démontrent dans une étude dans des coeurs isolés de lapin une inhibition complète de la NO synthase en présence d'une concentration de 30 μ M de L-NAME. De plus,

la vasodilatation coronarienne produite par l'acétylcholine, dans des coeurs de hamster, est supprimée par le L-NAME (30 μ M), ce qui signifie une inhibition complète de la NO synthase (142). Les résultats obtenus, à l'intérieur de notre étude, démontrent une augmentation de 30% de la résistance coronarienne en présence de L-NAME (30 μ M). Ceci concorde avec les résultats obtenus dans les études de Smith et coll. (1992) et Tanguay et coll. (1996) qui observent que le NO est important dans le maintien du tonus coronarien basal. Nos résultats démontrent aussi que la relaxation myocardique n'est pas affectée par le L-NAME tandis que la contractilité est diminuée d'environ 40%. De plus, comme Amrani et coll. (1992) rapportent, cette diminution du débit coronarien explique la détérioration de la contractilité. Par ailleurs, la présence du L-NAME n'a aucunement modifié la chute de la résistance coronarienne tributaire de la hausse mécanique du débit. De même, les augmentations de la pression de perfusion coronarienne ne sont pas altérées en présence du L-NAME. Le L-NAME semble détériorer la relaxation myocardique à de faibles augmentations de débit (+2, +4 mL/min), toutefois aucun changement significatif de contraction et de relaxation myocardique n'est observé. Même si plusieurs études (19, 50, 92, 108, 113) démontrent que le NO exogène module la contraction et la relaxation myocardique, l'inhibition de la production endothéliale coronarienne du NO n'entraîne aucun changement de la fonction contractile cardiaque dans notre étude.

Le SKF525A. Il est démontré que les EETs sont impliqués dans la relaxation du muscle lisse vasculaire (156). Dans notre étude, nous avons proposé que ces dérivés puissent aussi moduler la contractilité cardiaque. Jusqu'à aujourd'hui, aucune étude ne s'est intéressée à l'influence des EETs dans la modulation de la fonction cardiaque. Le choix de l'inhibiteur du cytochrome P-450 et la concentration utilisée ont été sélectionnés sur la base d'une publication antérieure et sur des essais préliminaires. Il est démontré dans l'étude de Pinto et coll. (1987) que le SKF525A (1 μ M) bloque complètement l'action des EETs impliqués dans la relaxation induite par l'acide arachidonique (110). De plus, afin de s'assurer que la concentration de SKF 525A bloque de façon optimale la production des EETs et qu'il n'y ait pas

d'intoxication cardiaque, nous avons fait des essais préliminaires avec 100 μM , 10 μM et 1 μM . Les résultats de ces essais ont démontré qu'à 1 μM il n'y a pas d'effets non-spécifiques du SKF 525A sur la fonction cardiaque.

Dans notre étude, après 30 minutes d'infusion de SKF 525A la résistance coronarienne n'est pas modifiée. De même, aucune modification de la contraction et de la relaxation myocardique n'est observée. Ainsi, les EETs ne démontrent aucune implication dans la régulation basale du territoire coronarien et du territoire myocardique. La hausse du débit coronarien en présence de SKF525A n'altère pas la chute de la résistance coronarienne. L'augmentation de la contraction cardiaque et la détérioration de la relaxation myocardique observées lors de la hausse mécanique du débit ne sont pas changées en présence de SKF525A. Ces résultats suggèrent que les EETs ne sont pas impliqués dans le contrôle du tonus coronarien et dans la modulation des fonctions cardiaques lors d'une augmentation du débit coronarien.

L'indométhacine. L'infusion de 30 μM d'indométhacine a permis de mettre en évidence l'implication des dérivés de la cyclooxygénase dans la modulation de la fonction cardiaque, secondaire à une augmentation du débit coronarien. À pression de perfusion constante, l'inhibition des dérivés prostanoïdes n'a pas changé le tonus coronarien. De plus, ni la contractilité ni la relaxation myocardique n'est altéré. Ces résultats suggèrent que les dérivés de la cyclooxygénase ne possèdent pas de rôle significatif dans le maintien du tonus basal coronarien ainsi que dans la régulation basale de la contraction et de la relaxation myocardique. En présence d'une augmentation mécanique du débit coronarien, l'inhibition de la synthèse des dérivées de la cyclooxygénase ne modifie pas la chute de la résistance coronarienne. Néanmoins, au niveau myocardique, l'inhibition de la cyclooxygénase modifie la fonction cardiaque. Une plus grande détérioration de la relaxation myocardique est observable dans les plus fortes hausses de débit, tandis que le contractilité augmente comme en l'absence d'indométhacine. À la lumière de ces données, il semble que les dérivés de la cyclooxygénase ne sont pas nécessaires dans l'adaptation du territoire coronarien lorsque la perfusion augmente. Par contre, ces dérivés protègent la relaxation myocardique lorsque le débit augmente de façon importante.

Mécanismes impliqués

L'exploration des voies enzymatiques impliquant le NO, les dérivés époxyeicosatriéniques et ceux de la cyclooxygénase a permis de constater que ces facteurs ne sont pas associés aux effets inotrope positif et lusitrope négatif, secondaires à l'augmentation mécanique du débit coronarien. Cependant, les dérivés de la cyclooxygénase semblent protéger la relaxation myocardique en présence d'une hausse importante du débit coronarien. En conséquence, d'autres mécanismes doivent être responsables des interactions entre le territoire coronarien et le territoire myocardique.

Les premières observations effectuées au cours des années 60 qui traitent de l'influence de la perfusion coronarienne sur la fonction cardiaque, attribuent la modulation de la fonction cardiaque lors d'une augmentation de la perfusion coronarienne à un effet mécanique. Arnold et coll. (1968) expliquent l'augmentation de la contraction cardiaque en faisant une analogie avec l'effet de la pression produite à l'intérieur d'un boyau d'arrosage. La hausse de la perfusion dans l'arbre artériel coronarien entraîne un étirement des vaisseaux, ce qui développe une plus grande tension sur les fibres cardiaques. Ainsi, la force de contraction de ces fibres est augmentée. Cette hypothèse permet de proposer que l'appareil contractile myocardique en soi est perturbé par le changement de perfusion coronarienne. Selon la loi de Frank-Starling, un plus grand étirement des fibres cardiaques résulte en une augmentation de la contraction. La loi de Frank-Starling constitue donc une hypothèse à l'augmentation de la contraction lorsque la perfusion coronarienne devient plus importante. Néanmoins, Kitakaze et coll. (1989) et Schouten et coll. (1992) ont rapporté que la contraction augmente encore malgré l'étirement maximal des fibres cardiaques (72, 124). En utilisant des coeurs isolés isovolumiques de furets, Kitakaze et coll. (1989) observent, en augmentant la pression de perfusion coronarienne, une hausse de la pression ventriculaire. De plus, Kitakaze et coll. (1989) ont implantés sur la région épicaudique des capteurs sensibles à l'étirement des fibres cardiaques. Ils observent, en présence d'un étirement maximal des fibres

cardiaques qu'une hausse de la perfusion coronarienne produit une augmentation de la force de contraction. Schouten et coll. (1992) élaborent une technique pour perfuser de façon *in vitro* le muscle papillaire de rat. Ainsi, ces auteurs rapportent en présence d'un étirement maximal du muscle papillaire que la force de contraction s'accroît davantage lorsque la pression de perfusion coronarienne augmente (124). Les résultats rapportés par Kitakaze et coll. (1989) et par Schouten et coll. (1992) suggèrent donc que les changements au niveau de la fibre cardiaque ne constituent pas les seuls éléments responsables de l'effet inotrope positif associé à l'augmentation de la perfusion coronarienne.

