

Université de Montréal

**Modulation des réponses adrénérgiques cardiaque et
coronarienne par les dérivés de la cyclooxygénase dans le
cœur défaillant du hamster UM-X7.1**

par

Danica Brousseau

Département de pharmacologie

Faculté de médecine

**Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures
en vue de l'obtention du grade de
maîtrise en pharmacologie**

Septembre 2001

© Danica Brousseau, 2001



W
4
L58
2002
N. 0/6

Université de Montréal
Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé :
**Modulation des réponses adrénérgiques cardiaque et
coronarienne par les dérivés de la cyclooxygénase dans le
cœur défaillant du hamster UM-X7.1**

présenté par :
Danica Brousseau

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Dr. Robert Élie président-rapporteur
Dr. Louis Dumont directeur de recherche
Dr. Gaëtan Jasmin codirecteur
Dr. Jean St-Louis membre du jury

RÉSUMÉ

Les altérations du système sympathique dans le cœur défaillant sont controversées. Les dérivés de la cyclooxygénase semblent impliqués dans l'altération de certaines réponses dans les cœurs défaillants. Nous croyons que des altérations dans la voie de la cyclooxygénase pourraient être impliqués dans la modification des réponses adrénérgiques observées en défaillance cardiaque. Des cœurs isolés de hamsters cardiomyopathiques (UM-X7.1) et normaux, âgés d'au moins 240 jours, ont été utilisés. Les réponses coronarienne et cardiaque à des stimulations α_1 -, β_1 - et β_2 -adrénérgiques sont observées dans les cœurs normaux et défaillants. En second lieu, ces réponses sont comparées en présence et en absence d'indométhacine. La vasoconstriction α_1 -adrénérgique est inchangée en défaillance cardiaque ($11.2\% \pm 2.3\%$ versus $10.8\% \pm 3.3\%$, *CM versus N*), tandis que les vasodilatations β_1 - et β_2 -adrénérgiques sont réduites (β_1 : $124.2\% \pm 19.4\%$ versus $49.5\% \pm 8.8\%$, $p < 0.01$); (β_2 : $98.9\% \pm 9.8\%$ versus $56.5\% \pm 12.0\%$, $p < 0.05$). Les réponses inotropes positives α_1 - et β_1 -adrénérgiques sont réduites en défaillance cardiaque (α_1 : $126.5\% \pm 27.6\%$ versus $54.2\% \pm 13.3\%$, $p < 0.05$); (β_1 : $170.1\% \pm 17.8\%$ versus $95.2\% \pm 14.9\%$, $p < 0.01$), alors que la réponse β_2 -adrénérgique n'est pas significativement modifiée ($118.6\% \pm 14.9\%$ versus $87.8\% \pm 21.9\%$, *N.S.*). En présence d'indométhacine, la vasoconstriction α_1 -dépendante est inchangée dans le cœur normal, tandis qu'elle est doublée dans le cœur défaillant. La vasodilatation β_2 -dépendante,

de même que les effets inotropes positifs α_1 - et β_2 -dépendants sont réduits de moitié en présence d'indométhacine, dans les cœurs normaux et défaillants. Ces résultats suggèrent une interaction complexe entre le système sympathique et l'activation de la cyclooxygénase.

Mots-clés : adrénergique, cyclooxygénase, défaillance cardiaque, débit coronarien, dynamique cardiaque.

ABSTRACT

Although the influence of the adrenergic system has been studied in the presence of heart failure, controversies still exist. Since cyclooxygenase (COX) derivatives appear to modulate coronary and cardiac adaptation in the failing heart, we hypothesized that COX derivatives may participate in the altered adrenergic responses in this situation. Isolated hearts from cardiomyopathic (UM-X7.1 subline) and normal hamsters, aged >240 days, were utilized. Coronary and cardiac response to α_1 -, β_1 - and β_2 -adrenergic stimulations were observed before and after pretreatment with indomethacin, a COX inhibitor. Reduction of coronary flow elicited by α_1 -adrenergic stimulation was unchanged in the presence of heart failure ($11.2\% \pm 2.3\%$ versus $10.8\% \pm 3.3\%$, CM versus N) while β_1 - and β_2 -induced vasodilatation was reduced (β_1 : $124.2\% \pm 19.4\%$ versus $49.5\% \pm 8.8\%$, $p < 0.01$); (β_2 : $98.9\% \pm 9.8\%$ versus $56.5\% \pm 12.0\%$, $p < 0.05$). Inotropic response to α_1 - and β_1 -stimulation was also reduced in failing hearts (α_1 : $126.5\% \pm 27.6\%$ versus $54.2\% \pm 13.3\%$, $p < 0.05$); (β_1 : $170.1\% \pm 17.8\%$ versus $95.2\% \pm 14.9\%$, $p < 0.01$) while β_2 -adrenergic action was unchanged ($118.6\% \pm 14.9\%$ versus $87.8\% \pm 21.9\%$, N.S.). Pretreatment with indomethacin exacerbated coronary flow reduction observed with α_1 -stimulation in failing hearts only. β_2 -induced coronary vasodilatation as well as inotropic response to α_1 - and β_2 -stimulation were impaired in the presence of indomethacin in normal and failing hearts. Results suggest a complex interaction between adrenergic and cyclooxygenase activation.

Key words: adrenergic, cyclooxygenase, heart failure, coronary flow, cardiac dynamics

TABLE DES MATIÈRES

CHAPITRE 1 : Introduction	
1.1 – Un problème de société	p.2
1.1.1 – La recherche	p.3
1.1.2 – La situation réelle	p.4
1.2 – La défaillance cardiaque	p.6
1.3 – Le rôle de l'activation sympathique	p.9
1.4 – Le système adrénergique	p.11
1.4.1 – La réponse α_1 -adrénergique	p.11
1.4.2 – La réponse β -adrénergique	p.13
1.5 – Le système adrénergique en défaillance cardiaque	p.14
1.5.1 – Le compartiment coronarien	p.14
1.5.2 – Le compartiment cardiaque	p.15
1.6 – Les dérivés de la cyclooxygénase	p.17
1.6.1 – Les réponses cardiovasculaires des dérivés de la cyclooxygénase	p.17
1.6.2 – La voie de la cyclooxygénase et le système adrénergique	p.18
1.7 – Modèle expérimental de défaillance cardiaque	p.21
1.8 – But du projet de recherche	p.25

CHAPITRE 2 : Manuscrit	p.28
2.1 – Introduction	p.30
2.2 – Material and methods	p.32
2.3 – Results	p.36
2.4 – Discussion and conclusion	p.40
2.5 – References	p.49
CHAPITRE 3 : Discussion et conclusion	p.64
3.1 – Modèle expérimental	p.65
3.2 – La réponse adrénérquique	p.68
3.2.1 – L'activité sympathique basale	p.68
3.2.2 – Réponse adrénérquique du cœur normal	p.69
3.2.3 – Réponse adrénérquique du cœur défaillant	p.69
3.2.3.1 – Le compartiment coronarien	p.70
3.2.3.2 – Le compartiment cardiaque	p.72
3.3 – L'implication de la voie de la cyclooxygénase	p.76
3.3.1 – La réponse coronarienne	p.76
3.3.2 – La réponse cardiaque	p.79
3.4 – Conclusion	p.80
CHAPITRE 4 : Bibliographie	p.81

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Baseline hemodynamics

p. 57

Tableau II : Hemodynamic response to the α_1 antagonist prazosin,
the β_1 antagonist metoprolol and the β_2 antagonist ICI
118,551 in normal (N) and failing (F) isolated hearts.

p. 58

Tableau III : Effects of phenylephrine, dobutamine and terbutaline
on left ventricular diastolic pressure (LVDP) and heart
rate (HR) in normal (N) and failing (F) hearts.

p. 59

LISTE DES FIGURES

- Figure 1 : Dérivés du métabolisme de l'acide arachidonique
p. 20
- Figure 2 : Évolution de la cardiomyopathie du hamster UM-X7.1
p. 24
- Figure 3 : Cœur isolé perfusé
p. 27
- Figure 4 : Coronary response to phenylephrine ($1\mu\text{M}$), dobutamine
(500nM) and terbutaline ($3\mu\text{M}$)
p. 60
- Figure 5 : Inotropic response to phenylephrine ($1\mu\text{M}$), dobutamine
(500nM) and terbutaline ($3\mu\text{M}$)
p. 61
- Figure 6 : Effect of indomethacin ($10\mu\text{M}$) on the coronary response
to phenylephrine ($1\mu\text{M}$) or terbutaline ($3\mu\text{M}$)
p. 62
- Figure 7 : Effect of indomethacin ($10\mu\text{M}$) on the cardiac inotropic
response to phenylephrine ($1\mu\text{M}$) or terbutaline ($3\mu\text{M}$)
p. 63

LISTE DES ABRÉVIATIONS

AA :	Acide arachidonique
AC :	Adénylate cyclase
AMPc :	Adénosine monophosphate cyclique
CF :	Coronary flow (débit coronarien)
CM :	Cardiomyopathique
COX :	Cyclooxygénase
$\Delta\%$:	Variation en pourcentage
ΔmmHg :	Variation en millimètres de mercure
DAG :	Diacylglycérol
g :	Gramme
HR :	Heart rate (fréquence cardiaque)
IP ₃ :	Inositol triphosphate
LVDP :	Left ventricular diastolic pressure (pression ventriculaire diastolique gauche)
LVSP :	Left ventricular systolic pressure (pression ventriculaire systolique gauche)
μM :	Micromolaire
mg :	Milligramme
ml/min :	Millilitre par minute
mmHg :	Millimètre de mercure
mRNA :	Messenger ribonucleic acid (acide ribonucléique messenger)
N :	Normal
NA :	Noradrénaline
NaF :	Fluorure de sodium
NE :	Norepinephrine (noradrénaline)

nM :	Nanomolaire
N.S. :	Non significatif
PGD ₂ :	Prostaglandine D ₂
PGE ₁ :	Prostaglandine E ₁
PGE ₂ :	Prostaglandine E ₂
PGF _{2α} :	Prostaglandine F _{2α}
PGH ₂ :	Prostaglandine H ₂
PGI ₂ :	Prostaglandine I ₂ , prostacycline
PKA :	Protéine kinase A
PKC :	Protéine kinase C
PLA ₂ :	Phospholipase A ₂
PLC :	Phospholipase C
PLD :	Phospholipase D
SEM :	Standard error of means (erreur-type)
SNS :	Système nerveux sympathique
SRAA :	Système rénine-angiotensine-aldostérone
TnI :	Troponine I
TnT :	Troponine T
TXA ₂ :	Thromboxane A ₂

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier le Dr. Louis Dumont, qui m'a donné l'opportunité de me joindre à son équipe et de découvrir le monde de la recherche. Sa patience et sa disponibilité m'ont grandement aidée à rendre ce projet à terme. Je tiens également à remercier le Dr. Gaëtan Jasmin, qui a co-dirigé mon projet de recherche.

Au cours des trois dernières années, j'ai eu l'occasion de travailler avec plusieurs personnes, de près ou de loin. Je remercie donc Jean-François Desjardins, Julie Massicotte, France Paquette, Nathalie Lapointe, Johanne Villame et Kathleen Deschamps, qui m'ont supportée aussi bien techniquement que moralement. Je remercie Florin Sasarman et Stéphanie David pour leur support technique, Elisabeth Peres pour le soutien infographique, ainsi que Lucie Héroux, qui m'a dépannée plus d'une fois.

Finalement, un gros merci à Myriam Binet, qui m'a accompagnée et encouragée dans le défi de concilier deux programmes à la fois.

*À mes parents,
qui m'ont supportée de toutes
les façons possibles tout au
long de ce projet.*

CHAPITRE 1 :
INTRODUCTION

1.1 – Un problème de société

La défaillance cardiaque préoccupe toutes les populations, et ce depuis plusieurs siècles. En effet, les peuples grec, romain et égyptien avaient déjà décrit cette condition, bien qu'ils ne la comprenaient pas (*Davis et coll. 2000*). Au travers des siècles, plusieurs découvertes ont mené à une meilleure compréhension de la défaillance cardiaque, notamment celles du système circulatoire, par William Harvey en 1628, et de l'électrocardiographie.

Malgré tous les efforts déployés, plusieurs aspects de cette maladie demeurent nébuleux. À ce jour, il n'y a toujours pas consensus quant à une définition précise de la défaillance cardiaque, ce qui n'en facilite pas le diagnostic. Il existe en effet plusieurs systèmes de classification de l'évolution de la maladie, qui peuvent être basés sur des résultats cliniques et/ou électrocardiographiques. À titre d'exemple, la réduction de la fraction d'éjection est l'un des critères diagnostiques les plus utilisés. Par contre, le pourcentage de réduction requis pour diagnostiquer une défaillance cardiaque varie d'une étude à l'autre.

Plusieurs études ont été réalisées au cours des années, afin non seulement d'expliquer la défaillance cardiaque, mais également afin de développer son aspect thérapeutique.

1.1.1 – La recherche

Bien qu'aucun traitement définitif n'ait été découvert, plusieurs catégories de médicaments sont aujourd'hui disponibles afin de réduire les symptômes de la défaillance cardiaque. Les diurétiques, les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine et les bloqueurs des récepteurs β -adrénergiques sont les plus prescrits (*Van Zwieten 1996*). Ces traitements ont permis non seulement de réduire les symptômes, en améliorant par le fait même la qualité de vie des patients, mais également d'augmenter la survie (*Davis et coll. 2000*). Dans les dix dernières années, une réduction de mortalité de 46% a été observée dans les diverses études cliniques (*Braunwald et Bristow 2000*). Malheureusement, ce taux de réduction est bien supérieur à ce que l'on observe en réalité. Les études cliniques ont pour sujets une majorité (70 à 80%) d'hommes, âgés en moyenne de 60 à 70 ans, alors que dans la population en général, autant de femmes que d'hommes souffrent de défaillance cardiaque et la plupart d'entre eux ont plus de 70 ans (*Sharpe 1998*). La comorbidité devient plus fréquente, et certains aspects pharmacocinétiques sont modifiés chez les personnes plus âgées. De plus, la compliance au traitement est étroitement surveillée dans le cadre des études cliniques, alors qu'elle ne l'est pas chez la plupart des patients. Ces facteurs expliquent, du moins en partie, l'écart observé entre les résultats des études cliniques et les résultats obtenus dans la population en général.

1.1.2 – La situation réelle

Au Canada, la principale cause de mortalité est reliée aux maladies cardiovasculaires (37%). À titre comparatif, le cancer arrive au deuxième rang, avec 28% des décès (*Statistiques Canada 1999*). Aux États-Unis, la défaillance cardiaque est la principale cause de mortalité (*Hunter et Chien 1999*). On estime à 550 000 le nombre de nouveaux cas par année. En 1999, 4.6 millions de personnes étaient atteintes. On estimait que le même nombre de personnes démontraient à ce moment une dysfonction ventriculaire gauche asymptomatique, et étaient donc à très haut risque de développer une défaillance cardiaque (*Braunwald et Bristow 2000*). Dans les 10 à 15 dernières années, le nombre d'hospitalisations pour défaillance cardiaque a doublé, et plus de 50% des patients ont été réadmis à l'hôpital dans les six mois suivant la première admission (*Goff et coll. 2000*).

En 1996, les statistiques de l'Organisation Mondiale de la Santé indiquent que la défaillance cardiaque affecte entre 11 000 et 19 000 personnes par million d'habitants, soit de 1 à 2% de la population de chacun des continents (*Cleland et coll. 2001*). Pour la plupart des pays industrialisés, les dépenses relatives à la défaillance cardiaque représentent de 1 à 2% du budget annuel en santé (*Davis et coll. 2000*). Aux États-Unis, en 1997, l'ensemble des coûts directs et indirects reliés à la défaillance cardiaque est évalué à 18.8 milliards de dollars américains (*Goff et coll. 2000*).

Considérant l'augmentation de la survie suite à un infarctus du myocarde, qui laisse souvent les patients aux prises avec une fonction ventriculaire compromise, ainsi que le vieillissement de la population, le monde médical prévoit que la mortalité, la morbidité, de même que les coûts reliés à la défaillance cardiaque seront encore grandissants dans les années à venir (*Delahaye et de Gevigney 2001*). Il est donc primordial de poursuivre des études sur la défaillance cardiaque, afin de mieux comprendre cette condition, et permettre le développement de stratégies thérapeutiques mieux ciblées.

1.2 – La défaillance cardiaque

Malgré les nombreuses études sur le sujet, il existe encore de multiples questions concernant la défaillance cardiaque. Plusieurs observations ont toutefois permis de dresser un portrait général de cette condition.

La défaillance cardiaque serait le résultat d'un processus irréversible et progressif déclenché en réponse à des facteurs génétiques, physiologiques et environnementaux (*Hunter et Chien 1999*). Elle est caractérisée par une insuffisance mécanique, amenant une chute de la performance de la pompe cardiaque et, par le fait même, une chute de perfusion sanguine des tissus. Ces modifications physiologiques peuvent être accompagnées d'altérations géométriques des chambres cardiaques (*Eichhorn et Bristow 1996*).

Il a été démontré que les deux principaux facteurs étiologiques de la défaillance cardiaque sont les maladies coronariennes et l'hypertension artérielle (*Delahaye et de Gevigney 2001*). À ces facteurs s'ajoutent les autres maladies cardiovasculaires, dont le stade évolutif final est souvent une défaillance cardiaque, ainsi que d'autres facteurs de risque, tels l'obésité et le tabagisme (*He et coll. 2001*).