Kitakaze et coll. (1989) ont tenté d'explorer davantage les mécanismes expliquant l'augmentation de la contraction myocardique en présence d'une augmentation de la perfusion coronarienne. Leurs travaux suggèrent qu'une augmentation de la perfusion coronarienne modifie l'entrée de calcium dans la cellule. Bien qu'ils ne puissent expliquer clairement le mécanisme sous-jacent à cette augmentation de calcium intracellulaire, ces auteurs proposent l'effet d'un médiateur se retrouvant au niveau endothéliale, myocardique ou musculaire lisse. Kitakaze et coll. (1989) proposent l'AMPc comme le second messager stimulé par la hausse de la perfusion. Ainsi, il est démontré dans des cellules cardiaques que l'activation de la protéine kinase A par l'AMPc augmente le calcium intra-cellulaire et la force de contraction (160). Toutefois, l'augmentation de l'AMPc suite à la hausse de la perfusion constitue uniquement une spéculation car contrairement aux observations de Kitakaze et coll. (1989), la présence accrue de l'AMPc devrait aussi augmenter la fréquence cardiaque et améliorer la relaxation myocardique (146).

Bien que la présente étude n'ait pu démontrer l'implication du NO, des dérivés du cytochrome P-450 et de la cyclooxygénase d'origine endothéliale dans l'augmentation de la contraction cardiaque secondaire à la hausse du débit coronarien, Ramaciotti et coll. (1993) ont déjà observé qu'un facteur endothélial, sensible à l'augmentation de la PaO₂ est impliqué dans l'augmentation de la contraction cardiaque (115). De plus, Winegrad (1997) propose que l'interaction

entre les cellules endothéliales et les cardiomyocytes dans la régulation de la contractilité cardiaque est relié à la PaO_2 et forme ainsi une boucle de rétroaction. Cette boucle proposée par Winegrad (1997) peut s'expliquer de la façon suivante. Une augmentation de l'apport en O_2 lorsque le débit coronarien devient plus important active un senseur qui capte la hausse de la tension en O_2 au niveau de la cellule cardiaque qui envoie alors un signal à la cellule endothéliale afin d'augmenter la sécrétion d'endothéline. Cette plus grande sécrétion d'endothéline transige vers le cardiomyocyte afin d'augmenter la contractilité cardiaque. De la même façon, lorsque la PaO_2 chute, le senseur capte la baisse de la tension d' O_2 et envoie un signal vers la cellule endothéliale afin de diminuer la sécrétion d'endothéline, ce qui atténue la contractilité cardiaque. Les observations rapportées par Winegrad (1997) suggèrent aussi que des médiateurs comme le NO, l'endothéline et des facteurs non-identifiés interagissent entre eux et peuvent être responsables de la régulation de la fonction cardiaque secondaire au changement de la perfusion coronarienne (159).

L'augmentation de la rigidité ventriculaire en phase diastolique est aussi attribuée au changement mécanique des vaisseaux coronariens. Les études de Gaasch et coll. (1978); Olsen et coll. (1981) et Vogel et coll. (1982) se sont penchées sur l'importance du débit et/ou de la pression de perfusion comme explication à l'effet lusitrope négatif secondaire à l'augmentation de la perfusion coronarienne. Il est aussi proposé que le débit et la pression contribuent à la hausse du volume coronarien qui serait responsable de la détérioration de la relaxation myocardique (95, 117, 150). L'augmentation du volume coronarien secondaire à la hausse du débit ou de la pression de perfusion constitue une hypothèse très plausible lorsque l'on examine plus en détail le rôle de la microcirculation coronarienne. En infusant des microsphères de 15 μm , Resar et coll. (1993) observent que les vaisseaux de diamètre supérieur à 15-20 μm sont peu importants dans la réponse érectile cardiaque associée à l'augmentation de la perfusion coronarienne. Selon eux, seule l'augmentation du volume dans la portion distale de l'arbre artériel est responsable de la détérioration de la compliance diastolique. Ainsi, nous pouvons

suggéré que la détérioration de la relaxation myocardique observée, dans notre étude, suite à une hausse du débit coronarien peut être reliée à une augmentation du volume des compartiments vasculaires distaux tels les capillaires, les veinules et l'espace interstitiel entourant ces vaisseaux.

La présente étude a néanmoins permis d'observer un rôle protecteur des dérivés de la cyclooxygénase sur la relaxation myocardique lors d'une augmentation de la perfusion coronarienne. L'inhibition des dérivés de la cyclooxygénase par l'indométhacine n'a pas modifié la chute de la résistance coronarienne suite à la hausse du débit coronarien. Conséquemment, en dépit de l'absence d'effets des dérivés de la cyclooxygénase sur le territoire coronarien, nous pouvons émettre l'hypothèse que les dérivés de la cyclooxygénase qui protègent la relaxation myocardique lorsque le débit augmente peuvent provenir d'un site autre que l'endothélium coronarien. Il est démontré que des dérivés de la cyclooxygénase sont produits et libérés au niveau du compartiment myocardique permettant une modulation de la fonction lusitrope (80, 98). De plus, sachant que l'augmentation de la perfusion coronarienne entraîne une hausse du volume coronarien, on peut émettre l'hypothèse que les vaisseaux s'étirent et développent indirectement un stress mécanique sur les fibres cardiaques. En accord avec Sadoshima et coll. (1993), une plus grande concentration d'acide arachidonique et de ces métabolites est libérée lorsque l'on applique un étirement mécanique à des cardiomyocytes (120). Ainsi, l'augmentation de la perfusion coronarienne produit un étirement des fibres cardiaques qui peut activer par la suite l'enzyme impliqué dans la synthèse de l'acide arachidonique, la phospholipase A₂. Finalement, une plus grande quantité d'acide arachidonique étant disponible, plus de dérivés de la cyclooxygénase peuvent être libérés afin de moduler la fonction cardiaque (Figure 3-2). Toutefois, cette explication de l'effet des dérivés de la cyclooxygénase sur la relaxation myocardique lorsque le débit coronarien augmente constitue seulement une hypothèse.

Hypothèse proposée

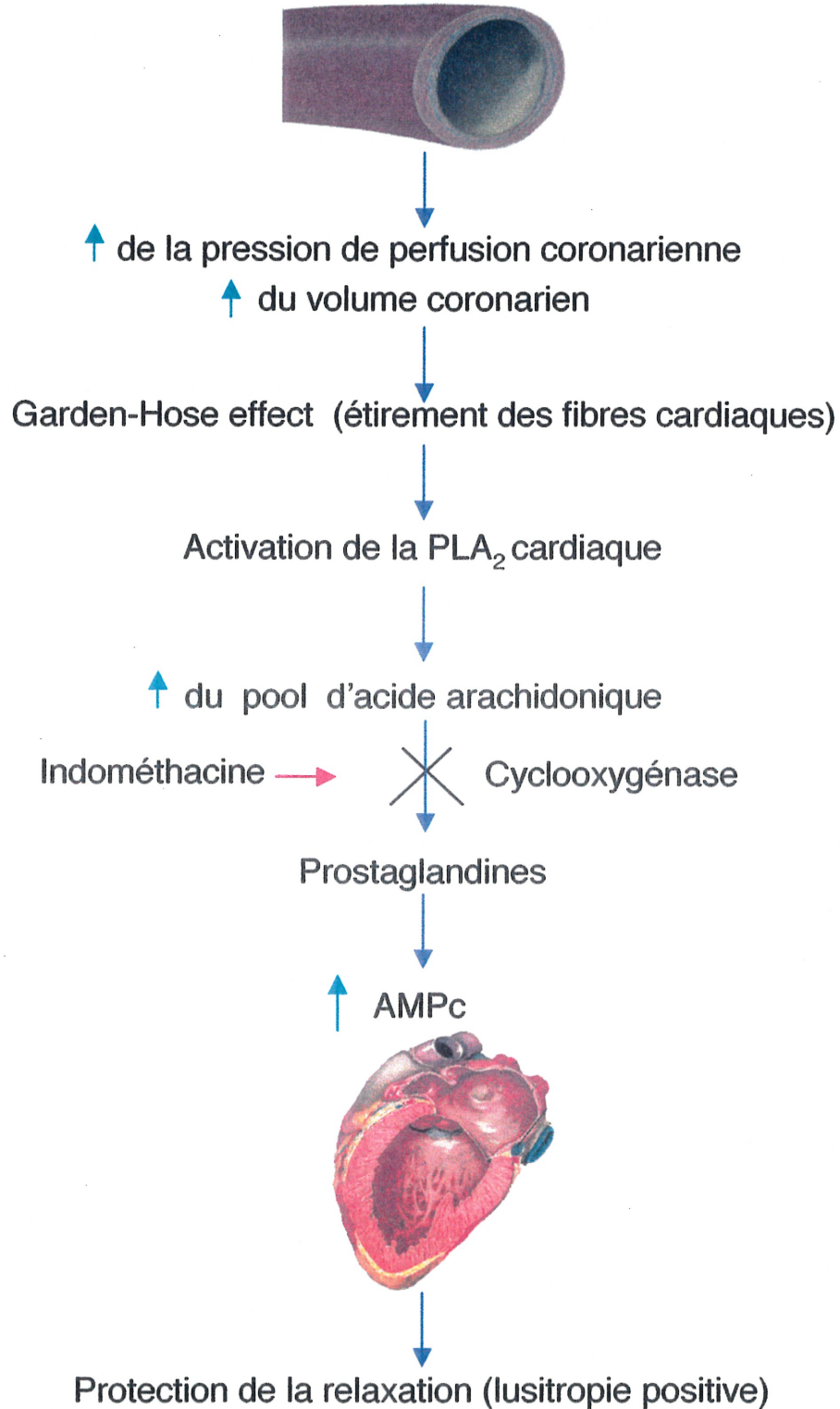


Figure 3-2 Action des dérivés de la cyclooxygénase

3.3 PERSPECTIVES THÉRAPEUTIQUES

Les résultats de la présente étude démontrent une interaction entre le territoire coronarien et les fonctions contractiles cardiaques. On a observé un effet inotrope positif et un effet lusitrope négatif lorsque le débit coronarien est augmenté. Ces observations nous ont donc permis de réfléchir sur les conditions suivantes.

- Est-ce que l'utilisation d'un vasodilatateur coronarien constitue une intervention thérapeutique toujours bénéfique ?
- Est-ce que l'utilisation d'un vasodilatateur coronarien dans une condition impliquant une dysfonction lusitrope (relaxation cardiaque) constitue une thérapie efficace ?
- Est-ce que les dérivés de la cyclooxygénase sont importants pour le maintien d'une relaxation myocardique adéquate ?

Il existe des évidences dans la littérature qui démontrent que les vasodilatateurs coronariens n'améliorent pas la condition des patients atteints de dysfonctions contractiles (47, 79). Les antagonistes des canaux calciques de premières générations tels le diltiazem et le vérapamil induisent des effets délétères chez des patients atteints de défaillance cardiaque avancée (47). Sachant que les antagonistes des canaux calciques de première génération présentent peu de vasosélectivité, il est observé que ces agents accentuent l'effet inotrope négatif présent en défaillance cardiaque (36, 112). Toutefois, l'effet inotrope négatif produit par les antagonistes des canaux calciques de première génération ne représentent pas le seul mécanisme imputable à l'inefficacité de ces agents. Il appert que le mibéfradil un antagoniste des canaux calciques de troisième génération, davantage vasosélectif, n'améliore pas la condition de patients atteints d'une dysfonction cardiaque (79). Il est donc possible que des mécanismes encore inconnus puissent contribuer à l'inefficacité des antagonistes des canaux calciques. L'interaction de ces agents avec des médiateurs endothéliaux demeure toujours une hypothèse plausible qui devrait être davantage étudiée.

L'efficacité des vasodilatateurs en présence d'une dysfonction diastolique est peu connue. Il est vrai que les antagonistes des canaux calciques de première génération

comme le vérapamil améliore la condition cardiaque des patients atteints de dysfonction diastolique (70). Toutefois, il est observé que l'effet bénéfique du vérapamil en présence d'une dysfonction diastolique est imputable à son effet inotrope négatif (70). Ainsi l'action vasculaire des vasodilatateurs dans la cardioprotection reste encore mal comprise et demande des études plus poussées.

Les résultats de notre étude démontrent que les dérivés de la cyclooxygénase participent au maintien de la relaxation myocardique lorsque le débit coronarien augmente. Aucune étude ne s'est intéressée à l'interaction entre les vasodilatateurs et les anti-inflammatoires non-stéroïdiens, tel l'indométhacine. Il est connu que l'indométhacine est délétère chez des patients souffrants de défaillance cardiaque (144). Toutefois, on ne comprend pas bien les raisons de cette interaction négative. Il a été rapporté que l'administration d'anti-inflammatoires non-stéroïdiens avec un antagoniste de l'enzyme de conversion peut être délétère en défaillance cardiaque (144). Il est aussi rapporté que l'administration de β -bloqueurs (propranolol) ou de diurétiques (thiazide) avec l'indométhacine est à proscrire chez des patients insuffisants cardiaques (155). Rien ne laisse présager que l'indométhacine ne puisse aussi interagir avec l'action des vasodilatateurs et que cette interaction soit délétère pour la condition cardiaque. Il serait donc important de caractériser l'interaction entre les anti-inflammatoires non-stéroïdiens et les vasodilatateurs afin d'éviter l'aggravation d'une condition cardiaque précaire.