Au niveau physiologique, plusieurs hypothèses ont été émises pour tenter d'expliquer l'origine et la nature de la défaillance cardiaque. Les cellules musculaires cardiaques démontrent un défaut de

contractilité. La cause exacte de cette dysfonction demeure toutefois inconnue. Certains mécanismes de régulation de la contractilité pourraient être en cause, comme des modifications dans la fonction et/ou l'expression de certaines protéines contractiles ou régulatrices. Par exemple, des altérations du complexe des troponines ont été démontrées dans les cœurs défailants (*Del Carlo et O'Connor 1999*). D'autres chercheurs ont constaté des anomalies dans le métabolisme énergétique des cœurs défailants (*Buser et coll. 1995*). Cependant, il est difficile de déterminer si ces anomalies sont la cause ou le résultat de la défaillance. Plusieurs aspects du métabolisme calcique semblent également affectés lors de la défaillance cardiaque. Une diminution de l'activité de la Ca^{2+} -ATPase du réticulum sarcoplasmique (SERCA2a) a été observée. Cette altération, conjointement à d'autres modifications du transport calcique, entraîne une augmentation du niveau de calcium intracellulaire, et éventuellement à une surcharge calcique. Il est possible que cette surcharge calcique soit transformée en surcharge sodique, suite à l'action de l'échangeur $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ (*Harding et coll. 1998*). Des éléments du cytosquelette pourraient être altérés, de même que l'efficacité du couplage excitation-contraction (*Braunwald et Bristow 2000*). Des altérations au niveau de certains récepteurs membranaires ainsi que de leurs voies de signalisation intracellulaires figurent également parmi les principales hypothèses (*Harding et coll. 1998*). Un phénomène apoptotique, conduisant à la perte de cellules musculaires cardiaques et, par le fait même à une contractilité réduite, a aussi été démontré dans les cœurs défailants (*Hunter et Chien 1999*). Ainsi, autant des phénomènes ioniques,

métaboliques, membranaires et structuraux semblent être en cause dans l'avènement de cette pathologie hautement complexe.

1.3 – Le rôle de l'activation sympathique

Un intérêt grandissant sur le rôle du système nerveux sympathique (SNS) dans la défaillance cardiaque s'est développé depuis les années 1970. En réponse à la contractilité réduite du myocarde, il y a activation du SNS (*Mann 1998*). L'apport adrénérgique provoque une augmentation de la contractilité, de la vitesse de contraction et de la vitesse de relaxation du cœur, ainsi qu'une vasoconstriction périphérique (*Brodde 1991*). Ceci a pour effet de rétablir une perfusion adéquate. L'activation sympathique est donc initialement bénéfique.

Par contre, à long terme, celle-ci devient nocive. La vasoconstriction périphérique se voit accrue suite à la libération d'hormones vasoconstrictrices. En effet, l'activation du SNS déclenche celle du système rénine-angiotensine-aldostérone (SRAA) ce qui, en plus d'augmenter la constriction vasculaire, favorise la rétention d'eau et d'électrolytes (*Packer 1990*). Ainsi, cette augmentation substantielle de la postcharge, de même que les coûts énergétiques accrus suite à la hausse de fréquence et de contractilité cardiaques, plongent graduellement le cœur dans un état de défaillance (*Braunwald et Bristow 2000*).

De plus, ces effets délétères ne sont pas uniquement attribuables à des phénomènes périphériques. L'activation sympathique libère de grandes quantités de noradrénaline (NA) dans la circulation sanguine. Or, il a été démontré que les catécholamines ont un effet toxique direct sur les cardiomyocytes (*Packer 1990*). Il a également

été observé que l'exposition prolongée à ce médiateur provoque une désensibilisation des récepteurs adrénergiques, principalement les récepteurs de type β -adrénergique (*Mann 1998*). Ces récepteurs médient l'augmentation de la force et de la fréquence contractile du cœur. La réponse réduite qui s'ensuit induit une plus grande activation du SNS afin de rétablir une perfusion adéquate. Ce cercle vicieux fait en sorte que les réserves de NA cardiaques s'épuisent, et le taux de NA plasmatique devient très élevé (*Horn et Bilezikian 1990*). Or, des études ont démontré une corrélation significative entre les taux élevés de NA plasmatique et la sévérité des dysfonctions ventriculaires d'une part, et la mortalité d'autre part (*Ruffolo et Feuerstein 1998*). Toutes ces observations semblent donc indiquer que le SNS joue un rôle important dans le développement de la défaillance cardiaque.

1.4 – Le système adrénérgique

Dans le cœur normal, le SNS participe à la modulation de la fonction cardiaque. Les vaisseaux sanguins sont également soumis à l'influence adrénérgique. La stimulation sympathique peut provenir à la fois de la voie nerveuse et de la voie sanguine ou humorale. La noradrénaline (NA), médiateur principal, peut se lier à deux types principaux de récepteurs adrénérgiques, nommés α et β . Ces récepteurs sont ensuite classés en sous-types (α_1 , α_2 , β_1 , β_2 , β_3), qui eux-mêmes peuvent également être subdivisés (α_{1a} , α_{1b}) (*Brodde et Michel 1999*). Les actions de certains de ces récepteurs étant antagonistes à celles d'autres récepteurs adrénérgiques, ce système peut très efficacement moduler les fonctions cardiaque et vasculaire.

1.4.1 – La réponse α_1 -adrénérgique

Les récepteurs α_1 -adrénérgiques sont présents dans le cœur et dans les vaisseaux coronariens (*Bristow et coll. 1990, Leier et coll. 1990*). La stimulation de ces récepteurs provoque l'activation d'un complexe hétérotrimérique nommé protéine G, du fait qu'il lie des nucléotides de type guanine. Ces protéines G existent sous plusieurs formes différentes. Elles ont pour rôle de coupler un récepteur membranaire à des effecteurs intracellulaires. Dans le cas du récepteur α_1 -adrénérgique, la protéine G_q est activée, ce qui mène à l'activation de la phospholipase C (PLC). Cette dernière dégrade des phospholipides membranaires en diacylglycérol (DAG) et en

1,4,5-inositol triphosphate (IP₃). À son tour, IP₃ induit la libération de calcium des réserves du réticulum sarcoplasmique, tandis que DAG provoque l'activation de la protéine kinase C (PKC). Celle-ci peut agir en phosphorylant des transporteurs et/ou canaux ioniques et des protéines contractiles ou régulatrices (*Terzic et coll. 1993*).

Il a également été rapporté que la stimulation α_1 -adrénergique pouvait activer les phospholipases A₂ et D (PLA₂, PLD), qui induisent respectivement la libération d'acide arachidonique et d'acide phosphatidique (*Ruan et coll. 1998*). Ces deux produits peuvent être transformés enzymatiquement en DAG (*Terzic et coll. 1993*).

Au niveau vasculaire, le résultat de l'activation des récepteurs α_1 -adrénergiques est une vasoconstriction, qui serait due à l'augmentation du niveau de calcium intracellulaire. Ceci a été observé dans plusieurs lits vasculaires, dont les vaisseaux coronariens (*Main et coll. 1991, Dora et coll. 2000*). Au niveau cardiaque, la stimulation α_1 -adrénergique induit une réponse inotrope positive, soit une augmentation de la force contractile. Cette réponse ne serait pas uniquement tributaire de l'augmentation du niveau de calcium intracellulaire, mais aussi de plusieurs événements PKC-dépendants, tels l'alcalinisation cytosolique et l'augmentation de la sensibilité calcique des myofilaments (*Fedida et coll. 1993*). Une légère réponse chronotrope positive, soit une augmentation de la fréquence cardiaque, a été remarquée, mais de façon inconstante (*Leier et coll. 1990*).

1.4.2 – La réponse β -adrénergique

Les récepteurs β_1 - et β_2 -adrénergiques empruntent la même voie de communication intracellulaire, et sont donc regroupés ensemble dans la présente section. Ils sont tous deux présents à la fois dans le cœur et dans les vaisseaux coronariens (*Kaura et coll. 1996, Main et coll. 1991*). Leur stimulation induit l'activation de la protéine G_s , qui couple le récepteur à l'adénylate cyclase (AC), enzyme qui stimule la production d'adénosine monophosphate cyclique (AMPc). L'AMPc stimule à son tour la protéine kinase A (PKA), qui agit en phosphorylant divers éléments cellulaires (*Brodde et coll. 1995*). Bien que les récepteurs β_1 -adrénergiques soient présents en plus grand nombre, il semble que le couplage des récepteurs β_2 -adrénergiques à la voie de signalisation intracellulaire soit plus efficace (*Pavoine et coll. 1999*).

Ainsi, au niveau vasculaire et coronaire, la stimulation β -adrénergique provoque une vasodilatation (*Shaffer et Malik 1982, Xu et coll. 2000*). Au niveau cardiaque, les récepteurs β -adrénergiques médient des réponses inotrope et chronotrope positives, dues à l'augmentation de la force contractile et de la vitesse de contraction et de relaxation (*Bristow et coll. 1986, Brodde et coll. 1995*).

1.5 – Le système adrénérgerique en défaillance cardiaque

Plusieurs anomalies du système adrénérgerique ont été observées dans les cœurs défaillants, tant au niveau des récepteurs que de leur réponse et leurs voies de transduction. Le compartiment adrénérgerique cardiaque a été examiné de façon assez poussée, tandis que le compartiment adrénérgerique coronarien a beaucoup moins été étudié.

1.5.1 – Le compartiment coronarien

Très peu d'informations sont disponibles concernant les actions du système adrénérgerique sur le compartiment coronarien en défaillance cardiaque. À notre connaissance, aucune étude n'est parvenue à la conclusion que la densité des récepteurs adrénérgeriques coronariens soit modifiée en défaillance cardiaque. Quelques études ont démontré des altérations au niveau des réponses adrénérgeriques vasculaires. Ainsi, une hyperréactivité α_1 -adrénérgerique a été observée dans plusieurs lits vasculaires, mais principalement sur le tissu aortique, chez des animaux défaillants (*Hunter et Elbrink 1983, Crespo 1999*). Au niveau coronarien, une désensibilisation de la réponse β_1 - et β_2 -adrénérgerique a été rapportée en défaillance cardiaque (*Brodde et coll. 1995*). Nous pouvons donc conclure que les conséquences de la défaillance cardiaque sur le compartiment coronarien ne sont pas totalement connues.

1.5.2 – Le compartiment cardiaque

Les répercussions de la défaillance cardiaque sur le compartiment adrénergique cardiaque ont été l'objet de plusieurs études, et sont donc beaucoup mieux connues. Cependant, parmi les trois composantes adrénergiques principales, la moins étudiée est la composante α_1 -adrénergique cardiaque. En effet, plusieurs controverses ne sont pas résolues. Selon les études, la densité des récepteurs α_1 -adrénergiques est soit inchangée ou légèrement accrue (*Steinfath et coll. 1992, Kagiya et coll. 1991*), tandis que leur affinité demeure inchangée (*Hano et Lakatta 1991*). D'autre part, la réponse inotrope positive α_1 -dépendante est inchangée ou réduite dans les cœurs défaillants (*Steinfath et coll. 1992, Bohm et coll. 1986*). Ceci suggère l'existence d'un défaut dans la voie de signalisation intracellulaire.

En revanche, les altérations de la composante β -adrénergique cardiaque sont très bien documentées. Le consensus actuel indique une réduction sélective du nombre de récepteurs β_1 -adrénergiques, tandis que le nombre de récepteurs β_2 -adrénergiques n'est pas affecté par la défaillance cardiaque (*Kaura et coll. 1996, Bristow et coll. 1989*). L'affinité des deux sous-types de récepteurs demeure inchangée (*Hano et Lakatta 1991*). La chute du nombre de récepteurs β_1 -adrénergiques entraîne une modification du ratio $\beta_1:\beta_2$, qui passe d'environ 80:20 à 60:40 (*Schmitz et coll. 1996*). Ceci indique que le cœur normal est essentiellement β_1 -dépendant,

mais que le cœur défaillant subit une influence égale des deux sous-types de récepteurs.

Les réponses inotrope et chronotrope positives β_1 -dépendantes sont réduites en défaillance cardiaque, suite à la perte de récepteurs (*Horn et Bilezikian 1990*). Cependant, malgré le fait que le nombre de récepteurs β_2 -adrénergiques ne soit pas modifié, une réduction de l'ordre de 30% des réponses inotrope et chronotrope est observée (*Joseph et Gilbert 1998*). Ceci suggère un découplage du récepteur β_2 -adrénergique de sa voie de transduction.

1.6 – Les dérivés de la cyclooxygénase

Les phospholipides membranaires sont les substrats d'enzymes nommées phospholipases. La phospholipase A₂ (PLA₂) a pour produit principal l'acide arachidonique (AA). Dans le cœur, l'acide arachidonique est principalement métabolisé par l'enzyme cyclooxygénase (COX) (*Kawaguchi et coll. 1991*), mais d'autres voies de transformation de l'acide arachidonique sont connues (**Figure 1**). En fait, il existe deux formes différentes de cyclooxygénase : COX-1, qui est constitutivement active, et COX-2, qui est inductible. Le produit de cette enzyme est la prostaglandine H₂ (PGH₂). Ceci explique la deuxième appellation de COX, soit PGH synthase (*Vane et Botting 1995*). L'action de COX peut être inhibée par divers agents pharmacologiques, tels l'aspirine ou l'indométhacine. Suite à cette première transformation, d'autres enzymes spécifiques métabolisent la PGH₂ en d'autres dérivés de COX. La plupart de ces dérivés sont des prostaglandines, mais les thromboxanes sont également des dérivés de COX. La prostaglandine I₂ (PGI₂), qui est plus communément nommée prostacycline, est la principale prostaglandine produite à l'état basal dans le cœur (*Okada 1991*).

1.6.1 – Les réponses cardiovasculaires des dérivés de la cyclooxygénase

Les dérivés de la cyclooxygénase peuvent exercer des effets vasculaires et cardiaques. Bien que l'effet de l'inhibition de la cyclooxygénase ait été étudié de façon assez importante, l'effet

spécifique de chacun des dérivés demeure nébuleux. Les effets vasculaires des dérivés de COX semblent directs, alors que la plupart des effets cardiaques observés seraient plus vraisemblablement dus à des effets indirects vasculaires (*Couttenye et coll. 1985*). Au niveau vasculaire, les prostaglandines D_2 et $F_{2\alpha}$, ainsi que la thromboxane A_2 sont des médiateurs vasoconstricteurs, tandis que les prostaglandines E_1 , E_2 et I_2 médient une vasodilatation (*Allan et Levi 1980, Dusting et coll. 1978*). Les effets cardiaques, en plus d'être beaucoup moins connus, sont également très variables. Ainsi, pour une même prostaglandine, la réponse varie selon le modèle expérimental et le type de préparation (*Schrör et Hohlfeld 1992*). Un effet inotrope positif serait toutefois attribuable aux prostaglandines D_2 et $F_{2\alpha}$ (*Karmazyn et coll. 1979*).

1.6.2 – La voie de la cyclooxygénase et le système adrénérgique

En plus des voies classiques de médiation cellulaire, les récepteurs adrénérgiques peuvent induire d'autres réponses. Tel que mentionné précédemment, la stimulation des récepteurs α_1 -adrénérgiques peut activer la PLA_2 et ainsi libérer de l'acide arachidonique (*Leier et coll. 1990*). Ceci active donc la voie de la cyclooxygénase et permet la production de prostaglandines et de thromboxanes. En effet, plusieurs travaux rapportent une libération de prostaglandines suite à une stimulation α_1 -adrénérgique (*Callow et coll. 1998, Furuhashi et coll. 2000*). De plus, la stimulation β -adrénérgique provoque également la libération de prostaglandines (*Ruan et coll. 1998*,

Bugajski et coll. 1996). Ainsi, la stimulation adrénérgique et la synthèse de dérivés de la cyclooxygénase sont intimement liées.

Dans un autre ordre d'idées, un taux élevé de norépinéphrine circulante, de même qu'une forte concentration de Ca^{2+} intracellulaire provoquent une dégradation accrue des phospholipides membranaires. Ces deux conditions sont souvent présentes en défaillance cardiaque (*Harding et coll. 1998, Horn et Bilezikian 1990*). Le taux de phospholipides membranaires dans les cœurs défaillants est d'ailleurs réduit (*Vecchini et coll. 1995*). Ce phénomène, couplé à l'activité accrue de PLA_2 suggérée en défaillance cardiaque (*Kawaguchi et coll. 1991*) peut induire une accumulation d'acide arachidonique. Ces observations laissent supposer une production accrue de dérivés de la voie de la cyclooxygénase dans le cœur défaillant. Considérant que ces dérivés médient eux-mêmes des effets vasculaires et cardiaques, il est possible qu'ils parviennent à modifier les réponses vasculaires et cardiaques d'autres agents.

Ainsi, il serait possible que les réponses adrénérgiques modifiées en défaillance cardiaque soient partiellement attribuables à des altérations de la voie de la cyclooxygénase.