CHAPITRE 4

BIBLIOGRAPHIE

4.0 BIBLIOGRAPHIE

1. Abel, R.M. et Reis, R.L. Effects of coronary blood flow and perfusion pressure on left ventricular contractility in dogs. *Circulation Research* 27: 961-971, 1970.
2. Alloatti, G., Serazzi, L. et Levi, R.C. Prostaglandins I₂ (PGI₂) enhances calcium current in guinea-pig ventricular heart cells. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 23: 851-860, 1991.
3. Alvarez, J., Montero, M. et Garcia-Sancho, J. High Affinity Inhibition of Ca²⁺ - dependent K⁺ Channels by Cytochrome P-450 Inhibitors. *The Journal of Biological Chemistry* 267(17): 11789-11793, 1992.
4. Amrani, M., O'shea, J., Allen, N.J., Harding, E., Jayakumar, J., Pepper, R., Moncada, S. et Yacoub, M.H. Role of basal release of nitric oxide on coronary flow and mechanical performance of the isolated rat heart. *Journal of Physiology* 456: 681-687, 1992.
5. Arnold, G., Kosche, F., Miessner, E., Neitzert, A. et Lochner, W. The importance of the perfusion pressure in the coronary arteries for the contractility and the oxygen consumption of the heart. *Pflügers Archives* 299: 339-356, 1968.
6. Bacaner, M.B., Liroy, F. et Visscher, M.B. Coronary blood flow, oxygen delivery rate and cardiac performance. *Journal of Physiology* 216: 111-127, 1971.
7. Balligand, J.-L., Kelly, R.A., Marsden, P.A., Smith, T.W. et Michel, T. Control of cardiac muscle cell function by an endogenous nitric oxide signalling system. *Procedure of the National Academy of Science* 90: 347-351, 1993.
8. Balligand, J.-L., Kobzik, L., Han, X., Kaye, D.M., Belhassen, L., O'hara, D.S. et coll. Nitric oxide-dependent parasympathetic signalling is due to activation of constitutive endothelial (type III) nitric oxide synthase in cardiac myocytes. *Journal of Biological Chemistry* 270: 14582-14586, 1995.
9. Baron, A., Frieden, M. et Bény, J.-L. Epoxyeicosatrienoic acids active a high-conductance, Ca²⁺-dependent K⁺ channel on pig coronary artery endothelial cells. *Journal of Physiology* 504(3): 537-543, 1997.

10. Beny, J.L. Endothelial and smooth muscle cells hyperpolarized by bradykinin are not dye coupled. *American Journal of Physiology* 258: H836-H841, 1990.
11. Beny, J.L. et Brunet, P.C. Electrophysiological and mechanical effects of substance P and acetylcholine on rabbit aorta. *Journal of Physiology* 398: 277-289, 1988.
12. Berne, R.M. et Levy, M.N. The cardiac pump. *Cardiovascular Physiology*, (8ième Édition) Ed. Dowell, R.E., St-Louis: Mosby, 2001, p. 55-83.
13. Berne, R.M. et Levy, M.N. Coronary Circulation. *Cardiovascular Physiology* (8ième Édition) Éd. Dowell, R.E., St.-Louis: Mosby, 2001, p. 227-240.
14. Berti, F., Lentati, M. et Usardi, M. The species specificity of prostaglandins E₁ effects on isolated hearts. *Med. Pharmacol. Exp.* 13: 233-240, 1965.
15. Block, A.J. Poole, S. et Vane, J.R. Modification of basal release of prostaglandins from rabbit isolated hearts. *Prostaglandins* 7: 473-486, 1974.
16. Blumenthal, D.K., Stull, J.T. et Gill, G.N. Phosphorylation of cardiac troponin by guanosine 3':5'-monophosphate-dependent protein kinase. *Journal of Biol Chem* 253: 334-336, 1978.
17. Boatwright, R.B., Downey, H.F., Bashour, F.A. et Crystal, G.J. Transmural variation in autoregulation of coronary blood flow in hyperperfused canine myocardium. *Circulation Research* 47: 599-609, 1980.
18. Bolton, T.B., Lang, R.J. et Takewaki, T. Mechanism of action of noradrenaline and carbachol on smooth muscle of guinea -pig anterior mesenteric artery. *Journal of Physiology* 351: 549-572, 1984.
19. Brady, A.J.B., Warren, J.B., Poole-Wilson, P.A., Williams, T.J. et Harding, S.E. Nitric Oxide attenuates cardiac myocyte contraction. *American Journal of Physiology* 265(34): H176-H182, 1993.
20. Brodie, B.R., Chuck, L., Klauser, S., Grossman, W. et Parmley, W. Effects of sodium nitroprusside and nitroglycerin on tension prolongation of cat papillary muscle during recovery from hypoxia. *Circulation Research* 39: 596-601, 1976.
21. Brodie, B.R., Grossman, W., Mann, T. et McLaurin, L.P. Effects of sodium nitroprusside on left ventricular diastolic pressure-volume relations. *The Journal of Clinical Investigation* 59: 59-68, 1977.

22. Brutsaert, D.L., Meulemans, A.L., Sipido, K.R. et Sys, S.U. Effects of damaging the endocardial surface on the mechanical performance of isolated cardiac muscle. *Circulation Research* 62, 1988.
23. Campbell, W.B., Gebremedhin, D., Pratt, P.F. et Harder, D.R. Identification of Epoxyeicosatrienoic Acids as Endothelium-Derived Hyperpolarizing Factors. *Circulation Research* 78(3): 415-423, 1996.
24. Chen, G. et Cheung, D.W. Modulation of endothelium-dependent hyperpolarization and relaxation to acetylcholine in rat mesenteric artery by cytochrome P450 enzyme activity. *Circulation Research* 79: 827-833, 1996.
25. Chilian, W.M. Coronary microcirculation in health and disease. *Circulation* 95: 522-528, 1997.
26. Cohen, R.A., Vanhoutte, P.M. Endothelium-Dependent Hyperpolarization (Beyond Nitric Oxide and Cyclic GMP). *Circulation* 92(11): 3337-3349, 1995.
27. Couttenye, M.M., De Clerck, N.M., Herman, A.G., Brutsaert, D.L. Effects of prostacyclin on contractile properties of isolated mammalian cardiac muscle. *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 7: 971-976, 1985.
28. Daniell, H.B. Coronary flow alterations on myocardial contractility, oxygen extraction, and oxygen consumption. *American Journal of Physiology* 225(5): 1020-1025, 1973.
29. Das, U.N., Lee, A.M. et Barritt, G.J. Prostanoids can modify response to electrical stimulus and Ca^{2+} exchange in isolated myocardial muscle cells. *Prostaglandins and Leukotrienes Medicine* 12: 305-314, 1983.
30. Dhalla, N.S., Yates, J.C. et McNamara, D.B. Myocardial contractility. Mechanism of increases in developed tension due to stretching the isolated heart. *Arch. Int. Physiol. Biochem.* 78: 893-908, 1970.
31. Diamond, J., Ten Eick, R.E. et Trapani, A.J. Are increased in cyclic GMP levels responsible for the negative inotropic effects of acetylcholine in the heart? *Biochemical and Biophysical Research Communications* 79: 912-918, 1977.
32. Dijkman, M.A., Heslinga, J.W., Sipkeman, P. et Westerhof, N. Perfusion-induced changes in cardiac contractility and oxygen consumption are not endothelium-dependent. *Cardiovascular Research* 33: 593-600, 1997.

33. Downey, J.M. Myocardial contractile force as a function of coronary blood flow. *American Journal of Physiology* 230(1): 1-6, 1976.
34. Dusting, G. J., Moncada, S. et Vane, J.R. Prostacyclin (PGX) is the endogenous metabolite responsible for relaxation of coronary arteries induced by arachidonic acid. *Prostaglandins* 13: 3-15, 1977.
35. Edwards, G., Zygmunt, P.M., Högestätt, E.D. et Weston, A.H. Effects of cytochrome P-450 inhibitors on potassium currents and mechanical activity in rat portal vein. *British Journal of Pharmacology* 119: 691-701, 1996.
36. Ezzaher, A., Bouanani, N.E.H., Su, J.B., Hittinger, L. et Crozatier, B. Increased negative inotropic effect of calcium-channel blockers in hypertrophied and failing hearts. *Journal of Pharmacological and Experimental Therapeutics* 257: 466-471, 1991.
37. Feigl, E.O. Coronary physiology. *Physiological Reviews* 63: 1-205, 1983.
38. Finkel, M.S., Oddis, C.V., Mayer, O.H., Hattler, B.G. et Simmons, R.L. Nitric oxide synthase inhibitor alters papillary muscle force-frequency relationship. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 272: 945-952, 1995.
39. Fischmeister, R. et Hartzell, H.C. Cyclic guanosine 3',5'-monophosphate regulates the calcium current in single cells from frog ventricle. *Journal of Physiology (Lond)* 387: 453-472, 1987.
40. Fisher, V.J., Martino, R.A., Harris, R.S. et Kavalier, F. Coronary flow as an independent determinant of myocardial contractile force. *American Journal of Physiology* 217(4): 1127-1133, 1969.
41. Fukao, M., Hattori, Y., Kanno, M., Sakuma, I. et Kitabatake, A. Evidence against a role of cytochrome P450-derived arachidonic acid metabolites in endothelium-dependent hyperpolarization by acetylcholine in rat isolated mesenteric artery. *British Journal of Pharmacology* 120: 439-446, 1997.
42. Furchgott, R.F. The Discovery of Endothelium-Dependent Relaxation. *Circulation* 87(suppl. 5): 3-8, 1993.
43. Furchgott, R.F. et Jawadski, J.V. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 288: 373-376, 1980.
44. Furchgott, R.F. et Vanhoutte, P.M. Endothelium-derived relaxing and contracting factors. *Faseb Journal* 3: 2007-2018, 1989.

45. Gaasch, W.H., Bing, O.H.L., Franklin, A., Rhodes, D., Bernard, S.A. et Weintraub, R.M. The influence of acute alterations in coronary blood flow on left ventricular diastolic compliance and wall thickness. *European Journal of Cardiology Suppl.* 7: 147-161, 1978.
46. Galinanes, M. et Hearse, D.J. Species differences in susceptibility to ischemic injury and responsiveness to myocardial protection. *Cardioscience* 2: 127-143, 1990.
47. Goldstein, R.E., Bocuzzi, S.J., Cruess, D. et Nattel, S. The adverse experience committee, and the multicenter diltiazem postinfarction research group: diltiazem increases late-onset congestive heart failure in postinfarction patients with early reduction in ejection fraction. *Circulation* 83: 52-60, 1991.
48. Gregg, D.E. Effect of coronary perfusion pressure or coronary flow on oxygen usage of the myocardium. *Circulation Research* 13: 497-500, 1963.
49. Grocott-Mason, R.M., Anning, P.B., Lewis, M.J. et Shah, A.M. Nitric Oxide and Myocardial Contraction: Experimental Studies. *Endothelial Modulation of Cardiac Function*, Ed. Lewis, M.J. et Shah, A.M. Amsterdam: Harwood Academic, 1997, p. 19-34.
50. Grocott-Masson, R., Fort, S., Lewis, M.J. et Shah, A.M. Myocardial relaxant effect of exogenous nitric oxide in isolated ejecting hearts. *American Journal of Physiology* 266(35): H1699-H1705, 1994.
51. Grossman, W., McLaurin, L.P. et Rolett, E.L. Alterations in left ventricular relaxation and diastolic compliance in congestive cardiomyopathy. *Cardiovascular Research* 13: 514-522, 1979.
52. Grossman, W., Lambert, P., Moos, S.P., Stefadouros, M. et Young, D.T. Wall Thickness and Diastolic Properties of the Left Ventricle. *Circulation* 49: 129-135, 1974.
53. Grossman, W. et McLaurin, L. Diastolic properties of the left ventricle. *Annals of Internal Medicine* 84: 316-326, 1976.
54. Hecker, M., Bara, A.T., Bauersachs, J. et Busse, R. Characterization of endothelium-derived hyperpolarizing factor as a cytochrome P450-derived arachidonic acid metabolite in mammals. *Journal of Physiology* 481.2: 407-414, 1994.
55. Hintze, T.H. et Kaley, G. Prostaglandins and the control of Blood Flow in the Canine Myocardium. *Circulation Research* 40(3): 313-320, 1977.

56. Holroyde, M.J., Robertson, S.P., Johnson, J.D., Solaro, R.J. et Potter, J.D. The calcium and magnesium binding sites on cardiac troponin and their role in the regulation of myofibrillar adenosine triphosphatase. *Journal of Bio Chem* 255: 11688-11693, 1980.
57. Hood, W.P., Amende, I., Simon, R. et Litchlen, P.R. The effects of intracoronary nitroglycerin on left ventricular systolic and diastolic function in man. *Circulation* 61(6): 1098-1104, 1980.
58. Huang, A.H., Busse, R. et Bassenge, E. Endothelium-dependent hyperpolarization of smooth muscle cells in rabbit femoral arteries is not mediated by EDRF (nitric oxide). *Naunyn-Schmiedebergs Arc Pharmacol* 338: 438-442, 1988.
59. Huang, J.M., Xian, H. et Bacaner, M. Leukotrienes and prostaglandins signal biologic actions by modulating calcium current in guinea pig myocytes. *Circulation* 84 (Suppl II): II-209, 1991.
60. Hutchison, I.R., et Griffith, T.M. Release of endothelium-derived relaxing factor is modulated both by frequency and amplitude of pulsatile flow. *American Journal of Physiology* 261: H257-H262, 1991.
61. Hyde, D.M. et Buss, D.D. Morphometry of the coronary microvasculature of the canine left ventricle. *American Journal of Anatomy* 177: 415-425, 1986.
62. Ignarro, L.J. Biological Actions and Properties of Endothelium-Derived Nitric Oxide Formed and Released from Artery and Vein. *Circulation Research* 65(1): 1-21, 1989.
63. Ishibashi, Y., Duncker, D.J., Zhang, J. et coll. ATP-sensitive K⁺ channels, adenosine, and nitric oxide-mediated mechanisms account for coronary vasodilation during exercise. *Circulation Research* 82: 346, 1998.
64. Iwamoto, T., Bai, X.-J. et Downey, H.F. Coronary perfusion related changes in myocardial contractile force and systolic ventricular stiffness. *Cardiovascular Research* 28: 1331-1336, 1994.
65. Judd, R.M. et Levy, B.I. Effects of barium-induced cardiac contraction on large and small vessel intramyocardial blood volume. *Circulation Research* 68: 217-225, 1991.
66. Kalsner, S. Endogenous Prostaglandin Release Contributes Directly to Coronary Artery Tone. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology* 53: 560-565, 1975.