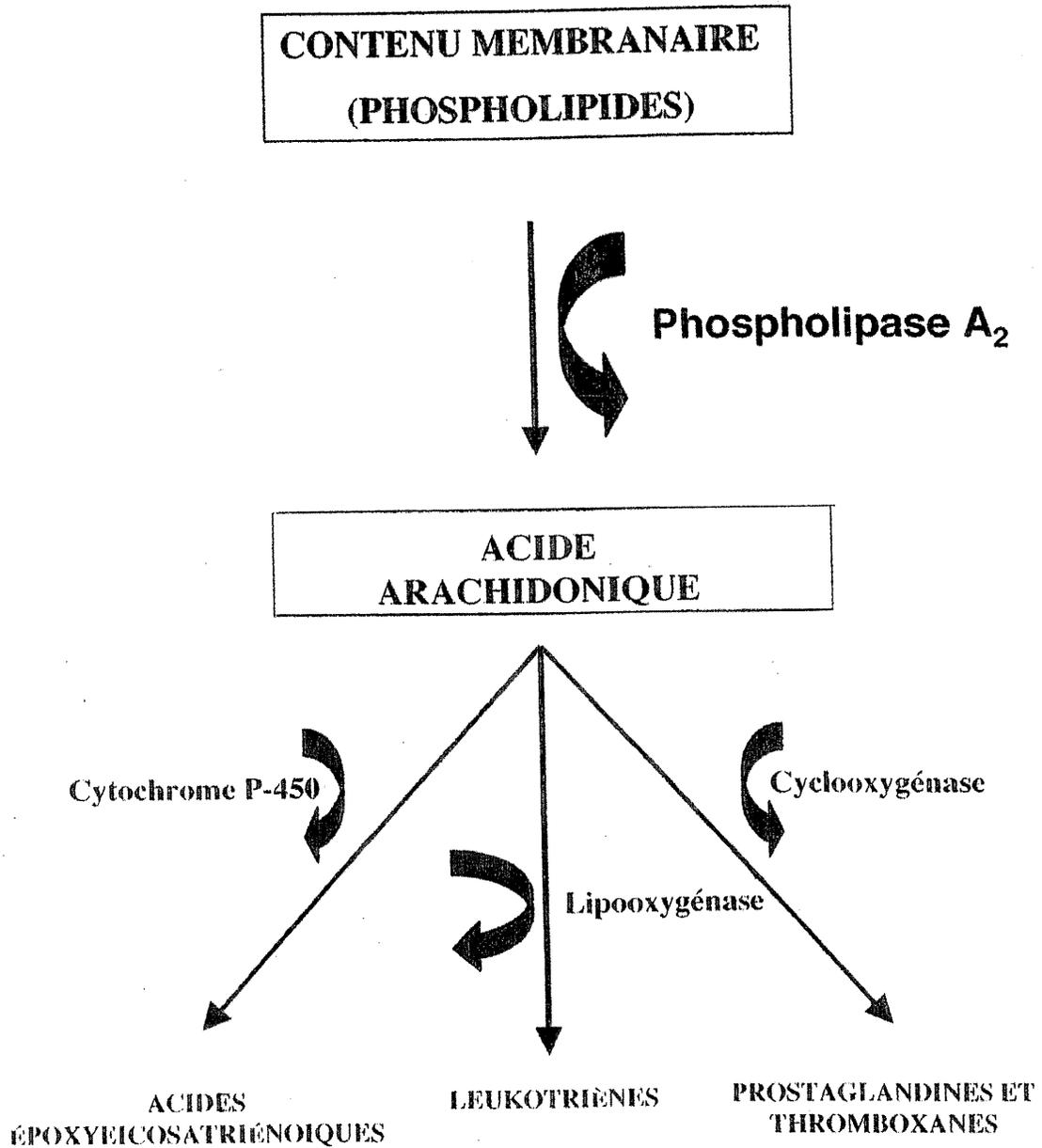


Figure 1. Dérivés du métabolisme de l'acide arachidonique

1.7 – Modèle expérimental de défaillance cardiaque

Le hamster cardiomyopathique est un modèle de cardiomyopathie déterminé génétiquement (*Jasmin et Proschek 1982*). L'évolution de la cardiomyopathie vers la défaillance cardiaque se fait de façon lente et prévisible (*Chemla et coll. 1991*). Les mécanismes physiopathologiques sous-jacents ne sont pas entièrement compris. Cependant, plusieurs altérations sont évidentes.

Tout d'abord, le gène codant pour la protéine δ -sarcoglycan est défectueux (*Sakamoto et coll. 1997*). Cette protéine fait partie du complexe dystrophine-dystroglycan-laminine, qui relie l'actine du cytosquelette aux protéines structurelles (*Hunter et Chien 1999*). Cette anomalie est transmise par un gène autosomal récessif (*Jasmin et Proschek 1982*). D'autres protéines reliées à la dystrophine sont en quantité réduite chez le hamster cardiomyopathique (*Roberds et coll. 1993*). Ensuite, un trouble de l'homéostasie calcique est également en cause, ce qui entraîne une surcharge calcique et éventuellement la nécrose cellulaire (*Bond et coll. 1988*). Les radicaux libres pourraient eux aussi endommager les cellules du myocarde et causer une perte cellulaire (*Fukuchi et coll. 1991*). Plusieurs changements membranaires ont été observés, dont une réduction du contenu phospholipidique de la membrane et une altération de sa perméabilité (*Okamoto et coll. 1994*). La présence de vasospasmes dans la microcirculation coronarienne pourrait induire l'apparition de foyers nécrotiques suite au blocage de l'apport sanguin, réalisant un microinfarctus (*Factor et coll. 1982, Hunter et Elbrink 1983*).

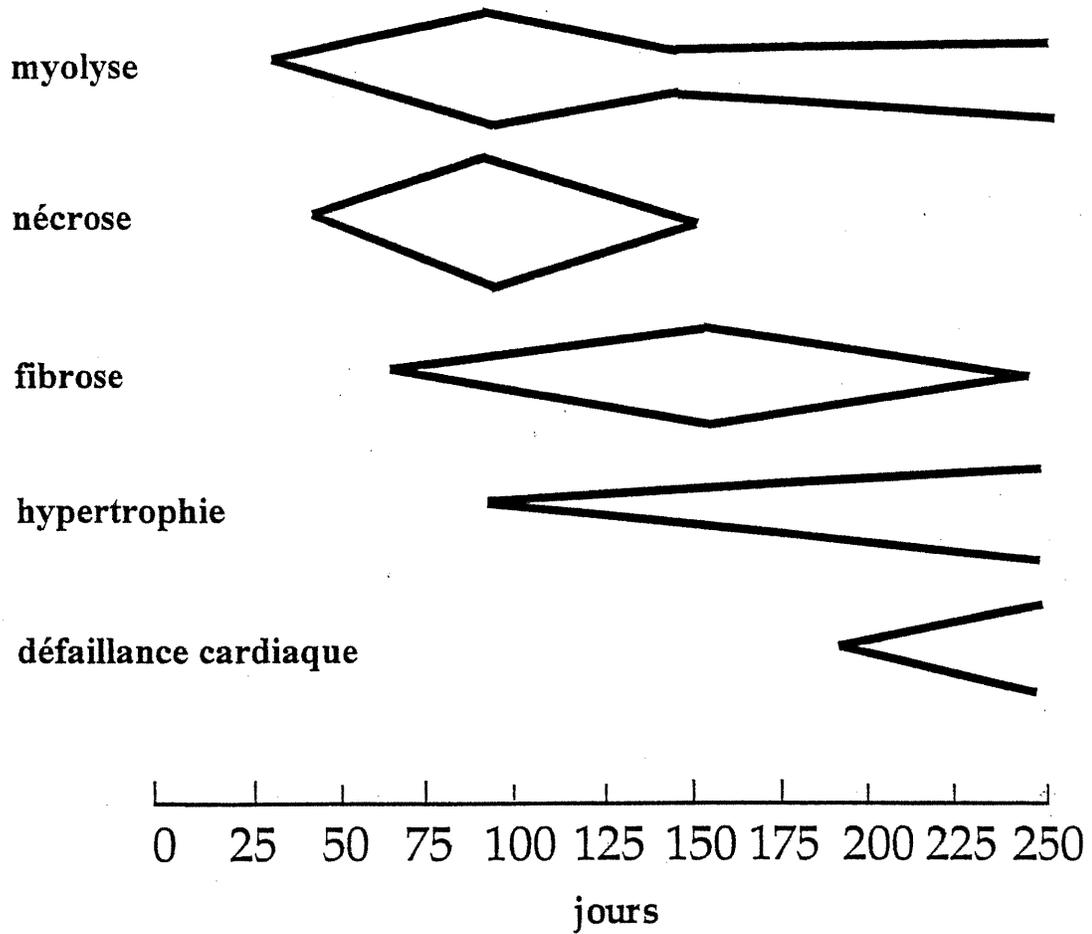
Les cœurs des hamsters défaillants sont caractérisés par une réduction de la pression développée, de la fréquence cardiaque, de la consommation d'oxygène, du débit coronarien et du potentiel de phosphorylation, ainsi que par une surcharge calcique (*Buser et coll. 1995*).

La lignée de hamsters cardiomyopathiques UM-X7.1 a été développée à l'université de Montréal en 1972, à partir d'animaux de la lignée BIO 14.6. En croisant un animal sain avec un animal cardiomyopathique, il est possible de récupérer des animaux atteints dans la deuxième génération. Les descendants de ces animaux auront une incidence de cardiomyopathie de 100%. La sélection rigoureuse des progéniteurs de chaque nouvelle génération a permis le maintien de la sévérité des symptômes de la cardiomyopathie (*Jasmin et Proschek 1982*).

L'évolution des hamsters de la lignée UM-X7.1 vers la défaillance cardiaque se divise en quatre étapes (**Figure 2**). Vers l'âge de 40 jours débute la phase de nécrose, caractérisée par des lésions nécrotiques focales disséminées. Ces lésions seront remplacées par du tissu fibreux. Cette phase de cicatrisation atteint son maximum à 150 jours. Après 175 jours, une phase de remodelage compensatoire s'est établie, période au cours de laquelle le volume du cœur augmente et l'épaisseur de ses parois diminue. Finalement, à partir de 225 jours, il y a décompensation hémodynamique et le cœur devient défaillant. Les principaux signes de défaillance sont l'augmentation du volume du foie, l'accumulation de fluides et l'augmentation de la grosseur du cœur. Parfois, dans les cœurs en

phase terminale de défaillance, des caillots se forment à l'intérieur des cavités cardiaques (*Jasmin et Proschek 1982*).

Ce modèle de cardiomyopathie présente les principaux critères de la défaillance cardiaque. Les cœurs défaillants de hamsters se comportent de façon semblable aux cœurs défaillants humains, et développent des altérations similaires au niveau structural, biochimique et mécanique. Nous croyons donc que ce modèle est approprié pour vérifier l'hypothèse proposée.



Tiré de *Jasmin et coll., 1982 (voir références).*

Figure 2. Évolution de la cardiomyopathie du hamster UM-X 7.1

1.8 – But du projet de recherche

Il a été démontré que le système sympathique joue un rôle important dans le développement de la défaillance cardiaque. Les dérivés de la cyclooxygénase semblent impliqués dans l'altération de certaines réponses dans les cœurs défaillants. Par contre, bien que des données publiées les relient au niveau des voies de signalisation intracellulaires, les interactions entre ces deux systèmes ont été peu étudiées dans la défaillance cardiaque.

Nous émettons l'hypothèse que des altérations dans la voie de la cyclooxygénase, voie de synthèse des prostaglandines, soient impliquées dans l'altération des réponses adrénérgiques coronarienne et cardiaque du cœur défaillant.

Des cœurs isolés de hamsters UM-X7.1 âgés d'au moins 240 jours, ainsi que ceux de hamsters normaux du même âge, sont utilisés. Le modèle de cœur isolé permet l'étude des fonctions cardiaque et coronarienne sans influence neurohumorale périphérique. Les cœurs sont perfusés à pression constante (140 cm H₂O), selon la méthode de Langendorff, avec une solution de Krebs-Ringer maintenue à 37 degrés Celsius et à un pH de 7.4. Le débit coronarien et les pressions ventriculaires gauches sont mesurés de façon continue, et la fréquence cardiaque est calculée à partir des tracés de pression ventriculaire (**Figure 3**).

La présente étude a été effectuée dans des cœurs isolés, donc dépourvus de l'influence nerveuse. Or, les récepteurs α_2 -

adrénergiques sont essentiellement pré-synaptiques, sujets à la stimulation nerveuse (*Brodde et Michel 1999*). De plus, l'action vasculaire ou cardiaque des récepteurs β_3 -adrénergiques n'est pas encore très connue. Ainsi, nous avons limité notre étude aux composantes α_1 -, β_1 - et β_2 -adrénergiques, qui sont présentes et fonctionnelles dans le cœur isolé.

En premier lieu, la réponse cardiaque et coronarienne à des stimulations α_1 -, β_1 - et β_2 -adrénergiques est observée dans les cœurs normaux et défaillants. En second lieu, ces mêmes réponses sont obtenues en absence et en présence d'indométhacine, afin de comparer les réponses adrénégiques avant et après l'inhibition de la voie de la cyclooxygénase, dans les cœurs normaux et défaillants.

Les résultats obtenus nous permettront d'évaluer le rôle des dérivés de la cyclooxygénase dans la modulation des réponses adrénégiques cardiaque et coronarienne dans les cœurs défaillants.

COEUR ISOLÉ PERFUSÉ

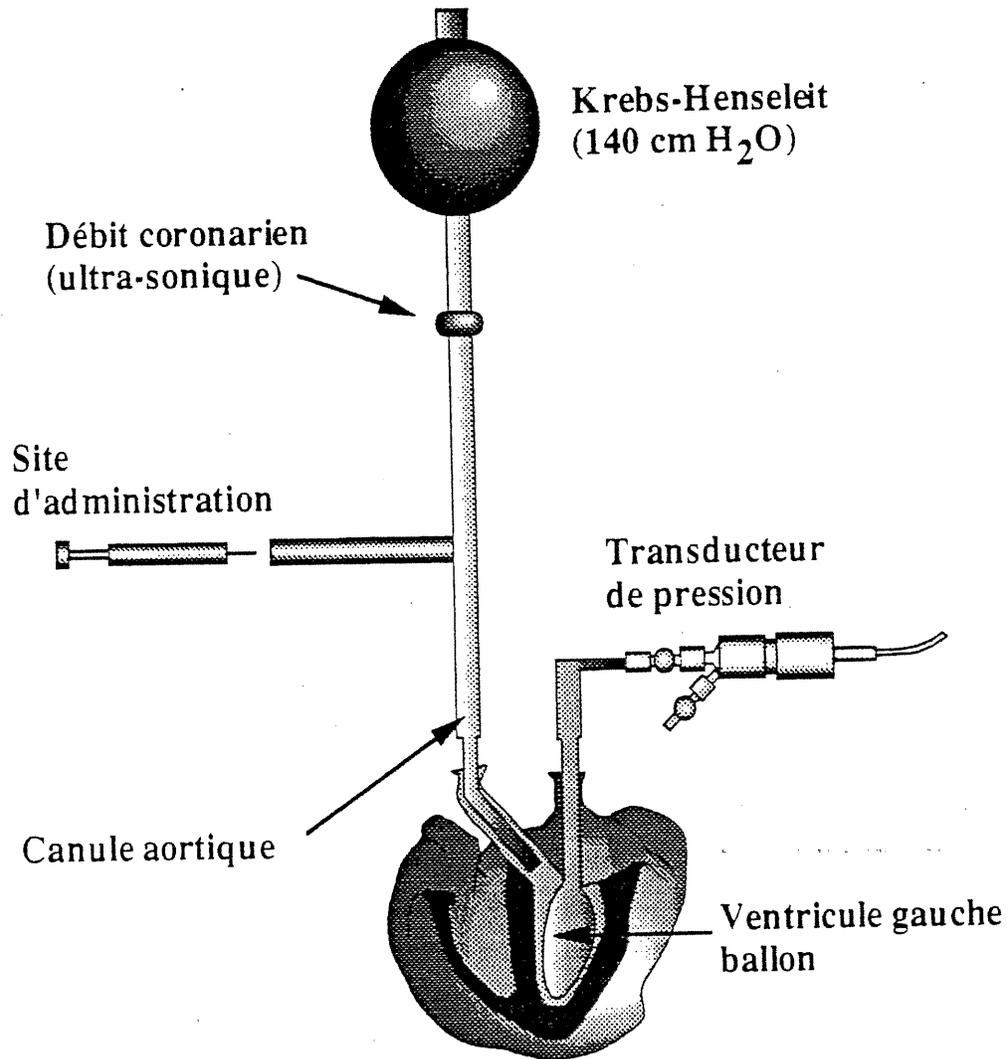


FIGURE 3

CHAPITRE 2 :

MANUSCRIT

**Altered coronary and cardiac adrenergic response in the failing
hamster heart: role of cyclooxygenase derivatives**

**Danica Brousseau, Jean-François Desjardins, Gaëtan Jasmin
and Louis Dumont**

**Départements de pharmacologie, et de pathologie et biologie
cellulaire, Faculté de médecine, Université de Montréal,
Montréal, Qc, Canada**

**Short title: adrenergic stimulation, heart failure and
cyclooxygenase**

Address for correspondence:

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

Although the influence of the adrenergic system has been studied in the presence of heart failure, controversies still exist. Since cyclooxygenase (COX) derivatives appear to modulate coronary and cardiac adaptation in the failing heart, we hypothesized that COX derivatives may participate in the altered adrenergic responses in this situation. Isolated hearts from cardiomyopathic (UM-X7.1 subline) and normal hamsters, aged >240 days, were utilized. Coronary and cardiac response to α_1 -, β_1 - and β_2 -adrenergic stimulations were observed before and after pretreatment with indomethacin, a COX inhibitor. Reduction of coronary flow elicited by α_1 -adrenergic stimulation was unchanged in the presence of heart failure while β_1 - and β_2 -induced vasodilatation was reduced. Inotropic response to α_1 - and β_1 -stimulation was also reduced in failing hearts while β_2 -adrenergic action was unchanged. Pretreatment with indomethacin exacerbated coronary flow reduction observed with α_1 -stimulation in failing hearts only. β_2 -induced coronary vasodilatation as well as inotropic response to α_1 - and β_2 -stimulation were impaired in the presence of indomethacin in normal and failing hearts. Results suggest a complex interaction between adrenergic and cyclooxygenase activation.

Key words: adrenergic, cyclooxygenase, heart failure, coronary flow, cardiac dynamics

RÉSUMÉ

Les altérations du système sympathique dans le cœur défaillant sont controversées. Les dérivés de la cyclooxygénase semblent impliqués dans l'altération de certaines réponses dans les cœurs défaillants. Nous croyons que des altérations dans la voie de la cyclooxygénase pourraient être impliqués dans la modification des réponses adrénergiques observées en défaillance cardiaque. Des cœurs isolés de hamsters cardiomyopathiques (UM-X7.1) et normaux, âgés d'au moins 240 jours, ont été utilisés. Les réponses coronarienne et cardiaque à des stimulations α_1 -, β_1 - et β_2 -adrénergiques sont observées dans les cœurs normaux et défaillants. En second lieu, ces réponses sont comparées en présence et en absence d'indométhacine. La vasoconstriction α_1 -adrénergique est inchangée en défaillance cardiaque, tandis que les vasodilatations β_1 - et β_2 -adrénergiques sont réduites. Les réponses inotropes positives α_1 - et β_1 -adrénergiques sont réduites en défaillance cardiaque, alors que la réponse β_2 -adrénergique n'est pas significativement modifiée. En présence d'indométhacine, la vasoconstriction α_1 -dépendante est inchangée dans le coeur normal, tandis qu'elle est augmentée dans le cœur défaillant. La vasodilatation β_2 -dépendante, de même que les effets inotropes positifs α_1 - et β_2 -dépendants sont réduits en présence d'indométhacine, dans les cœurs normaux et défaillants. Ces résultats suggèrent une interaction complexe entre le système sympathique et l'activation de la cyclooxygénase.

Mots-clés : adrénérurgique, cyclooxygénase, défaillance cardiaque, débit coronarien, dynamique cardiaque.