67. Kapelko, V.I. et Khatkevich, A.N. Dependence of the cardiac contractile force on the coronary perfusion pressure: Difference between the isovolumic hearts of rat and guinea pig. *Cardioscience* 6(1): 25-30, 1995.
68. Karmazyn, M., Leung, C.K. et Dhalla, N.S. Prostaglandin actions and interactions on isolated perfused rat hearts. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology* 57: 1275-1282, 1979.
69. Katz, A.M. Role of the contractile proteins and sarcoplasmic reticulum in the response of the heart to catecholamines: A historical review. *Adv. Cycl. Nucl. Res.* 11: 303-343, 1979.
70. Kelly, R.A., et Smith, T.W. Pharmacological Treatment of Heart Failure. *Goodman & Gilman's The pharmacological basis of Therapeutics*, Ed. Harman J.G. et Limbird, L.E., New York: McGraw-Hill, 1996, p. 809-838.
71. Kelm, M. et Schrader, J. Control of coronary vascular tone by nitric oxide. *Circulation Research* 66: 1561-1575, 1990.
72. Kitakaze, M. et Marben, E. Cellular mechanism of the modulation of contractile function by coronary perfusion pressure in ferrets hearts. *Journal of Physiology* 414: 455-472, 1989.
73. Klabunde, R.E., Ritger, R.C. et Helgren, M.C. Cardiovascular actions of inhibitors of endothelium-derived relaxing factor (nitric oxide) formation / release in anesthetized dogs. *European Journal of Pharmacology* 199: 51-59, 1991.
74. Kojda, G., Kottenberg, K., Nix, P., Schlüter, K.D., Piper, H.M. et Noack, E. Low increase in cGMP induced by organic nitrates and nitrovasodilators improves contractile response of rat ventricular myocytes. *Circulation Research* 78: 91-101, 1996.
75. Kojda, G., Kottenberg, K., Stasch, J.-P., Schrör, K. et Noack, E. Positive inotropic effect of exogenous and endogenous NO in hypertrophic rat hearts. *British Journal of Pharmacology* 122: 821-824, 1997.
76. Kojda, G. et Kottenberg, K. Regulation of basal myocardial function by NO. *Cardiovascular Research* 41: 514-523, 1999.
77. Kuo, L., Davies, M.J. et Chilian, W.M. Longitudinal Gradients for Endothelium-Dependent and -Independent Vascular Responses in the Coronary Microcirculation. *Circulation* 92(3): 518-525, 1995.

78. Lamontagne, D., Pohl, U. et Busse, R. Mechanical deformation of vessel wall and shear stress determine the basal release of endothelium-derived relaxing factor in the intact rabbit coronary vascular bed. *Circulation Research* 70: 123-130, 1992.
79. Levine, T.B., Bernick, P. J. L. M., Caspi, A., Elkayam, U., Geltman, E.M., Greenberg, B., McKenna, W.J., Ghali, J.K., Giles, T.D., Marmor, A., Reisin, L.H., Ammon, S. et Lindberg, E. Effect of Mibefradil, a T-Type Calcium Channel Blocker, on Morbidity and Mortality in Moderate to Severe Congestive Heart Failure (The MACH-1 Study). *Circulation* 101: 758-764, 2000.
80. Limas, C.J. Stimulation by angiotensin of myocardial prostaglandin synthesis. *Biochim. Biophys. Acta* 337: 417-440, 1974.
81. Lincoln, T.M. et Corbin, J.D. Purified cyclic GMP-dependent protein kinase catalyzes the phosphorylation of cardiac troponin inhibitory subunit (TN-I). *Journal of Biol Chem* 253: 337-339, 1978.
82. Lopaschuck, G.D., Michalak, M., Wandler, E.L., Lerner, R.W., Piscione, T.D., Coceani, F. et Olley, P.M. Prostaglandin E receptors in cardiac sarcolemma. *Circulation Research* 65: 538-545, 1989.
83. Mantegaza, P. La prostaglandina E₁ come sostanza sensibilizzatrice per il calcio a livello del cuore isolato di cavia. *Atti. Accad. Med. Lomb.* 20: 66-72, 1965.
84. Marcust, M.L., Chilian, W.M., Kanatsuka, H., Dellsperger, K.C., Eastham, C.L. et Lamping, K.G. Understanding the coronary circulation through studies at the microvascular level. *Circulation* 82: 1-7, 1990.
85. Marieb, E.N. Système cardiovasculaire: Le coeur. *Anatomie et Physiologie Humaines* (Première Édition). Saint-Laurent: Éditions du Renouveau Pédagogique Inc., 1993, p. 604-632.
86. McClellan, G., Weisberg, A. et Winegrad, S. Endothelin regulation of cardiac contractility in absence of added endothelin. *American Journal of Physiology* 268: H1621-H1627, 1995.
87. Mebazaa, A., Mayoux, E., Maeda, K., Martin, L.D., Lakatta, E.G., Robotham, J.L. et Shah, A.M. Paracrine effects of endocardial endothelial cells on myocyte contraction mediated via endothelin. *American Journal of Physiology* 265: H1841-H1846, 1993.

88. Mery, P.F., Lohmann, S.M., Walter, U. et Fischmeister, R. Ca^{2+} current is regulated by cyclic GMP-dependent kinase in mammalian cardiac myocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 88: 1197-1201, 1991.
89. Metsä-Ketelä, T. Cyclic AMP -dependant -independent effects of prostaglandins on the contraction-relaxation cycle of spontaneously beating isolated rat atria. *Acta Physiologica Scandinavia* 112: 481-485, 1981.
90. Meulemans, A.L., Sipido, K.R., Sys, S.U. et Brutsaert, D.L. Atriopeptin III induces early relaxation of isolated mammalian papillary muscles. *Circulation Research* 62: 1171-1174, 1988.
91. Miller, W.P., Nellis, S.H., Liedtke, A.J., Whitesell, L. et Effron, B.A. Coronary hyperperfusion and ventricular fuction in intact and isovolumic pig hearts. *American Journal of Physiology* 258: H500-H507, 1990.
92. Mohan, P., Brutseart, D.L., Paulus, W.J. et Sys, S.U. Myocardial contractile response to nitric oxide and cGMP. *Circulation* 93: 1223-1229, 1996.
93. Mombouli, J.-V., Nakashima, M., Hamra, M. et Vanhoutte, P.M. Endothelium-dependent relaxation and hyperpolarization evoked by bradykinin in canine coronary arteries: enhancement by exercise-training. *British Journal of Pharmacology* 117: 413-418, 1996.
94. Moncada, S., Herman, A., Higgs, E.A. et Vane, J.R. Differential formation of prostacyclin (PGX or PGI₂) by layers of the arterial wall. An explanation for the antithrombotic properties of vascular endothelium. *Thrombosis Research* 11: 323-335, 1977.
95. Morgenstern, C., Holjes, U. et Lochner, A.G. The influence of coronary pressure and coronary flow on intracoronnary blood volume and geometry of the left ventricle. *Pflügers Archives* 340: 101-111, 1973.
96. Nakashima, M., Mombouli, J.V., Taylor, A.A. et Vanhoutte, P.M. Endothelium-dependent hyperpolarization in the human coronary artery. *Endothelium-Derived Hyperpolarization Factor*, Ed. Vanhoutte, P.M. Amsterdam: Harwood Academic Publishers, 1996, p. 278-87.

97. Needleman, P., Kulkarni, P.S. et Raz, A. Coronary Tone modulation: Formation and actions of prostaglandins, endoperoxides and thromboxanes. *Science* 195: 409-412, 1977.
98. Needleman, P. The synthesis and function of prostaglandins in the heart. *Federation Proceedings* 35(12): 2376-2381, 1976.
99. Ogletree, M.L., Smith, J.B. et Lefer, A.M. Cardiac and coronary vascular actions of prostaglandins in cats. *Prostaglandins in cardiovascular and renal function*, Spectrum Publications Inc., 1980, p. 145-158.
100. Olsen, C.O., Attarian, D.E., Jones, R.N., Hill, R.C., Sink, J.D., Lee, K.L. et Wechsler, A.S. The coronary pressure-flow determinants of left ventricular compliance in dogs. *Circulation Research* 49: 856-865, 1981.
101. Opie, L.H. Coronary flow rate and perfusion pressure as determinants of mechanical function and oxidative metabolism of isolated perfused rat heart. *Journal of Physiology* 180: 529-541, 1965.
102. Opie, L.H. Oxygen supply: Coronary flow. *The heart physiology and metabolism* (Deuxième Édition). New York: Raven Press, 1991, p. 277-300.
103. Otani, H. et Das, D.K. Positive inotropic effect and phosphoinositide breakdown mediated by arachidonic acid and prostaglandin $F_{2\alpha}$. *Journal of Pharmacological Experimental and Therapeutic* 244: 844-851, 1988.
104. Palacios, I., Johnson, R.A., Newell, J.B. et Powell J. Left ventricular end-diastolic pressure volume relationships with experimental acute global ischemia. *Circulation* 53(3): 428-436, 1976.
105. Palmer, R.M.J., Ferrige, A.G. et Moncada, S. Nitric Oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 327: 524-526, 1987.
106. Parkington, H.C., Tare, M., Tonta, M.A. et Coleman, H.A. Stretch revealed three components in the hyperpolarization of guinea-pig coronary artery in response to acetylcholine. *Journal of Physiology* 465: 459-476, 1993.
107. Paulus, W., Vantrimpont, P.J. et Shah, A.M. Paracrine coronary endothelial control of left ventricular function in humans. *Circulation* 92: 2119-2126, 1995.

108. Paulus, W.J., Vantrimpont, P.J. et Shah, A.M. Acute effects of nitric oxide on left ventricular relaxation and diastolic distensibility in humans. *Circulation* 89: 2070-2078, 1994.
109. Pfitzer, G., Rüegg, J.C., Flockerzi, V. et Hofman, F. cGMP-dependent protein kinase decreases calcium sensitivity of skinned cardiac fibers. *FEBS* 149(2): 171-175, 1982.
110. Pinto, A., Abraham, N.G. et Mullane, K.M. Arachidonic acid-induced endothelium-dependent relaxations of canine coronary arteries: contribution of a cytochrome P-450 dependent pathway. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 240: 856-863, 1987.
111. Popp, R., Fleming, I. et Busse, R. Pulsatile stretch in coronary arteries elicits release of endothelium-derived hyperpolarization factor: a modulator of arterial compliance. *Circulation Research* 82: 696-703, 1998.
112. Porter, C. B., Walsh, R.A., Badke, F.R. et O'Rourke, R.A. Differential effects of diltiazem and nitroprusside on left ventricular function in experimental chronic volume overload. *Circulation* 68: 685-692, 1983.
113. Prendergast, B.D., Sagach, V.F. et Shah, A.M. Basal Release of nitric Oxide Augments the Frank-Starling Response in the Isolated Heart. *Circulation* 96: 1320-1329, 1997.
114. Raeymaekers, L., Hofman, F. et Casteels, R. Cyclic GMP-dependent protein kinase phosphorylates phospholamban in isolated sarcoplasmic reticulum from cardiac and smooth muscle. *Biochemistry Journal* 252: 269-273, 1988.
115. Ramaciotti, C., McClellan, G., Sharkey, A., Weisberg, A. et Winegrad, S. Cardiac endothelial cells modulate contractility of rat heart in response to oxygen tension and coronary flow. *Circulation Research* 72: 1044-1064, 1993.
116. Rankin, J.S., Arentzen, C.E. Ring, W.S., Edwards, C.H., McHale, P.A. et Anderson, R.W. The diastolic mechanical properties of the intact left ventricle. *Fed. Proc.* 39: 141-147, 1980.
117. Resar, J.R., Judd, R.M., Halperin, H.R., Chacko, V.P., Weiss, R.G. et Yin, F.C.P. Direct evidence that coronary perfusion affects diastolic myocardial mechanical properties in canine heart. *Cardiovascular Research* 27: 403-410, 1993.

118. Rodger, I.W. et Shahid, M. Forskolin, cyclic nucleotides and positive inotropism in isolated papillary muscles of rabbit. *British Journal of Pharmacology* 81: 151-159, 1984.
119. Ross, J., Klocke, F., Kaiser, G. et Braunwald, E. Effect of alterations of coronary blood flow on the oxygen consumption of the working heart. *Circulation Research* 13: 510-513, 1963.
120. Sadoshima, J.-i. et Izumo, S. Mechanical stretch rapidly activates multiple signal transduction pathways in cardiac myocytes: potential involvement of an autocrine/paracrine mechanism. *The EMBO Journal* 12(4): 1681-1692, 1993.
121. Salisbury, P.F. et Cross, C.E. et Rieben, P.A. Influence of coronary artery pressure upon myocardial elasticity. *Circulation Research* 8: 794-800, 1960.
122. Salisbury, P.F., Cross, C.E. et Rieben, P.A. Intramyocardial Pressure and Strength of Left Ventricular Contraction. *Circulation Research* 10: 608-623, 1962.
123. Scharf, S.M. et Bromberger-Barnea, B. Influence of coronary flow and pressure on cardiac function and coronary vascular volume. *American Journal of Physiology* 224(4): 918-925, 1973.
124. Schouten, V. J. A., Allaart, C.P. et Westerhof, N. Effect of perfusion pressure on force of contraction in thin papillary muscles and trabeculae from rat heart. *Journal of Physiology* 451: 585-604, 1992.
125. Schrör, K. Cardiac muscle and coronary vessels. *Biology and Chemistry of Prostaglandins, Related Eicosanoids*, Ed. Curtis-Prior, P.B. 1988, p. 238-257.
126. Schrör, K., Krebs, R. et Nookhwun, C. Increase in the coronary vascular resistance by indomethacin in the isolated guinea pig heart preparation in the absence of changes in mechanical performance and oxygen consumption. *European Journal of Pharmacology* 39: 161-169, 1976.
127. Schrör, K., et Hohlfeld, T. Inotropic actions of eicosanoids. *Basic Research in Cardiology* 87: 2-11, 1992.
128. Schulz, R., Nava, E. et Moncada, S. Induction and potential biological relevance of a Ca^{2+} -independent nitric oxide synthase in the myocardium. *British Journal of Pharmacology* 105: 575-580, 1992.