INTRODUCTION

Although the influence of the adrenergic system has been studied in the presence of heart failure, controversies still exist. The well-documented reduction of cardiac β -adrenergic responses (*Brodde and Michel 1999*) due to selective downregulation of β_1 -adrenoceptors (*Dzimiri 1999; Schmitz et al. 1996*) and uncoupling of β_2 -adrenoceptors from adenylate cyclase (*Bristow et al. 1990; Joseph and Gilbert 1998*) contrasts with the sparse data related to their effects on the coronary compartment (*Brodde et al. 1995*). Furthermore, conflicting results have been obtained on the cardiac and coronary effects of the α_1 -adrenergic component. Reports indicate that cardiac α_1 -receptor density and the α_1 -response are either increased or unaffected in the presence of heart failure, and contradictory data have even been published on the coronary α_1 -adrenergic response in similar conditions (*Leier et al. 1990; Takahashi et al. 1992; Mittmann et al. 1998*).

To resolve some of the above-mentioned controversies, we hypothesized that cyclooxygenase (COX) derivatives may participate in the altered adrenergic responses associated with heart failure. Much evidence supports such a line of thinking. First, adrenergic stimulation is known to result in arachidonic acid (AA) release which promotes prostaglandin (PG) synthesis (*Kawaguchi et al. 1991*). Second, cell membrane alterations documented in several models of heart failure are associated with the release and increased cellular content of AA (*Wang et al. 1999*). Third, COX

derivatives have been shown to modulate coronary and cardiac function in several conditions. Recent data suggest that they play a significant role in the altered coronary response to calcium antagonists in failing hearts (*Tanguay et al. 1996*). COX inhibition may cause deleterious hemodynamic effects and interfere with the efficacy of angiotensin-converting enzyme inhibitors in patients with heart failure (*Hall et al. 1992*). In addition, we have recently demonstrated that COX derivatives modulate hyperemic responses to coronary flow impairment (*Viau et al. 1997*).

The objective of the present study was to assess the coronary and cardiac effects of the α_1 -, β_1 - and β_2 -adrenergic components in normal and failing hearts (UM-X7.1 cardiomyopathic (CM) hamsters, >240-day-old) as well as to determine the contribution of COX derivatives in these actions. We used an isovolumically contracting, isolated, crystalloid-perfused heart model to assess these responses independently from systemic hemodynamic changes, neurohumoral activation and circulating blood elements. α_1 -, β_1 - and β_2 -adrenergic responses were evoked by phenylephrine, dobutamine and terbutaline, respectively, while indomethacin was used to inhibit COX activity. The results reveal that coronary and cardiac adrenergic responses are modulated by heart failure and COX activity in a complex way.

MATERIALS AND METHODS

CM hamsters of the UM-X7.1 strain (*Jasmin and Proschek 1982*), older than 240 days, and age-matched, normal Syrian hamsters (LVG-SYR, Charles River Canada, St-Constant, Québec, Canada) were used in this study. All animals were cared for according to Canadian Council on Animal Care guidelines (*1993*), housed under identical conditions and had free access to Purina laboratory chow and tap water. All CM hamsters showed evidence of heart failure (pulmonary and liver congestion, ascites).

The animals were killed by cervical dislocation. Following thoracotomy, the heart was exposed, cooled and cannulated *in situ*. It was then quickly excised and retrogradely perfused via the aorta, according to the method of Langendorff, with modified Krebs-Ringer buffer containing (in mM) NaCl 119, KCl 4.8, CaCl₂ 1.3, KH₂PO₄ 1.2, MgSO₄ 1.2, NaHCO₃ 25 and glucose 15. The buffer was saturated with a gas mixture (95% O₂/5% CO₂) and maintained at pH 7.4 and 37°C. Perfusion pressure remained unchanged at 140 cm H₂O throughout the study. The heart was maintained at 37°C by placing it in a temperature-controlled chamber. Coronary flow (CF) was monitored continuously with an ultrasonic flow probe placed upstream to the heart and connected to a flowmeter (Model T101, Transonic Systems, Ithaca, NY). Left ventricular systolic pressure (LVSP) and left ventricular diastolic pressure (LVDP) were monitored with a water-filled latex balloon inserted into the left ventricle through the left atrium and connected to a pressure transducer (Model PX272, Baxter Corp., Mississauga, Ontario,

Canada). Balloon volume was adjusted to maintain diastolic pressure at 10 mm Hg, and this volume was kept constant for the duration of the experiment. Heart rate (HR) was allowed to change spontaneously and was calculated from the pressure tracings. All measurements were registered on a multichannel recorder (Model 7400, Grass Instruments, Quincy, MA).

Once the isolated heart had stabilized (20 to 30 minutes), baseline values for CF, LVSP, LVDP and HR were recorded. Normal and failing hearts were submitted to the following experimental protocols. In a first set of experiments, we studied the α_1 -, β_1 - and β_2 -adrenergic response in isolated hearts. To assess the α_1 -adrenergic component, a 5-minute infusion of phenylephrine (1 μM) was administered. Hemodynamic parameters were then allowed to return to baseline. A 5-minute infusion of prazosin (1 μM), a selective α_1 -adrenergic antagonist, was then delivered and followed by a 5-minute infusion of phenylephrine. A similar protocol was repeated in other groups to study the β_1 -adrenergic response, using dobutamine (500 nM) as a β_1 -adrenergic agonist and metoprolol (10 μM) as a β_1 -adrenergic antagonist. The β_2 -adrenergic response was investigated with terbutaline (3 μM) as β_2 -adrenergic agonist and ICI 118,551 (1 μM) as β_2 -adrenergic antagonist. Doses of the α_1 -, β_1 - and β_2 -agonists were established in preliminary studies in our laboratory. For each drug, the selected dose was the one corresponding to the EC_{50} of dose-response curves obtained in normal isolated hamster hearts. Infusion levels of the antagonists prazosin, metoprolol and ICI 118,551 were established

from previously-published studies (*Davey 1980; Johansson 1979; Bilski et al. 1983*) and from preliminary experiments in our laboratory indicating complete inhibition of the cardiac response elicited by the respective agonists. In another set of experiments, the role of COX derivatives during α_1 - or β_2 -adrenergic stimulation was determined in both normal and failing hearts. A 5-minute infusion of phenylephrine (1 μM) or terbutaline (3 μM) was administered before and after exposure of the isolated heart to a 10-minute infusion of indomethacin (10 μM). The concentration of indomethacin selected (10 μM) has been shown to inhibit all COX activity in isolated hearts (*Okada 1991*). Since we could not determine whether the coronary response to dobutamine was due to a direct vascular effect or to an indirect cardiac effect, the role of COX derivatives on β_1 -adrenergic stimulation was not assessed in this protocol. The possible indirect cardiac effect could be related to the fact that increased contractility (positive inotropic effect) due to β_1 -adrenergic receptor stimulation may, as a response to increased oxygen consumption, enhance coronary flow values without any specific vasodilatory action.

Drugs

Phenylephrine, terbutaline, prazosin, metoprolol and indomethacin were purchased from the Sigma Chemical Company (St. Louis, MO). Dobutamine (Dobutrex) was obtained from Eli Lilly Canada (Toronto, Ontario, Canada). ICI 118,551 was supplied by Cambridge Research Biochemicals (Imperial Chemical Industries, Cheshire, U.K.). Dobutamine was dissolved and diluted in a saline

solution. A stock solution of indomethacin was prepared in ethanol and further diluted in Krebs-Ringer solution. All other drugs were dissolved and diluted in distilled water. All solutions were prepared daily and infused in the aortic line at 1% of CF to produce the final molar concentrations detailed in this paper.

Statistical analysis

All values are expressed as means \pm SEM. The effects of the different drugs on CF, HR and LVSP are expressed as percent change ($\Delta\%$) from baseline values. The drug actions on LVDP are expressed as absolute changes (ΔmmHg). The indomethacin effects on the response to adrenergic stimulation are expressed as mean variations (%) of the adrenergic action before and after exposure to indomethacin. The drug effects within each group and differences between groups were assessed by analysis of variance and the Student's *t*-test for paired or unpaired data according to the comparison. Differences were considered statistically significant at $p < 0.05$.

RESULTS

Normal hamsters (249 ± 2 days old) had a mean body weight of 203 ± 7 g while UM-X7.1 CM hamsters (262 ± 10 days old) had a significantly lower mean body weight (148 ± 4 g). At autopsy, all CM hamsters showed evidence of heart failure: pulmonary and liver congestion as well as peripheral edema. The ratio of heart weight (mg) over body weight (g) was increased in all CM hamsters (7.2 ± 0.2 in CM hamsters vs 5.4 ± 0.1 in normal hamsters, $p < 0.01$). **Table 1** shows the baseline hemodynamic parameters of isolated hearts from normal and CM hamsters. A slight reduction in CF was observed in the CM group while HR and LVSP were significantly decreased in the CM group compared to the normal group.

Endogenous adrenergic activity in the isolated hamster heart

The changes elicited by the antagonists prazosin ($1 \mu\text{M}$), metoprolol ($10 \mu\text{M}$) or ICI 118,551 ($1 \mu\text{M}$) on baseline hemodynamic parameters are shown in **Table 2**. Prazosin infusion resulted in a slight decrease of LVSP and HR, which was significant only in failing hearts. Metoprolol, the β_1 antagonist, caused a significant decrease of LVSP in both groups while reducing CF in the failing group only. Finally, ICI 118,551, the β_2 antagonist, had a significant impact only in the failing group: LVSP was increased and HR was decreased. The small functional changes observed in the presence of these antagonists indicate that endogenous adrenergic activity does not contribute significantly to the control of cardiac dynamics and coronary tone in both normal and failing

hearts. Therefore, to study the role of the α_1 -, β_1 - and the β_2 -adrenergic components, selective agonists were used. Preliminary experiments indicated that their coronary and cardiac effects were completely inhibited in the presence of their respective antagonists.

Coronary and cardiac effects of adrenergic stimulation

Figure 4A illustrates the effect of the α_1 agonist phenylephrine (1 μM) on the coronary compartment of the isolated hamster heart. α_1 -adrenergic stimulation resulted in significant reduction of CF, and this response was similar in both normal and failing hearts. **Figure 4B** illustrates the fact that the β_1 -adrenergic agonist dobutamine (500 nM) elicited a significant increase of CF, this vasodilating response being significantly attenuated in the failing group. **Figure 4C** presents the coronary response to the β_2 agonist terbutaline (3 μM). The observed significant increase in CF was significantly reduced in failing hearts.

The inotropic response to α_1 -adrenergic stimulation is shown in **Figure 5A**. Phenylephrine elicited a positive inotropic response in both normal and failing hearts; however, this response was significantly reduced in the failing group. Phenylephrine also caused a positive chronotropic response in both groups, while a small but significant positive lusitropic response (decreased LVDP) was observed in the failing group (**Table 3**). **Figure 5B** illustrates the inotropic response to β_1 -adrenergic stimulation. In the presence of dobutamine, a significant increase of LVSP was observed, but

this response was significantly attenuated in failing hearts. Following dobutamine infusion, HR was increased similarly in both groups while LVDP was reduced only in the failing group (**Table 3**). The inotropic effect of the β_2 agonist terbutaline is shown in **Figure 5C**. Terbutaline significantly increased LVSP in both normal and failing hearts. The significant increase of HR observed in the presence of terbutaline was similar in normal and failing hearts while LVDP was not modified (**Table 3**).

Effects of indomethacin on the coronary and cardiac response to adrenergic stimulation

Indomethacin infusion (10 μM) resulted in a slight increase of CF without significant cardiac effects in either normal or failing hearts (data not shown). **Figure 6A** illustrates the indomethacin action on the coronary response to α_1 -adrenergic stimulation. In normal hearts, the reduced CF observed with phenylephrine was not modified while in failing hearts it was amplified. The effects of indomethacin on the β_2 -adrenergic coronary response is depicted in **Figure 6B**. In the presence of indomethacin, the coronary vasodilator action of terbutaline was reduced to a similar extent in normal and failing hearts. The effects of indomethacin on the α_1 -adrenergic positive inotropic response are shown in **Figure 7A**. In the presence of indomethacin, a significant reduction of the positive inotropic response was observed in both normal and failing hearts. **Figure 7B** illustrates the effects of indomethacin on the β_2 -adrenergic positive inotropic response. The increase of LVSP seen

in the presence of terbutaline was significantly reduced and to a similar extent in normal and failing hearts by indomethacin infusion.

DISCUSSION

In the present study, we observed the coronary and cardiac adrenergic responses of the failing hamster heart compared to the normal hamster heart. Stimulation of coronary α_1 -adrenergic receptors with phenylephrine resulted in a CF reduction that was not altered in the failing heart. On the other hand, both the β_1 -adrenergic agonist dobutamine and the β_2 -adrenergic agonist terbutaline caused coronary vasodilation in the normal heart, and this response was markedly attenuated in the failing heart. All three agonists induced positive inotropic and chronotropic effects in the normal heart. The impact on HR was not altered by the development of heart failure. However, the positive inotropic response to α_1 - and β_1 -adrenergic stimulation was significantly reduced in the failing heart, while that of β_2 -adrenergic stimulation was slightly diminished although not significantly. In the presence of indomethacin, α_1 -dependent vasoconstriction was not altered in normal hearts, whereas it was enhanced in failing hearts. β_2 -dependent vasodilatation and both α_1 - and β_2 -mediated positive inotropic effects were decreased after COX blockade, to a similar extent in both normal and failing hearts.

The CM hamster, a highly reproducible experimental model of development of chronic heart failure, is useful for the study of subcellular pathological processes and the evaluation of drug efficacy (*Rouleau et al. 1982*). It illustrates the major features of heart muscle disease, including ventricular hypertrophy, dilation

and ultimate congestive heart failure (*Strobeck et al. 1979*). The UM-X7.1 strain, a subline of BIO 14.6, is characterized by focal myocardial necrotic lesions beginning at 30 days of age, and fully developed by 60 days. These lesions lead to cardiac remodelling, and heart failure develops at 190-200 days. The animals subsequently die of circulatory failure, their average life span being about 250 days (*Jasmin and Proschek 1982*). Genetic defects of membrane structure and function, abnormalities of the sympathetic nervous system, intracellular calcium overload, microvascular spasms, excess free radical production and lipid peroxidation may contribute to the development of the disease (*Sole et al. 1975; Factor et al. 1982; Roberds et al. 1993; Fukuchi et al. 1991*). Isolated heart preparations from this model of chronic heart failure have been used to determine myocardial contractile abnormalities at different stages of the disease, and to evaluate the effects of drugs on contractile performance (*Buser et al. 1989*). Some studies have also examined the coronary vasculature alterations in this model (*Veronneau et al. 1997; Tanguay et al. 1996*). Although the isolated heart does not reproduce exact physiological conditions, it gives the opportunity to study cardiac and coronary responses without the peripheral influence of circulating elements, hormones and nervous stimulation. Since our experimental protocol lasts less than an hour, we do not observe any deterioration of contractile activity.

Numerous reports suggest that the development of heart failure is associated with alterations of the sympathetic nervous system. Most studies have focused on the cardiac β -adrenergic component (*Takahashi et al. 1992; Bristow et al. 1989*), while the impact of

heart failure on cardiac α_1 -adrenergic receptor responsiveness is still very controversial (*Brodde and Michel 1999; Steinfath et al. 1992*). Other studies demonstrate altered adrenergic vascular responses (*Bohm et al. 1986*), but very few have focused on adrenergic coronary responses in failing hearts.

The first observation issued from our results is that the sympathetic nervous system does not seem to play a very important role in basal cardiac function and coronary perfusion of isolated hearts in both normal and failing condition. Indeed, all adrenergic antagonists, administered alone, produced only minor responses. A similar observation was made by another group, who noted nonsignificant changes in heart rate and mean arterial pressure after β -adrenergic or combined α - and β -adrenergic blockade (*Chilian et al. 1981*). Considering these observations, exogenous adrenergic stimulation was tested in the present study to compare adrenergic responsiveness in isolated normal and failing hamster hearts.

Many studies have reported vascular responses to α_1 -adrenergic agonists, mostly in aortic tissue. While one investigation, using dog coronary artery rings revealed a reduced α_1 -dependent response (*Main et al. 1991*), and another indicated unchanged responsiveness (*Crespo et al. 1997*), most agreed that the vasoconstrictive response was increased in models of heart failure (*Hunter and Elbrink 1983; Crespo 1999; Sato et al. 1998*). Our findings suggest that α_1 -dependent coronary vasoconstriction was maintained in failing hearts. These conflicting results may be explained by the vascular

bed studied or by an important age-related factor. Only one group has reported increased aortic vasoconstriction in response to noradrenaline at all ages in a model of hamster cardiomyopathy (*Crespo 1999*), although the coronary vascular bed was not investigated. Other studies, undertaken in younger CM hamsters, showed hyperresponsiveness. However, these animals were too young to express the characteristics of heart failure. The unaltered coronary sensitivity to phenylephrine observed in our model is comparable to the results obtained in our laboratory with other pharmacological agents: exogenous endothelin-1 infusion produced similar coronary responses in normal and failing hearts (*Fontaine et al. 1997*), and coronary sensitivity to sodium nitroprusside and to low doses of acetylcholine was unchanged in failing hearts (*Veronneau et al. 1997*).

Our data indicate that both β_1 - and β_2 -dependent coronary vasodilatory responses were reduced in failing hearts. Although there is a paucity of available data on coronary vascular β -adrenergic responses in heart failure, there is some evidence of vascular desensitization to β_2 -adrenergic stimulation (*Brodde et al. 1995*). Receptor downregulation as well as alterations of the guanine nucleotide-binding proteins (G proteins) may interfere with β -adrenergic responses in heart failure (*Daly and Sole 1990*). Reduced responses could be related to increased G_i activity and content, and G_s uncoupling from β -adrenergic receptors, both leading to decreased activation of adenylyl cyclase (*Horn and Bilezikian 1990*). At this point, we cannot rule out the possibility

that an indirect cardiac action may be related to altered coronary responses.