129. Schulz, R., Smith, J.A., Lewis, M.J. et Moncada, S. Nitric oxide synthase in cultured endocardial cells of the pig. *British Journal of Pharmacology* 104: 21-24, 1991.
130. Schulz, R., Guth, B.D. et Heusch, G. No effect of Coronary perfusion on regional myocardial function within the autoregulatory range in pigs (Evidence against the Gregg phenomenon). *Circulation* 83: 1390-1403, 1991.
131. Schwartz, G., Schaefer, S., Trocha, S.D., Garcia, J., Steinman, S., Massie, B.M. et Weiner, M.W. Effect of supranormal coronary blood flow on energy metabolism and systolic function of porcine left ventricle. *Cardiovascular Research* 26: 1001-1006, 1992.
132. Serizawa, T., Vogel, W.M., Apstein, C.S. et Grossman, W. Comparison of acute alterations in left ventricular relaxation and diastolic chamber stiffness induced by hypoxia and ischemia. *Journal of Clinical Investigation* 68: 91-102, 1981.
133. Shah, A.M., Spurgeon, H.A., Sollot, S.J., Talo, A. et Lakatta, E.G. 8-bromo cyclic GMP reduces the myofilament response to calcium in intact cardiac myocytes. *Circulation Research* 74: 970-978, 1994.
134. Shah, A.M., Lewis, M.J. et Henderson, A.H. Effects of 8-bromo-cyclic GMP on contraction and on inotropic response of ferret cardiac muscle. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 23: 55-64, 1991.
135. Shah, A.M., Mebazaa, A., Wetzel, R.C. et Lakatta, E.G. Novel Cardiac Myofilament Desensitizing Factor Released by Endocardial and Vascular Endothelial and Vascular Endothelial Cells. *Circulation* 89: 2492-2497, 1994.
136. Siegel, G., Carl, A., Alder, A. et Stock, G. Effect of the prostacyclin analogue iloprost on K^+ permeability in the smooth muscle cells of the canine carotid artery. *Eicosanoids* 2: 213-222, 1989.
137. Smith, J.A., Shah, A.M. et Lewis, M.J. Factors released from the endocardium of the ferret and pig modulate myocardial contraction. *Journal of Physiology* 439: 1-14, 1991.
138. Smith, R.E.A., Palmer, R.M.J., Bucknall, C.A., Moncada, S. Role of nitric oxide synthesis in the regulation of coronary vascular tone in the isolated perfused rabbit heart. *Cardiovascular Research* 26: 508-512, 1992.

139. Strauer, B.E. et Scherpe, A. Ventricular function and coronary hemodynamics after intravenous nitroglycerin in coronary artery disease. *American Heart Journal* 95(2): 210-219, 1978.
140. Suga, H. et Sagawa, K. Assessment of absolute volume from diameter of the intact canine left ventricular cavity. *Journal of Applied Physiology* 36: 496-499, 1974.
141. Takamura, Y., Shimokawa, H., Zhao, H., Igarashi, H., Egashira, K. et Takeshita, A. Important Role of Endothelium-Derived Hyperpolarizing Factor in Shear Stress-Induced Endothelium-Dependent Relaxations in the Rat Mesenteric Artery. *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 34: 381-387, 1999.
142. Tanguay, M., Jasmin, G., Blaise, G. et Dumont, L. Impaired coronary sensitivity to diltiazem in experimental heart failure: involvement of the cyclooxygenase but not the nitric oxide-synthase pathway. *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 28: 232-239, 1996.
143. Templeton, G. H., Wildenthal, K. and Mitchell, J. H. Influence of coronary blood flow on left ventricular contractility and stiffness. *American Journal of Physiology* 223(5): 1216-1220, 1972.
144. Townend, J.N., Doran, J. Lote, C.J. et Davies, M.K. Peripheral haemodynamic effects of inhibition of prostaglandin synthesis in congestive heart failure and interactions with captopril. *British Heart Journal* 73(5): 434-441, 1995.
145. Tritto, I., et Ambrosio, G. Spotlight on microcirculation: an update. *Cardiovascular Research* 42: 600-606, 1999.
146. Tsien, R.W. Cyclic AMP and contractile activity in heart. *Advances in Cyclic Nucleotide Research* 8: 363-420, 1977.
147. Van de Voorde, J. et Vanheel, B. Influence of Cytochrome P-450 Inhibitors on Endothelium-Dependent Nitro-L-Arginine-Resistant Relaxation and Cromakalin-Induced Relaxation in Rat Mesenteric Arteries. *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 29: 827-832, 1997.
148. Vapaatalo, H., Metsä-Ketelä, T., Parantainen, J., Palo-Oja, T., Kangasaho, M. et Laustiola, K. The role of cyclic nucleotides and prostaglandins in heart function. *Acta Biological Medecine of Germany* 37: 785-795, 1978.

149. Viau, S., Fontaine, É., Véronneau, M., Jasmin, G. et Dumont, L. Myocardial reactive hyperemia in experimental chronic heart failure: evidence for the role of K⁺ adenosine triphosphate-dependent channels and cyclooxygenase activity. *Journal of Heart Failure* 3(3): 207-215, 1996.
150. Vogel, W.M., Apstein, C.S., Briggs, L.L., Gaasch, W.H. et Ahn, J. Acute alterations in left ventricular diastolic chamber stiffness. *Circulation Research* 51: 465-478, 1982.
151. von der Weid, P.Y., Beny, J.-L. Simultaneous oscillations in the membrane potential of pig coronary artery endothelial and smooth muscle cells. *Journal of Physiology* 471: 13-24, 1993.
152. Wang, J., Wolin, M.S. et Hintze, T.H. Chronic exercise enhances endothelium-mediated dilatation of epicardial coronary artery in conscious dogs. *Circulation Research* 73: 829-838, 1993.
153. Watanabe, J., Levine, M.J., Bellotto, F. et Johnson, R.G. Effects of coronary venous pressure on left ventricular diastolic distensibility. *Circulation Research* 67: 923-932, 1990.
154. Watters, T.A., Alaine, B., Wu, S.T., Parmley, W.W. et Wikman-Coffelt, J. Hydrodynamics in the heart modulates work. *Heart Vessels* 4: 128-135, 1988.
155. Webster, J. Interactions of NSAIDs with diuretics and B-blockers mechanisms and clinical implications. *Drugs* 30: 32-41, 1985.
156. Weintraub, N.L., Fang, X., Kaduce, T.L., Van Rollins, M., Chatterjee, P. et Spector, A.A. Potentiation of Endothelium-Dependent Relaxation by Epoxyeicosatrienoic Acids. *Circulation Research* 81(2): 258-267, 1997.
157. Weisberg, H., Katz, L.N. et Boyd, E. Influence of coronary flow upon oxygen consumption and cardiac performance. *Circulation Research* 13: 522-528, 1963.
158. Widmann, M.D., Weintraub, N.L., Fudge, J.L., Brooks, L.A. et Dellsperger, K.C. Cytochrome P-450 pathway in acetylcholine-induced canine coronary microvascular vasodilation in vivo. *American Journal of Physiology* 274(43): H283-H289, 1998.
159. Winegrad, S. The relation of endothelial cell regulation of contractility of the heart to the supply of oxygen. *Endothelial modulation of cardiac function*, Ed. Lewis, M.J. et Shah, A.M. Amsterdam: Harwood Academic Publishers, 1997, p. 167-183.

160. Xenophontos, X., Morgan, H. et Watson, P. Muscarinic-cholinergic inhibition of pressure acceleration of protein synthesis in arrested isolated rat hearts. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 19 suppl. IV: S.27, 1987.
161. Zappellini, A., Moreno, H., Antunes, E. et de Nucci, G. Dissociation between the increase in systemic vascular resistance induced by acute nitric oxide synthesis inhibition and the decrease in cardiac output in anesthetized dogs. *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 29: 45-48, 1997.
162. Zygmunt, P.M., Edwards, G., Weston, A.H., Davis, C. et Högestätt, E.D. Effects of cytochrome P450 inhibitors on EDHF-mediated relaxation in the rat hepatic artery. *British Journal of Pharmacology* 118: 1147-1152, 1996.