We report here that the α_1 -mediated positive inotropic effect was reduced in failing hearts. As mentioned earlier, cardiac α_1 -adrenergic responsiveness in failing hearts is still surrounded by controversy. Bohm *et al.* (1986) and Takahashi *et al.* (1992) reported unchanged α_1 -dependent inotropic responses. The latter study was conducted *in vivo*, and it is therefore possible that the specific α_1 -adrenergic response was masked by other responses. In the study by Bohm *et al.* (1986), the majority of normal hamster papillary muscles tested did not react at all to exogenous phenylephrine. The results of Steinfath *et al.* (1992) and Hano and Lakatta (1991) indicate a reduced response. The previously-reported increase of protein kinase C activity and the possible outcomes of increase phosphorylation are consistent with a decreased α_1 -dependent inotropic effect (Terzic *et al.* 1993; Wang *et al.* 1999; Malhotra 1990). Our results concert with those of Steinfath *et al.* (1992) and particularly with those of Hano and Lakatta (1991), who obtained them in a similar model as ours.

As reported by others, the β_1 -mediated positive inotropic response was reduced while the β_2 -dependent inotropic response was only slightly altered in failing hamster hearts. The density of β_2 -adrenergic receptors is known to remain unchanged in heart failure, but reports show uncoupling of the receptors from their

transduction pathway (*Kaura et al. 1996*). These observations can account for the reduced β -dependent inotropic response.

While none of the adrenergic agonists administered in normal hearts had a significant effect on LVDP, it is noteworthy that α_1 - and β_1 -adrenergic stimulation both induced a decrease of LVDP in failing hearts, which illustrates an improvement of lusitropic function.

Existing interactions between adrenergic stimulation and AA release (*Ruan et al. 1998*) led us to hypothesize that COX derivatives could be implicated in the coronary vascular alterations observed. Indeed, substances derived from AA are known to mediate cardiac and vascular effects (*Schrör and Hohlfeld 1992; Kukovetz et al. 1979*). An alteration in the COX pathway has been proposed to participate in the modified coronary sensitivity seen in the CM hamster heart. Indomethacin, a COX inhibitor, has been shown to alter the hyperemic response to a 30-second coronary occlusion of failing hearts (*Viau et al. 1997*). COX inhibition also reduced acetylcholine-induced vasodilatation in failing hearts (*Véronneau et al. 1997*). Finally, the involvement of vasoconstricting COX derivatives has been suggested to modify coronary sensitivity to diltiazem, a calcium channel antagonist, in failing hearts (*Tanguay et al. 1996*).

In the presence of indomethacin, α_1 -dependent vasoconstriction was not altered in normal hearts, whereas it was enhanced in failing

hearts. It has been demonstrated that stimulation of vascular α_1 -adrenergic receptors is associated with synthesis of vasodilatory PGs, such as prostacyclin (PGI_2), and E-type PGs (*Callow et al. 1998; Schrier and Abraham 1999*), most likely by activating phospholipase A_2 (PLA_2). Hence, α_1 -adrenergic receptor stimulation could lead to AA accumulation (*Leier et al. 1990*). High plasmatic norepinephrine levels and increased intracellular Ca^{2+} content have also been reported to increase the degradation of membrane phospholipids, thereby promoting AA accumulation (*Tanguay et al. 1996*). A reduced content of membrane phospholipids, such as phosphatidylethanolamine, cardiolipin and phosphatidylcholine, has also been observed in failing hamster hearts (*Vecchini et al. 1995*). Increased AA content leads to heightened production of COX derivatives, mainly PGI_2 , in the heart (*Kawaguchi et al. 1991*).

Dysfunctions of this pathway may interfere with the normal synthesis of vasodilatory PGs following α_1 -adrenergic stimulation, thereby enhancing the apparent vasoconstriction in failing hearts. While possible modifications of PLA_2 in heart failure have not been studied extensively, recent investigations have documented alterations of COX. A decreased level of COX-1 mRNA in endothelial cells from failing dog hearts has been demonstrated (*Smith et al. 1996*). Also, upregulation of the inducible COX-2 enzyme has been reported in failing rat hearts (*Wong et al. 1998*), and COX-2 mostly produces inflammatory mediators, such as PGE_2 and thromboxane A_2 , a powerful vasoconstrictor (*Wu 1998*). Thus,

the shift in COX isozyme content could explain the altered coronary response to phenylephrine in heart failure.

Following COX inhibition, β_2 -dependent vasodilation was reduced in both normal and failing hearts. There is some evidence that β -adrenergic receptor stimulation, by inducing intracellular calcium release, may lead to the activation of PLA₂. Ruan *et al.* (1998) reported that AA release may be achieved by β_2 -adrenergic receptor stimulation, most likely by activating PLA₂. It is unlikely that a cardiomyopathy-related reduction in vasodilatory PG synthesis due to endothelial dysfunctions could account for our results. Blunted β_2 -dependent vasodilatation following indomethacin infusion does not appear to be related to heart failure since the relative decrease of vasodilatory responses in the presence of indomethacin was similar in normal and failing hearts. Contrary to α_1 -dependent coronary vasoconstriction, it seems that COX derivatives play a role in the β -mediated coronary vasodilatory response of both normal and failing hearts.

Since there is a strong relationship between the coronary and cardiac effects of sympathetic agents, we also examined the role of COX derivatives in their cardiac inotropic response. Following indomethacin infusion, the positive inotropic responses to phenylephrine and terbutaline were reduced in normal as well as in failing hearts. Although PGs such as PGD₂ and PGF_{2 α} may exert a positive inotropic action, that effect would be a very small one (Schrör and Hohlfeld 1992). However, they are both

vasoconstricting mediators (*Karmazyn et al. 1979*). Considering the coronary response that was obtained, decreased synthesis of these PGs is probably not involved in the reduction of the cardiac response to α_1 and β_2 agonists. The cardiac effects of other vasodilatory PGs, such as PGI₂, PGE₁ and PGE₂, have been less studied. When a positive inotropic response was observed, it was most likely related to the vasodilatory response (*Couttenye et al. 1985*). Therefore, it is not likely that the reduction of the positive inotropic response is due to the inhibition of PG synthesis. The fact that the α_1 -dependent coronary vascular response is maintained after indomethacin infusion in normal hearts suggests the existence of an accessory pathway, which compensates for the increased vasoconstriction in the absence of COX derivatives.

In conclusion, COX derivatives play a significant role in both coronary and cardiac responses to adrenergic stimulation, in both normal and failing hearts. In the presence of indomethacin, the coronary compartment shows an increased response to α_1 -adrenergic stimulation, while the response to β_2 -adrenergic stimulation was reduced in failing hearts. The cardiac response to phenylephrine and terbutaline is decreased similarly in normal and failing hearts in the presence of COX inhibition. These observations suggest a complex interaction exists between the sympathetic system and COX activation.

REFERENCES

- Bilski, A. J., Halliday, S. E., Fitzgerald, J. D., Wale, J. L. 1983.
The pharmacology of a β_2 -selective adrenoceptor antagonist (ICI 118,551). *J. Cardiovasc. Pharmacol.* **5** : 430-437.
- Bohm, M., Mende, U., Schmitz, W., Scholz, H. 1986. Increased responsiveness to stimulation of α - but not β -adrenoceptors in the hereditary cardiomyopathy of the Syrian hamster. Intact adenosine- and cholinceptor-mediated isoprenaline antagonistic effect. *Eur. J. Pharmacol.* **128** : 195-203.
- Bristow, M. R., Hershberger, R. E., Port, J. D., Monibe, W., Rasmussen R. 1989. β_1 - and β_2 -adrenergic receptor-mediated adenylate cyclase stimulation in nonfailing and failing human ventricular myocardium. *Molec. Pharmacol.* **35** : 295-303.
- Bristow, M. R., Hershberger, R. E., Port, J. D., Gilbert, E. M., Sandoval, A., Rasmussen, R., Cates, A. E., Feldman, A. M. 1990. β -adrenergic pathways in nonfailing and failing human ventricular myocardium. *Circulation* **82** (suppl I) : I-12-I-25.
- Brodde, O. E. and Michel, M. C. 1999. Adrenergic and muscarinic receptors in the human heart. *Pharmacol. Rev.* **51**(4) : 651-689.
- Brodde, O. E., Michel, M. C., Zerkowski, H.-R. 1995. Signal transduction mechanisms controlling cardiac contractility and their alterations in chronic heart failure. *Cardiovasc. Res.* **30** : 570-584.

- Buser, P. T., Camacho, S. A., Wu, S. T., Higgins, C. B., Jasmin, G., Parmley, W.W., Wilkman-Coffelt, J. 1989. The effect of dobutamine on myocardial performance and high-energy phosphate metabolism at different stages of heart failure in cardiomyopathic hamsters: a ^{31}P MRS study. *Am. Heart J.* **117** : 86-91.
- Callow, I. D., Campisi, P., Lambert, M. L., Feng, Q., Arnold, M. O. 1998. Enhanced in vivo α_1 - and α_2 -adrenoceptor-mediated venoconstriction with indomethacin in humans. *Am. J. Physiol.* **275** : H837-H843.
- Canadian Council on Animal Care. 1993. Guide to the care and use of experimental animals. Vol. 1, 2nd Edition, Ottawa.
- Chilian, W. M., Boatwright, R. B., Shoji, T., Griggs, D. M. Jr. 1981. Evidence against significant resting sympathetic coronary vasoconstrictor tone in the conscious dog. *Circ. Res.* **49** : 866-876.
- Couttenye, M. M., De Clerck, N. M., Herman, A. G., Brutsaert, D. L. 1985. Effects of prostacyclin on contractile properties of isolated mammalian cardiac muscle. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* **7** : 971-976.
- Crespo, M. J. 1999. Vascular alterations during the development and progression of experimental heart failure. *J. Card. Failure* **5**(1) : 55-63.
- Crespo, M. J., Altieri, P. I., Escobales, N. 1997. Altered vascular function in early stages of heart failure in hamsters. *J. Card. Failure* **3**(4) : 311-318.

- Daly, P. A. and Sole, M. J. 1990. Myocardial catecholamines and the patho-physiology of heart failure. *Circulation* **82**(suppl I) : I-35-I-43.
- Davey, M. J. 1980. Relevant features of the pharmacology of prazosin. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* **2**(suppl. 3) : S287-S301.
- Dzimiri, N. 1999. Regulation of β -adrenoceptor signalling in cardiac function and disease. *Pharmacol. Rev.* **51**(3) : 465-501.
- Factor, S. M, Takashi, M., Cho, S., Dominitz, R., Sonnenblick, E. H. 1982. Microvascular spasm in the cardiomyopathic Syrian hamster: a preventable cause of focal myocardial necrosis. *Circulation* **66**(2) : 342-354.
- Fontaine, E. R., Viau, S., Jasmin, G., Dumont, L. 1997. Effects of phosphoramidon, BQ 788, and BQ 123 on coronary and cardiac dysfunctions of the failing hamster heart. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* **32** : 12-20.
- Fukuchi, T., Kobayashi, A., Kaneko, M., Ichiyama, A., Yamazaki, N. 1991. Possible involvement of free radicals and antioxidants in the early stages of the development of cardiomyopathy in BIO 14.6 Syrian hamster. *Jpn. Heart J.* **32**(5) : 655-666.
- Hall, D., Zeitler, H., Rudolph, W. 1992. Counteraction of the vasodilator effects of enalapril by aspirin in severe heart failure. *J. Am. Coll. Cardiol.* **20** : 1549-1555.
- Hano, O. and Lakatta, E. G. 1991. Diminished tolerance of prehypertrophic, cardiomyopathic Syrian hamster hearts to Ca^{2+} stresses. *Circ. Res.* **69** : 123-133.

- Horn, E. M. and Bilezikian, J. P. 1990. Mechanisms of abnormal transmembrane signalling of the β -adrenergic receptor in congestive heart failure. *Circulation* **82**(suppl I) : I-26-I-34.
- Hunter, E. G. and Elbrink, J. 1983. Increased contractility in vascular smooth muscle of dystrophic hamsters. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* **61** : 182-185.
- Jasmin, G. and Proschek, L. 1982. Hereditary polymyopathy and cardiomyopathy in the Syrian hamster. I. Progression of heart and skeletal muscle lesions in the UM-X7.1 line. *Muscle Nerve* **5** : 20-25.
- Johansson, B. 1979. Effects of atenolol, metoprolol, and pamtolol on cardiac and vascular beta-adrenoceptors in the rat. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* **1** : 287-298.
- Joseph, J., Gilbert, E. M. 1998. The sympathetic nervous system in chronic heart failure. *Prog. Cardiovasc. Diseases* **41**(1 suppl. 1) : 9-16.
- Karmazyn, M., Leung, C. K. H., Dhalla, N. S. 1979. Prostaglandin actions and interactions on isolated perfused rat hearts. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* **57** : 1275-1282.
- Kaura, D., Takeda, N., Sethi, R., Wang, X., Nagano, M., Dhalla, N. S. 1996. β -adrenoceptor mediated signal transduction in congestive heart failure in cardiomyopathic (UM-X7.1) hamsters. *Molec. Cell. Biochem.* **157** : 191-196.
- Kawaguchi, H., Shoki, M., Sano, H., Kudo, T., Sawa, H., Okamoto, H., Sakata, Y., Yasuda, H. 1991. Phospholipid metabolism in cardiomyopathic hamster heart cells. *Circ. Res.* **69** : 1015-1021.

- Kukovetz, W. R., Holzmann, S., Wurm, A., Pösch, G. 1979.
Prostacyclin increases cAMP in coronary arteries. *J. Cycl. Nucl. Res.* **5**(6) : 469-476.
- Leier, C. V., Binkley, P. F., Cody, R. J. 1990. α -adrenergic component of the sympathetic nervous system in congestive heart failure. *Circulation* **82**(suppl I) : I68-I76.
- Main, J. S., Forster, C., Armstrong, P. W. 1991. Inhibitory role of the coronary arterial endothelium to α -adrenergic stimulation in experimental heart failure. *Circ. Res.* **68** : 940-946.
- Malhotra, A. 1990. Regulatory proteins in hamster cardiomyopathy. *Circ. Res.* **66** : 1302-1309.
- Mittmann, C., Eschenhagen, T., Scholz, H. 1998. Cellular and molecular aspects of contractile dysfunction in heart failure. *Cardiovasc. Res.* **39** : 267-275.
- Okada, T. 1991. Hypoxia-induced change in prostanoids production and coronary flow in isolated rat heart. *J. Mol. Cell. Cardiol.* **23** : 939-948.
- Roberds, S. I., Ervasti, J. M., Anderson, R. D., Ohlendieck, K., Kahl, S. D., Zoloto, D., Campbell, K. P. 1993. Disruption of the dystrophin-glycoprotein complex in the cardiomyopathic hamster. *J. Biol. Chem.* **268**(16) : 11496-11499.
- Rouleau, J.-L., Chuck, L. H. S., Hollosi, G., Kidd, P., Sievers, R. E., Wikman-Coffelt, J., Parmley, W. W. 1982. Verapamil preserves myocardial contractility in the hereditary cardiomyopathy of the Syrian hamster. *Circ. Res.* **50** : 405-412.

- Ruan, Y., Kan, H., Parmentier, J.-H., Fatima, S., Allen, L. F., Malik, K. U. 1998. Alpha-1A adrenergic receptor stimulation with phenylephrine promotes arachidonic acid release by activation of phospholipase D in rat-1 fibroblasts: inhibition by protein kinase A. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **284**(2) : 576-585.
- Sato, A., Hattori, Y., Fukao, M., Kanno, M., Sakuma, I., Kitabatake, A. 1998. A role of myofilament Ca^{2+} sensitivity in enhanced vascular reactivity in cardiomyopathic hamsters. *Eur. J. Pharmacol.* **353** : 247-256.
- Schmitz, W., Boknik, P., Linck, B., Müller, F. U. 1996. Adrenergic and muscarinic receptor regulation and therapeutic implications in heart failure. *Molec. Cell. Biochem.* **157** : 251-258.
- Schrier, R. W. and Abraham, W. T. 1999. Hormones and hemodynamics in heart failure. *New Engl. J. Med.* **341**(8) : 577-585.
- Schrör, K. and Hohlfeld, Th. 1992. Inotropic actions of eicosanoids. *Basic Res Cardiol.* **87** : 2-11.
- Smith, C. J., Sun, D., Hoegler, C., Roth, B. S., Zhang X., Zhao, G., Xu, X.-B., Kobari, Y., Pritchard, K. Jr., Sessa, W. C., Hintze, T. H. 1996. Reduced gene expression of vascular endothelial NO synthase and cyclooxygenase-1 in heart failure. *Circ. Res.* **78** : 58-64.
- Sole, M. J., Lo, C.-M., Laird, C. W., Sonnenblick, E. H., Wurtman, R. J. 1975. Norepinephrine turnover in the heart and spleen of the cardiomyopathic hamster. *Circ. Res.* **37** : 855-862.

- Steinfath, M., Danielsen, W., von der Leyen, H., Mende, U., Meyer, W., Neumann, J., Nose, M., Reich, T., Schmitz, W., Scolz, H., Starbatty, J., Stein, B., Döring, V., Kalmar, P., Haverich, A. 1992. Reduced α_1 - and β_2 - adrenoceptor-mediated positive inotropic effects in human end-stage heart failure. *Br. J. Pharmacol.* **105** : 463-469.
- Strobeck, J.E., Factor, S.M., Bhan, A., Sole, M., Liew, C.C., Fein, F., Sonnenblick, E. H. 1979. Hereditary and acquired cardiomyopathies in experimental animals: mechanical, biochemical and structural features. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **317** : 59-89.
- Takahashi, M., Shichiri, G., Amano, M., Kanamori, T., Kinoshita, M. 1992. Increased uncoupling of β -, β_1 - and β_2 - adrenoceptor to myocardial contraction in failing human myocardium. *Jpn. Circ. J.* **56** : 701-709.
- Tanguay, M., Jasmin, G., Blaise, G., Dumont, L. 1996. Impaired Coronary sensitivity to diltiazem in heart failure: involvement of the cyclooxygenase but not the nitric oxide-synthase pathway. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* **28**(2) : 232-239.
- Terzic, A., Pucéat, M., Vassort, G., Vogel, S.M. 1993. Cardiac α_1 -adrenoceptors: an overview. *Pharmacol. Rev.* **45**(2) : 147-175.

- Vecchini, A., Binaglia, L., Di Nardo, P., Minieri, M., Panagia, V., Dhalla, N. S. 1995. Altered lipid metabolism in the failing heart of cardiomyopathic hamsters (UM-X7.1). *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids* **52** : 199-203.
- Veronneau, M., Tanguay, M., Fontaine, E., Jasmin, G., 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., Veronneau, M., Jasmin, G., 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**(3) : 207-215.
- Wang, J., Liu, X., Arneja, A. S., Dhalla, N. S. 1999. Alterations in protein kinase A and protein kinase C levels in heart failure due to genetic cardiomyopathy. *Can. J. Cardiol.* **15**(6) : 683-690.
- Wong, S. C. Y., Fukuchi, M., Melnyk, P., Rodger, I., Giaid, A. 1998. Induction of cyclooxygenase-2 and activation of nuclear factor- κ B in myocardium of patients with congestive heart failure. *Circulation* **98** : 100-103.
- Wu, K. K. 1998. Cyclooxygenase-2 induction in congestive heart failure, friend or foe? *Circulation* **98** : 95-96.

Table 1. Baseline hemodynamics

Parameters	Normal hearts	Failing hearts
Coronary flow (ml/min)	6.4 ± 0.4	5.8 ± 0.4
Left ventricular systolic pressure (mmHg)	48 ± 3	41 ± 2*
Left ventricular diastolic pressure (mmHg)	10 ± 1	10 ± 1
Heart rate (beats/min)	192 ± 8	170 ± 8*

Values are expressed as means ± SEM (n = 18-19 per group)

* p < 0.05 versus normal hearts

Table 2. Hemodynamic response to the α_1 antagonist prazosin, the β_1 antagonist metoprolol and the β_2 antagonist ICI 118551 in normal (N) and failing (F) isolated hearts

Drugs		CF ($\Delta\%$)	LVSP ($\Delta\%$)	LVDP (Δ mmHg)	HR ($\Delta\%$)
Prazosin	N	-2 ± 2	-4 ± 3	1 ± 1	-10 ± 5
	F	-2 ± 1	$-4 \pm 1^*$	-1 ± 1	$-12 \pm 4^*$
Metoprolol	N	-1 ± 1	$-5 \pm 2^*$	1 ± 1	-2 ± 3
	F	$-6 \pm 2^*$	$-5 \pm 2^*$	1 ± 1	-5 ± 4
ICI 118551	N	7 ± 3	6 ± 3	2 ± 1	2 ± 2
	F	4 ± 2	$10 \pm 4^*$	2 ± 1	$-17 \pm 4^*$

Values are expressed as means \pm SEM (n = 6-7 per group). Percent change from baseline was used for CF, LVSP and HR. Absolute change from baseline was used for LVDP.

Abbreviations: CF, coronary flow; LVSP, left ventricular systolic pressure; LVDP, left ventricular diastolic pressure; HR, heart rate; N, normal group; F, failing group.

* p < 0.05 versus baseline within each group.

Table 3. Effects of phenylephrine, dobutamine and terbutaline on left ventricular diastolic pressure (LVDP) and heart rate (HR) in normal (N) and failing (F) hearts

Drugs		LVDP (Δ mmHg)	HR (Δ %)
Phenylephrine	N	-1 ± 1	37 ± 21
	F	$-3 \pm 1^*$	22 ± 12
Dobutamine	N	2 ± 1	66 ± 11
	F	$-2 \pm 1^*$	66 ± 15
Terbutaline	N	2 ± 4	59 ± 6
	F	1 ± 1	54 ± 8

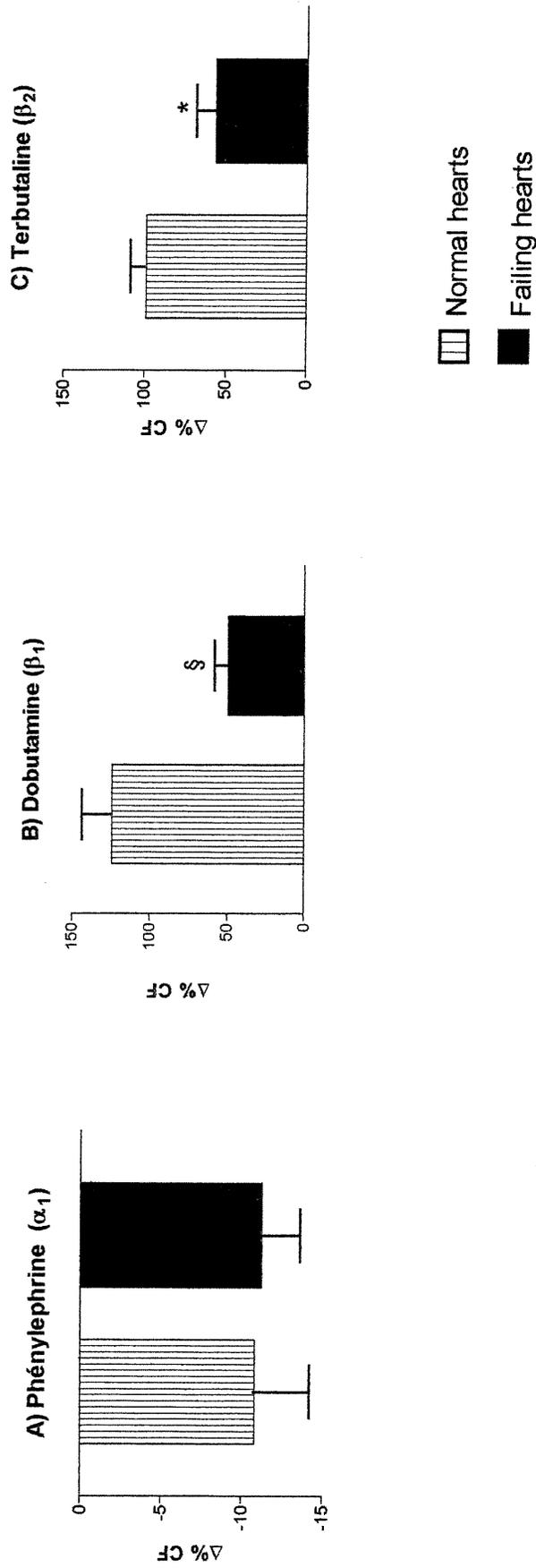
Values are expressed as means \pm SEM (n = 6-7 per group).

Absolute change from baseline within each group was used for LVDP while percent change from baseline within each group was used for HR.

Abbreviations: LVDP, left ventricular diastolic pressure; HR, heart rate; N, normal group; F, failing group.

* $p < 0.05$ versus normal hearts

Figure 4 : Coronary response to phenylephrine (1 μ M) (A), dobutamine (500 nM) (B), and terbutaline (3 μ M) (C).



Data are expressed as percent change ($\Delta\%$) of coronary flow from baseline

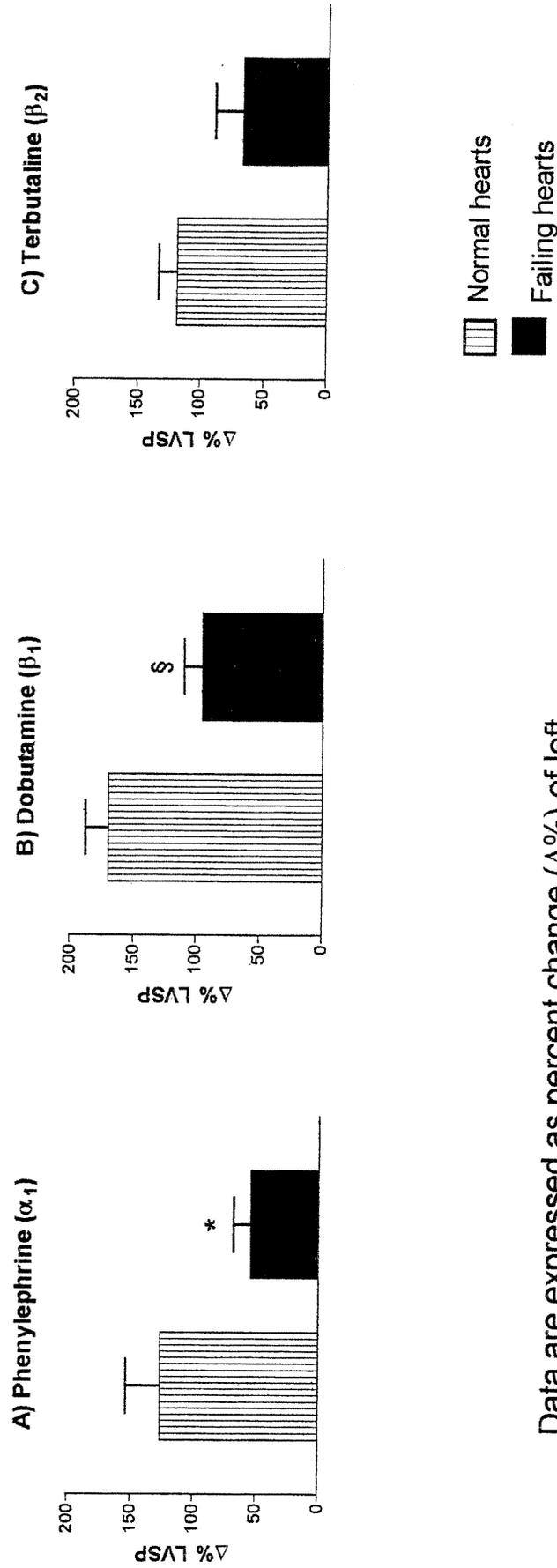
Means \pm SEM

n = 6 or 7 per group

* p < 0.05 versus normal

§ p < 0.01 versus normal

Figure 5 : Inotropic response to phenylephrine (1 μ M) (A), dobutamine (500 nM) (B), and terbutaline (3 μ M) (C).



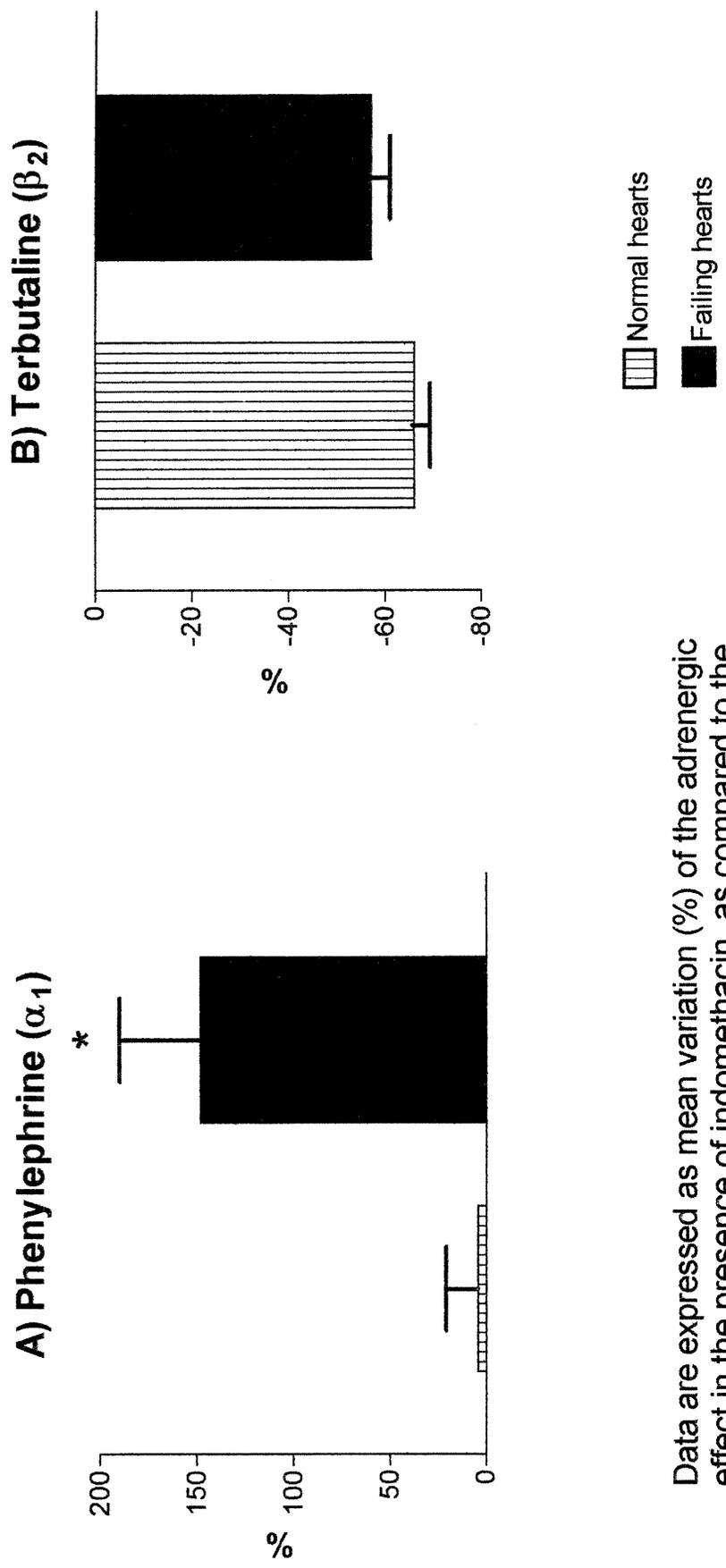
Data are expressed as percent change ($\Delta\%$) of left ventricular systolic pressure from baseline

Means \pm SEM

* p < 0.05 versus normal

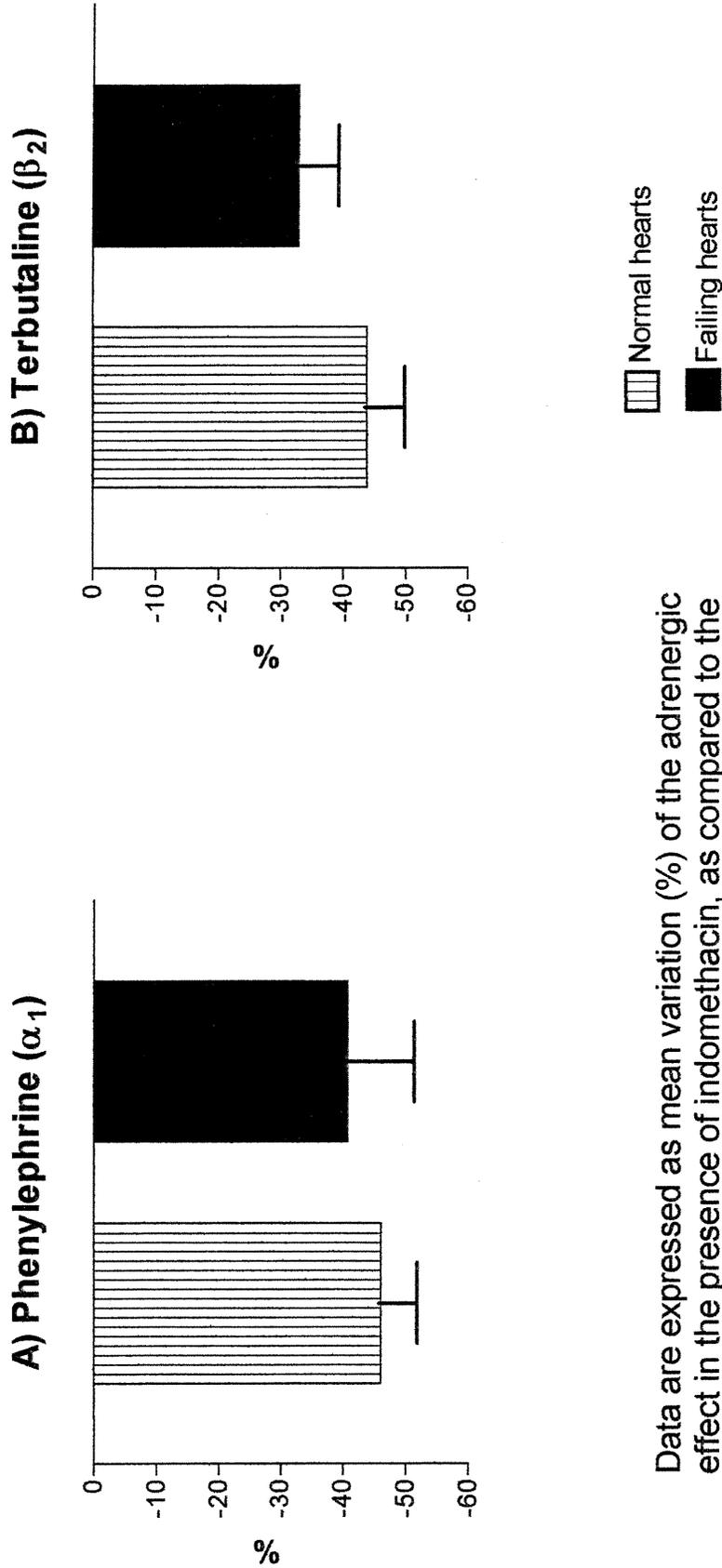
§ p < 0.01 versus normal

Figure 6 : Effect of indomethacin (10 μ M) on the coronary response to phenylephrine (1 μ M) (A) or terbutaline (3 μ M) (B).



Data are expressed as mean variation (%) of the adrenergic effect in the presence of indomethacin, as compared to the adrenergic response prior to indomethacin infusion
Means \pm SEM
n = 4 or 5 per group
* p < 0.05 versus normal

Figure 7 : Effect of indomethacin (10 μ M) on the cardiac inotropic response to phenylephrine (1 μ M) (A) or terbutaline (3 μ M) (B)



Data are expressed as mean variation (%) of the adrenergic effect in the presence of indomethacin, as compared to the adrenergic response prior to indomethacin infusion

Means \pm SEM

n = 4 or 5 per group

* p < 0.05 versus normal

CHAPITRE 3 :
DISCUSSION ET
CONCLUSION

3.1 – Modèle expérimental

La défaillance cardiaque est actuellement l'une des conditions les plus coûteuses dans le domaine médical. La connaissance plus approfondie de cette condition est donc importante. Des altérations du système nerveux sympathique sont associées avec la défaillance cardiaque. Cependant, les réponses adrénérgiques du cœur défaillant sont encore controversées. D'autres médiateurs intracellulaires, tels les dérivés de la cyclooxygénase, pourraient exercer une certaine influence sur les réponses adrénérgiques.

L'abondante littérature disponible concernant les aspects histologique, électrophysiologique, biochimique et mécanique des cœurs de hamsters cardiomyopathiques rend ce modèle approprié pour l'étude de la défaillance cardiaque. Bien que certaines cardiomyopathies humaines puissent présenter des particularités, qui ne sont pas observées dans ce modèle expérimental, le cœur défaillant de l'homme et celui du hamster cardiomyopathique présentent plusieurs caractéristiques communes.

Le hamster cardiomyopathique de la lignée UM-X7.1 est un modèle de cardiomyopathie héréditaire. Aucune procédure chirurgicale ou pharmacologique n'est requise pour induire la défaillance cardiaque. Celle-ci se développe de façon lente et progressive, selon des étapes bien déterminées (*Jasmin et Proschek 1982*). Cette évolution s'apparente davantage au développement de la défaillance cardiaque chez l'humain que celle des modèles de cardiomyopathie induite qui développent une défaillance cardiaque dans un court

laps de temps. De plus, les procédures utilisées afin d'induire la cardiomyopathie causent souvent des traumatismes post-chirurgicaux ou des altérations de l'homéostasie générale de l'organisme suite au déclenchement d'une réaction endogène.

Les cœurs isolés de hamsters normaux et défailants ont été perfusés de façon rétrograde avec une solution de Krebs-Henseleit, selon la méthode de Langendorff. La perfusion à pression constante permet l'étude des variations du débit coronarien. Celui-ci, dans la présente étude, a été mesuré de façon continue à l'aide d'une sonde ultrasonique installée dans la ligne de perfusion en amont du cœur. Les pressions ventriculaires systoliques et diastoliques gauches ont été mesurées à l'aide d'un ballon de latex inséré dans le ventricule gauche et relié à un transducteur de pression. La fréquence cardiaque a été calculée à partir du tracé de variation de pression ventriculaire gauche. Les agents pharmacologiques utilisés sont infusés directement dans la ligne de perfusion. Cette préparation permet donc l'étude des réponses cardiaque et coronarienne, sans l'influence des éléments circulants sanguins, ni des stimulations neurohumorales.

Le modèle de cœur isolé de hamster cardiomyopathique a été utilisé à plusieurs reprises afin d'étudier les processus pathologiques associés à la défaillance cardiaque ainsi que les réponses à divers agents pharmacologiques (*Buser et coll. 1995, Hano et Lakatta 1991, Rouleau et coll. 1982*). Certaines données indiquent une détérioration de l'ordre de 18 à 40% de la fonction cardiaque après deux heures de perfusion (*Galinares et Hearse 1990*). La durée

totale des protocoles expérimentaux de la présente étude n'ont jamais dépassé 75 minutes, de sorte qu'une détérioration contractile ne puisse être associée au modèle expérimental.

L'extrapolation des résultats obtenus à une situation clinique doit être effectuée avec précaution. Les caractéristiques hémodynamiques et physiologiques du hamster cardiomyopathique, de même que celles des autres modèles animaux, n'étant pas identiques à celles de l'homme, les résultats sont sujets à une variabilité inter-espèces.

3.2 – La réponse adrénérergique

3.2.1 – L'activité sympathique basale

La présence des récepteurs α_1 -, β_1 - et β_2 -adrénérergiques dans le cœur et les vaisseaux de hamsters a été démontrée (*Sethi et coll. 1994*, *Kaura et coll. 1996*). L'infusion d'antagonistes adrénérergiques seuls n'a provoqué que de très faibles variations des paramètres hémodynamiques dans les cœurs de hamsters normaux et défaillants. Le prazosin, antagoniste α_1 -adrénérergique, n'a que très faiblement réduit la fréquence cardiaque et la pression systolique ventriculaire gauche dans les cœurs défaillants, tout comme l'antagoniste β_2 -adrénérergique, le ICI 118,551. Le métoprolol, antagoniste β_1 -adrénérergique, a quant à lui causé une faible réduction de la pression systolique ventriculaire gauche dans les cœurs normaux et défaillants, ainsi qu'une légère diminution du débit coronarien dans les cœurs défaillants.

Ceci indique que l'activité sympathique basale est très faible dans les cœurs isolés de hamsters. La même observation a d'ailleurs été faite par un autre groupe, qui a rapporté que l'inhibition β -adrénérergique, de même que l'inhibition combinée α - et β -adrénérergique, n'ont provoqué que des changements non-significatifs de la pression artérielle moyenne et de la fréquence cardiaque chez le chien conscient à l'état de repos (*Chilian et coll. 1981*). Ainsi, nous avons eu recours à des agonistes adrénérergiques

exogènes afin d'évaluer les réponses adrénérgiques dans les cœurs isolés de hamsters normaux et défaillants.

3.2.2 – Réponse adrénérgique du cœur normal

La réponse adrénérgique est bien connue dans le système cardiovasculaire normal. Au niveau vasculaire, la stimulation α_1 -adrénérgique induit une vasoconstriction, tandis que les stimulations β_1 - et β_2 -adrénérgiques provoquent une vasodilatation (*Leier et coll. 1990, Xu et coll. 2000*). Ces réponses ont également été démontrées dans les vaisseaux coronariens (*Shaffer et Malik 1982, Trimarco et coll. 1986*). Au niveau cardiaque, les trois types de récepteurs adrénérgiques à l'étude induisent une réponse inotrope positive (*Takahashi et coll. 1992, Pavoine et coll. 1999*). Dans le cadre du présent travail, toutes ces réponses ont été reproduites dans les cœurs isolés de hamsters normaux.

3.2.3 – Réponse adrénérgique du cœur défaillant

Un déséquilibre du système nerveux autonome a été observé chez le hamster cardiomyopathique. En effet, il semble que l'activité du système sympathique soit accrue, alors que celle du système parasympathique soit réduite (*Lo Giudice et coll. 2000*). Ce débalancement serait compensatoire. Tout comme chez l'homme, en défaillance cardiaque, les réserves cardiaques de noradrénaline sont épuisées chez le hamster cardiomyopathique, et le taux de noradrénaline plasmatique est élevé (*Kagiya et coll. 1991, Watanabe et coll. 1993*). Quelques études ont également démontré

des altérations au niveau des récepteurs et des réponses adrénérgiques dans les cœurs défaillants de hamsters.

3.2.3.1 – Le compartiment coronarien

Très peu d'études ont examiné la réponse adrénérgique des vaisseaux coronariens en défaillance cardiaque. Néanmoins, quelques groupes ont évalué les réponses adrénérgiques de certains autres lits vasculaires, principalement de l'aorte, chez les hamsters cardiomyopathiques. Malgré tout, les résultats sont controversés. Hunter et Elbrink (1983) et Sato et coll. (1998) ont démontré une vasoconstriction accrue de l'aorte suivant une exposition à la noradrénaline ou à la phényléphrine chez deux lignées de hamsters cardiomyopathiques, le BIO 14.6 et le BIO 53.58. Par contre, Crespo et coll. (1997) ne rapporte aucun changement significatif de la réponse vasoconstrictrice aortique chez les hamsters BIO TO-2 en présence de noradrénaline.

L'explication la plus plausible pour expliquer ces résultats variables se situe au niveau de l'âge des animaux étudiés. Les deux groupes qui rapportent une réponse accrue ont étudié des animaux âgés entre 90 et 145 jours. Or, la défaillance cardiaque se développe à un âge plus avancé. Les réponses ont donc été étudiées en présence d'une cardiomyopathie, mais pas en défaillance. En fait, ces cœurs sont fort probablement sujets à une hyperréactivité adrénérgique compensatoire. Cependant, Crespo (1999) a récemment étudié la réponse aortique vasoconstrictrice à la noradrénaline chez des hamsters BIO TO-2 de 60, 180 et 330 jours. La réponse maximale

de la courbe dose-réponse à la noradrénaline s'avère significativement plus grande chez les hamsters cardiomyopathiques que normaux, et ce à toutes les phases évaluées.

Ainsi, la réponse vasoconstrictrice α_1 -dépendante s'avère être soit accrue ou inchangée chez les hamsters cardiomyopathiques. Dans la présente étude, nous observons une réponse α_1 -adrénergique coronarienne comparable dans les cœurs normaux et défaillants. Ces résultats sont en accord avec des observations antérieures avec d'autres agents pharmacologiques. La réponse coronarienne était également normale dans le cœur défaillant du hamster UM-X7.1, soit avec l'endothéline-1, le nitroprussiate de sodium et l'acétylcholine à faibles doses (*Fontaine et coll. 1997, Véronneau et coll. 1997*). Le territoire coronarien semble présenter des particularités qui font en sorte de le protéger contre une vasoconstriction trop prononcée en défaillance cardiaque.

Bien que très peu de données soient disponibles quant aux réponses vasculaires β -adrénergiques en défaillance cardiaque, des évidences suggèrent une désensibilisation des récepteurs β -adrénergiques coronariens (*Brodde et coll. 1995*). Dans le présent travail, nous avons observé une réduction significative de la vasodilatation coronarienne β_1 - et β_2 -dépendante en défaillance cardiaque. Il serait en effet possible que les taux élevés de noradrénaline circulante observés en défaillance cardiaque puissent résulter en une désensibilisation de ces récepteurs. Ce phénomène n'a cependant

été observé qu'au niveau cardiaque (*Nakamura et coll. 1998*). D'autre part, des altérations dans la voie de transduction des récepteurs β -adrénergiques, principalement au niveau des protéines G, pourraient expliquer la réponse vasodilatatrice réduite en défaillance cardiaque (*Horn et Bilezikian 1990*). Enfin, un effet indirect cardiaque pourrait également modifier la réponse coronarienne β -adrénergique dans cette condition.

3.2.3.2 – Le compartiment cardiaque

La réponse cardiaque α_1 -dépendante est relativement peu connue en défaillance cardiaque. Bien que des études s'y rapportent, les résultats publiés sont contradictoires. Certains prétendent que la réponse inotrope positive demeure inchangée en défaillance cardiaque (*Takahashi et coll. 1992, Bohm et coll. 1986*). Contrairement à ces données, dans la présente étude, la réponse inotrope positive α_1 -dépendante est diminuée dans les cœurs défaillants. Ces observations sont semblables à celles rapportées précédemment par Hano et Lakatta (*1991*) et Steinfath et coll. (*1992*). Notons que l'étude de Takahashi et coll. (*1992*) a été effectuée *in vivo*. Il est donc possible que la réponse α_1 -adrénergique directe ait été masquée par des mécanismes indirects. D'autre part, dans le travail de Bohm et coll. (*1986*), il est surprenant de constater que la majorité des muscles papillaires de hamsters normaux étudiés n'ont démontré aucune réponse inotrope positive à la phényléphrine. Ceci laisse planer un doute sur la validité du modèle expérimental utilisé.

Les études se rapportant à la densité des récepteurs α_1 -adrénergiques cardiaques ont également fourni des données contradictoires. Bien que la plupart des études démontrent une densité accrue de ces récepteurs (*Kagiya et coll. 1991, Bristow 2000*), d'autres groupes ont observé une densité inchangée ou même réduite (*Leier et coll. 1990, Watanabe et coll. 1993*). L'affinité des récepteurs α_1 -adrénergiques ne serait pas modifiée lors du développement de la défaillance cardiaque (*Main et coll. 1991, Sato et coll. 1998*). Ainsi, la majorité des études rapportent une réponse α_1 -adrénergique réduite en défaillance cardiaque, et ce malgré une densité accrue de ces récepteurs. Ceci suggère une altération au niveau de la voie de signalisation intracellulaire des récepteurs α_1 -adrénergiques.

Tel que mentionné précédemment, les mécanismes intracellulaires qui régissent l'action inotrope positive α_1 -adrénergique sont complexes, et font intervenir plusieurs éléments. La protéine kinase C (PKC) serait l'un des éléments les plus importants de cette réponse. Son activité serait d'ailleurs accrue en défaillance cardiaque (*Wang et coll. 1999*). Parmi ses substrats se trouvent les troponines I et T (TnI et TnT). Il a été démontré que leur phosphorylation induit une réduction de l'activité de la Mg^{2+} -ATPase musculaire Ca^{2+} -dépendante (*Wang et coll. 1999*). De plus, la phosphorylation de la TnI altère la capacité de la troponine C à lier le Ca^{2+} (*Malhotra 1990*). Ces deux phénomènes ont pour résultat une contraction musculaire compromise, et pourraient

expliquer, du moins en partie, la diminution de la réponse inotrope que nous avons observée en présence de phényléphrine.

Les réponses β_1 - et β_2 -adrénergiques cardiaques sont quant à elles très bien connues en défaillance cardiaque. Nous avons observé, comme plusieurs autres groupes, une réduction marquée de la réponse inotrope β_1 -dépendante (*Buser et coll. 1995, Bristow et coll. 1989*). La réponse inotrope à la stimulation β_2 -adrénergique, dans notre étude, est légèrement réduite, mais cette réduction ne s'avère pas significative. D'autres groupes ont pu démontrer une réponse inotrope β_2 -dépendante réduite de façon significative (*Takahashi et coll. 1992, Bristow et coll. 1990*). Ces réponses sont vraisemblablement dues à une réduction sélective du nombre de récepteurs β_1 -adrénergiques, ainsi qu'à un découplage des récepteurs β_2 -adrénergique de leur voie de signalisation intracellulaire en défaillance cardiaque (*Schmitz et coll. 1996*).

Des altérations ont été démontrées dans la voie de signalisation intracellulaire commune aux deux types de récepteurs β -adrénergiques dans le cœur défaillant du hamster. L'activité basale de l'adénylate cyclase (AC) est inchangée tandis que l'activation de cette dernière par divers agents, tels la noradrénaline, le fluorure de sodium (NaF) et la forskoline, est fortement réduite dans les cœurs défaillants (*Sethi et coll. 1994*). Un contenu accru des protéines G_s et G_i a également été rapporté (*Sethi et coll. 1994*). Kaura et coll. (*1996*) a observé une augmentation de l'activité de la protéine G_i , tandis que la protéine G_s semblait découplée du récepteur. Ces

altérations peuvent donc également expliquer la réponse inotrope réduite suite aux stimulations β -adrénergiques en défaillance cardiaque.

3.3 – L'implication de la voie de la cyclooxygénase

Les dérivés de la voie de la cyclooxygénase (COX) produisent des effets vasculaires et cardiaques. Plusieurs évidences suggèrent que des altérations dans cette voie pourraient expliquer les altérations de la sensibilité coronarienne observée chez le hamster défaillant. En premier lieu, il a été démontré que l'indométhacine, un inhibiteur de la COX, altère la réponse hyperémique coronarienne à une occlusion de 30 secondes. L'inhibition de la COX réduit également la réponse vasodilatatrice à l'acétylcholine dans les cœurs défaillants (*Véronneau et coll. 1997*). Finalement, il a été suggéré que les dérivés de la COX puissent être impliqués dans l'altération de la sensibilité coronarienne au diltiazem, un inhibiteur des canaux calciques, dans les cœurs défaillants (*Tanguay et coll. 1996*). La voie de la COX est donc impliquée dans plusieurs altérations coronariennes en défaillance cardiaque. Cette voie étant intimement reliée à la stimulation adrénergique, il est possible que les dérivés de la COX puissent également altérer les réponses adrénergiques dans le cœur défaillant.

3.3.1 – La réponse coronarienne

La vasoconstriction vasculaire coronarienne α_1 -dépendante demeure inchangée chez le hamster normal en présence d'indométhacine. En revanche, cette même réponse est augmentée dans les cœurs défaillants. Chez le rat et le lapin normaux, l'indométhacine n'a pas modifié la réponse vasoconstrictrice de l'aorte à la phényléphrine (*da Cunha et coll. 2000, Smith et McGrath 1988*). Chez le rat, la stimulation adrénergique en

présence d'indométhacine a provoqué des réponses variables selon le lit vasculaire étudié. En effet, lors de l'inhibition de la COX, la vasoconstriction de l'artère carotide est augmentée tandis que celle des artères splénique et mésentérique est réduite (*Kondo et coll. 1980*). Une seule étude rapporte les effets de l'indométhacine sur la réponse adrénergique vasculaire du hamster défaillant. La vasoconstriction de l'aorte du hamster cardiomyopathique de la lignée BIO 53.58 est augmentée avec l'inhibition de la COX (*Sato et coll. 1998*). Aucune étude similaire n'a été réalisée dans les vaisseaux coronariens. Les résultats de la présente étude suggèrent que la réponse adrénergique vasculaire coronarienne α_1 -dépendante soit modulée par les dérivés de la COX dans les cœurs défaillants seulement. Ceci pourrait également suggérer l'existence d'une voie de signalisation accessoire dans le cœur normal, qui aurait comme rôle de compenser la réponse vasculaire en absence des dérivés de la COX.

La réponse vasodilatatrice coronarienne suite à une stimulation β_2 -adrénergique est réduite à la fois dans les cœurs normaux et défaillants en présence d'indométhacine. Il est peu probable que cette altération soit reliée à la défaillance cardiaque, puisque la réduction relative de la vasodilatation est identique dans les deux groupes. Quelques groupes ont observé les réponses β -adrénergiques vasculaires en présence d'indométhacine. Cependant, les résultats obtenus sont contradictoires. Dans les vaisseaux coronariens de chien, la vasodilatation β -dépendante est réduite avec l'inhibition de la COX (*Trimarco et coll. 1986*). Au contraire,

cette même réponse est augmentée dans les vaisseaux coronariens bovins (*Rubanyi et Paul 1985*). Cette réponse est variable en fonction des espèces utilisées. Dans le cas du hamster, il semble que, contrairement à la réponse α_1 -adrénergique vasculaire, la réponse β -adrénergique vasculaire soit atténuée par les dérivés de la cyclooxygénase à la fois dans les cœurs normaux et défailants.

L'acide arachidonique accumulé dans le cœur suite à une stimulation adrénergique et à la dégradation accrue des phospholipides membranaires est transformé par la COX, principalement en dérivés vasodilatateurs. En effet, la majorité de l'acide arachidonique est normalement transformée en prostacycline (PGI_2) (*Kawaguchi et coll. 1991*). La présence d'altérations dans la voie de la cyclooxygénase en défaillance cardiaque pourrait interférer avec la production normale de ces dérivés vasodilatateurs, ce qui accroîtrait la vasoconstriction apparente. Une légère augmentation de l'activité de la phospholipase A_2 a été rapportée en défaillance cardiaque, ce qui pourrait mener à une plus grande accumulation d'acide arachidonique dans le cœur (*Wang et coll. 1999*). Quelques études rapportent également des altérations au niveau de la COX dans les cœurs défailants. Le contenu en ARNm de la COX-1 serait réduit dans les cellules endothéliales de cœurs défailants chez le chien (*Smith et coll. 1996*). De plus, le contenu en COX-2 inductible serait accru dans les cœurs de rats défailants (*Wong et coll. 1998*). Puisque les deux isozymes de la COX ne produisent pas les mêmes médiateurs, il est possible que les dérivés produits dans les cœurs normaux et défailants ne soient pas identiques. Ainsi, l'activation de COX-2 est associée à des dérivés

pro-inflammatoires, tels la prostaglandine E_2 (PGE_2) et la thromboxane A_2 (TXA_2), ce dernier étant un puissant vasoconstricteur (*Wu 1998*). Ainsi, la modification du type de médiateurs produits pourrait expliquer la spécificité de la réponse coronarienne en défaillance cardiaque.

3.3.2 – La réponse cardiaque

En présence d'indométhacine, les réponses inotropes positives α_1 - et β_2 -dépendantes sont réduites, à la fois dans les cœurs normaux et défaillants. Il est toujours possible que certaines prostaglandines exercent un effet inotrope, bien que leurs effets cardiaques soient négligeables (*Couttenye et coll. 1985*). Les dérivés qui induisent un effet inotrope positif sont la prostaglandine D_2 (PGD_2) et la thromboxane A_2 (TXA_2) (*Schrör et Holhfeld 1992*). Cependant, ces deux dérivés sont également vasoconstricteurs (*Karmazyn et coll. 1979*). Or, les résultats que nous avons obtenus au niveau coronarien suggèrent plutôt une altération dans la synthèse de dérivés vasodilatateurs. Quant aux principaux dérivés vasodilatateurs, la PGE_2 et la PGI_2 , elles n'exercent pas d'effet cardiaque direct. De la sorte, il est peu probable que la réduction de l'effet inotrope positif α_1 - et β_2 -dépendant soit due à l'inhibition de la synthèse des dérivés de la COX.

3.4 – Conclusion

Au cours du présent travail, nous avons rapporté que les réponses adrénérergiques sont altérées dans les cœurs défailants du hamster cardiomyopathique de la lignée UM-X7.1. Nous avons également pu constater que l'inhibition de la voie de la cyclooxygénase affecte certaines composantes de la réponse adrénérergique.

De nombreuses altérations au niveau des voies de signalisation intracellulaires ont été observées en défailance cardiaque. Certaines d'entre elles pourraient expliquer les altérations des réponses adrénérergiques dans les cœurs défailants. Plusieurs évidences suggèrent une implication des dérivés de la cyclooxygénase dans la modification des réponses cardiaques et vasculaires en défailance cardiaque. Ces altérations pourraient être explicables par une modification des dérivés présents en défailance cardiaque.

Les résultats que nous rapportons suggèrent que les dérivés de la cyclooxygénase jouent un rôle important dans la modulation des réponses adrénérergiques coronariennes chez les hamsters défailants. De plus, il semble que ces dérivés soient également impliqués dans la réponse β_2 -adrénérergique coronarienne des hamsters normaux, et la réponse inotrope, indépendamment de la pathologie.

CHAPITRE 4 :
BIBLIOGRAPHIE

- Allan G. and Levi R. The cardiac effects of prostaglandins and their modification by the prostaglandin antagonist N-0164. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2000; 214(1): 45-49.
- Bohm M., Mende U., Schmitz W., Scholz H. Increased responsiveness to stimulation of α - but not β -adrenoceptors in the hereditary cardiomyopathy of the Syrian hamster. Intact adenosine- and cholinergic-mediated isoprenaline Antagonistic effect. *Eur. J. Pharmacol.* 1986; 128: 195-203.
- Bond M., Jaraki A.R., Disch C.H., Healy B.P. Subcellular calcium content in cardiomyopathic hamster hearts in vivo: an electron probe study. *Circ. Res.* 1988; 64: 1001-1012.
- Braunwald E., Bristow M.R. Congestive heart failure : fifty years of progress. *Circulation* 2000; 102(suppl. IV): IV-14-IV-23.
- Bristow M.R., Ginsburg R., Umans V., Fowler M., Minobe W., Rasmussen R., Zera P., Menlove R., Shah P., Jamieson S., Stinson E.B. β_1 - and β_2 -adrenergic-receptor subpopulations in nonfailing and failing human ventricular myocardium : coupling of both receptor subtypes to muscle contraction and selective β_1 -receptor down-regulation in heart failure. *Circ. Res.* 1986; 59: 297-309.
- Bristow M.R., Hershberger R.E., Port D. Minobe W., Rasmussen R. β_1 - and β_2 -adrenergic receptor-mediated adenylate cyclase stimulation in nonfailing and failing human ventricular myocardium. *Mol. Pharmacol.* 1989; 35: 295-303.

- Bristow M.R., Hershberger R.E., Port J.D., Gilbert E.M., Sandoval A., Rasmussen R., Cates A.E., Feldman A.M. β -adrenergic pathways in nonfailing and failing human ventricular myocardium. *Circulation* 1990; 82(suppl. I): I-12-I-25.
- Bristow M.R. β -adrenergic receptor blockade in chronic heart Failure. *Circulation* 2000; 101: 558-569.
- Brodde O.E. β_1 - and β_2 -adrenoceptors in the human heart : properties, function and alterations in chronic heart failure. *Pharmacol. Rev.* 1991; 43(2): 203-242.
- Brodde O.E., Michel M.C., Zerkowski H.R. Signal transduction mechanisms controlling cardiac contractility and their alterations in chronic heart failure. *Cardiovasc. Res.* 1995; 30: 570-584.
- Brodde, O.E., Michel M.C. Adrenergic and muscarinic receptors in the human heart. *Pharmacol. Rev.* 1999; 51(4): 651-689.
- Bugajski J., Gadek-Michalska A., Borycz J., Glod R., Bugajski A.J. Effect of indomethacin in the pituitary-adrenocortical response to adrenergic stimulation. *Life Sci.* 1996; 59(14): 1157-1164.
- Buser P.T., Wu S.Y., Parmley W.W., Jasmin G., Wikman-Coffelt J. Distinct modulation of myocardial performance, energy metabolism, and $[Ca^{2+}]_i$ transients by positive inotropic drugs in normal and severely failing hamster hearts. *Cardiovasc. Drugs Ther.* 1995; 9: 151-157.

- Callow I.D., Campisi P., Lambert M.L., Feng Q., Arnold J.M.O.
Enhanced in vivo α_1 - and α_2 -adrenoceptor-mediated
venoconstriction with indomethacin in humans. *Am. J.
Physiol.* 1998; 275: H837-H843.
- Chemla D., Sclabert E., Desché P., Lecarpentier Y. La
cardiomyopathie du hamster Syrien. *Archives des Maladies
du Cœur* 1991; 84: 85-87.
- Chilian W.M., Boatwright R.B., Shoji T., Griggs D.M. Evidence
against significant resting sympathetic coronary
vasoconstrictor tone in the conscious dog. *Circ. Res.* 1981;
49: 866-876.
- Cleland J.G.F., Khand A., Clark A. The heart failure epidemic :
exactly how big is it ? *Eur. Heart J.* 2001; 22: 623-626.
- Couttenye M.M., De Clerck N.M., Herman A.G., Brutsaert D.L.
Effects of prostacyclin on contractile properties of isolated
mammalian cardiac muscle. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*
1985; 7: 971-976.
- Crespo M.J., Altieri P.I., Escobales N. Altered vascular function in
early stages of heart failure in hamsters. *J. Cardiac Failure*
1997; 3(4): 311-318.
- Crespo M.J. Vascular alterations during the development and
progression of experimental heart failure. *J. Cardiac Failure*
1999; 5(1): 55-63.
- Da Cunha V., Rossoni L.V., Oliveira P.A., Poton S., Pretti S.C.,
Vassallo D.V., Stefanon I. Cyclooxygenase inhibition
reduces blood pressure elevation and vascular reactivity
dysfunction caused by inhibition of nitric oxide synthase in
rats. *Clin. Exper. Hypertension* 2000; 22(2): 203-215.

- Davis R.C., Hobbs F.D.R., Lip G.Y.H. History and epidemiology. *BMJ* 2000; 320: 39-42.
- Delahaye F., de Gevigney G. Épidémiologie de l'insuffisance cardiaque. *Ann. Cardiol. Angéiol.* 2001; 50: 6-11.
- Del Carlo C.H., O'Connor C.M. Cardiac troponins in congestive heart failure. *Am. Heart J.* 1999; 138: 646-653.
- Dora K.A., Hinton J.M., Walker S.D., Garland C.J. An indirect influence of phenylephrine on the release of endothelium-derived vasodilators in rat small mesenteric artery. *Br. J. Pharmacol.* 2000; 129: 381-387.
- Dusting G.J., Chapple D.J., Hughes R., Moncada S., Vane J.R. Prostacyclin (PGI₂) induces coronary vasodilation in anaesthetised dogs. *Cardiovasc. Res.* 1978; 12: 720-730.
- Eichhorn E.J., Bristow M.R. Medical therapy can improve the biological properties of the chronically failing heart. A new era in the treatment of heart failure. *Circulation* 1996; 94: 2285-2296.
- Factor S.M., Minase T., Cho S., Dominitz R, Sonnenblick E.H. Microvascular spasm in the cardiomyopathic Syrian hamster: a preventable cause of focal myocardial necrosis. *Circulation* 1982; 66(2): 342-354.
- Fedida D., Braun A.P., Giles W.R. α_1 -adrenoceptors in myocardium: functional aspects and transmembrane signaling mechanisms. *Physiol Rev.* 1993; 73(2): 469-487.
- Fontaine E.R., Viau S., Jasmin G., Dumont L. Effects of phosphoramidon, BQ 788, and BQ 123 on coronary and cardiac dysfunctions of the failing hamster heart. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1998; 32: 12-20.

- Fukuchi T., Kobayashi A., Kaneko M., Ichiyama A., Yamazaki N.
Possible involvement of free radicals and antioxidants in the early stages of the development of cardiomyopathy in BIO 14.6 Syrian hamster. *Jpn. Heart J.* 1991; 32(5): 655-666.
- Furuhashi N., Miyazaki S., Kamura M., Emura S., Yasuda K. Role of endothelium and vasoconstrictor prostanoids in norepinephrine-induced vasoconstriction in isolated rat common carotid arteries. *Clin. Exper. Hypertension* 2000; 22(5): 534-554.
- Galinanes M., Hearse D.J. Species differences in susceptibility to Ischemic injury and responsiveness to myocardial protection. *Cardioscience* 1998; 2: 127-143.
- Goff D.C., Pandey D.K., Chan F.A., Ortiz C., Nichaman M.Z.
Congestive heart failure in the United States. *Arch. Int. Med.* 2000; 160: 197-202.
- Hano O., Lakatta E.G. Diminished tolerance of prehypertrophic, cardiomyopathic Syrian hamster hearts to Ca^{2+} stresses. *Circ. Res.* 1991; 69: 123-133.
- Harding S.E., Davia K., Davies C.H., del Monte F., Money-Kyrle A.R., Poole-Wilson P.A. From overload to failure : what happens inside the myocyte. *Ann. Med* 1998; 30(suppl 1): 14-23.
- He J., Ogden L.G., Bazzano L.A., Vupputuri S., Loria C., Whelton P.K. Risk factors for congestive heart failure in US men and women : NHANES I epidemiologic follow-up study. *Arch. Int. Med.* 2001; 161(7): 996-1002.

- Horn E.M., Bilezikian J.P. Mechanisms of abnormal Transmembrane signaling of the β -adrenergic receptor in congestive heart failure. *Circulation* 1990; 82(suppl I): I-26–I-34.
- Hunter E.G., Elbrink J. Increased contractility in vascular smooth muscle of dystrophic hamsters. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 1983; 61: 182-185.
- Hunter J.J., Chien K.R. Signaling pathways for cardiac hypertrophy and failure. *New Engl. J. Med.* 1999; 341(17): 1276-1283.
- Jasmin G., Proschek L. Hereditary polymyopathy and cardiomyopathy in the Syrian hamster I. Progression of heart and skeletal muscle lesions in the UM-X7.1 line. *Muscle & Nerve* 1982; 5: 20-25.
- Joseph J., Gilbert E.M. The sympathetic nervous system in chronic heart failure. *Prog. Cardiovasc. Dis.* 1998; 41(1, suppl.1): 9-16.
- Kagiya T., Hori M., Iwakura K., Iwai K., Watanabe Y., Uchida S., Yoshida H., Kitabatake A., Inoue M., Kamada . Role of increased α_1 -adrenergic activity in cardiomyopathic Syrian hamster. *Am. J. Physiol.* 1991; 260: H80-H88.
- Karmazyn M., Leung C.K.H., Dhalla N.S. Prostaglandin actions and interactions on isolated perfused rat hearts. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 1979; 57: 1275-1282.

- Kaura D., Takeda N., Sethi R., Wang X., Nagano M., Dhalla N.S.
 β -adrenoceptor mediated signal transduction in congestive heart failure in cardiomyopathic (UM-X7.1) hamsters. *Mol. Cell. Biochem.* 1996; 157: 191-196.
- Kawaguchi H., Shoki M., Sano H., Kudo T., Sawa H., Okamoto H., Sakata Y., Yasuda H. Phospholipid metabolism in cardiomyopathic hamster heart cells. *Circ. Res.* 1991; 69: 1015-1021.
- Kondo K., Okuno T., Suzuki H., Nakamura R., Eguchi T., Yasui T., Nagahama S., Saruta T. Effects of prostaglandins E₂ and I₂, arachidonic acid and indomethacin on vascular reactivity to norepinephrine in the rat. *Jap. Circ. J.* 1980; 44: 384-387.
- Leier C.V., Binkley P.F., Cody R.J. α -adrenergic component of the sympathetic nervous system in congestive heart failure. *Circulation* 1990; 82(suppl I): I-68-I-76.
- Lo Giudice P., Gagnol J.P., Bellucci A., Buffone G., Careddu A., Magni G., Quagliata T., Pacifici L., Carminati P. Autonomic nervous system activity imbalance in cardiomyopathic hamster. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 2000; 36: 369-375.
- Main J.S. Forster C. Armstrong P.W. Inhibitory role of the coronary arterial endothelium to α -adrenergic stimulation in experimental heart failure. *Circ. Res.* 1991; 68: 940-946.
- Malhotra A. Regulatory proteins in hamster cardiomyopathy. *Circ. Res.* 1990; 66: 1302-1309.
- Mann D.L. Basic mechanisms of disease progression in the failing heart: the role of excessive adrenergic drive. *Prog. Cardiovasc. Dis.* 1998; 41(1, suppl 1): 1-8.

- Nakamura Y., Ryoike T., Tanaka N., Ohkusa T., Matsuzaki M.
Celiprolol, a β -adrenocpetor antagonist with vasodilator effect, improves hemodynamic response to catecholamine, spontaneous locomotor activity, and survival in cardiomyopathic hamsters with advanced heart failure. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1998; 31: 171-178.
- Okada T. Hypoxia-induced change in prostanoids production and coronary flow in isolated rat heart. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 1991; 23: 939-948.
- Okamoto H. Kawaguchi H., Sano H., Kageyama K., Kudo T., Koyama T., Kitabatake A. Microdynamics of the phospholipid bilayer in cardiomyopathic hamster heart cell membrane. *J. Mol. Cell. Cardio.* 1994; 26: 21-218.
- Packer M. Role of the sympathetic nervous system in chronic heart failure. A historical and philosophical perspective. *Circulation* 1990; 82(suppl I): I-1-I-6
- Pavoine C., Magne S., Sauvadet A., Pecker F. Evidence for a β_2 -adrenergic/arachidonic acid pathway in ventricular cardiomyocytes. *J. Biol. Chem.* 1999; 274(2): 628-637.
- Roberds S.I., Ervasti J.M., Anderson R.D., Ohlendieck K., Kahl S.D., Zoloto D., Campbell K.P. Disruption of the dystrophin glycoprotein complex in the cardiomyopathic hamster. *J. Biol. Chem.* 1993; 268(16): 11496-11499.
- Rouleau J.L., Chuck L.H.S., Hollosi G., Kidd P., Sievers R.E., Wikman-Coffelt J., Parmley W.W. Verapamil preserves myocardial contractility in the hereditary cardiomyopathy of the Syrian hamster. *Circ. Res.* 1982; 50: 405-412.

- Ruan Y., Kan H., Parmentier J.H., Fatima S., Allen L.F., Malik K.U. Alpha-1A adrenergic receptor stimulation with phenylephrine promotes arachidonic acid release by activation of phospholipase D in rat-1 fibroblasts : inhibition by protein kinase A. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1998; 284: 576-585.
- Rubanyi G.M, Paul R.J. Modulation of beta adrenergic responsiveness by arachidonic acid metabolites in isolated bovine coronary arteries. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1985; 234(3): 555-560.
- Ruffolo R.R., Feuerstein G.Z. Neurohormonal activation, oxygen free radicals, and apoptosis in the pathogenesis of congestive heart failure. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1998; 32(suppl 1): S22-S30.
- Sakamoto A. Ono K., Abi M., Jasmin G., Eki T., Murakami Y., Masaki T., Toyo-Oka T., Hanaoka F. Both hypertrophic and dilated cardiomyopathies are caused by mutation of the same gene, δ -sarcoglycan, in hamster : an animal model of disrupted dystrophin-associated glycoprotein complex. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1997; 94: 13873-13878.
- Sato A., Hattori Y., Fukao M., Kanno M., Sakuma I., Kitabatake A. A role of myofilament Ca^{2+} sensitivity in enhanced vascular reactivity in cardiomyopathic hamsters. *Eur. J. Pharmacol.* 1998; 353: 247-256.
- Schmitz W., Boknik P., Linck B., Müller F.U. Adrenergic and muscarinic receptor regulation and therapeutic implications in heart failure. *Mol. Cell. Biochem.* 1996; 157: 251-258.

- Schrör K., Hohlfeld Th. Inotropic actions of eicosanoids. *Basic Res. Cardiol.* 1992; 87: 2-11.
- Sethi R, Bector N., Takeda N., Nagano M., Jasmin G., Dhalla N.S. Alterations in G-proteins in congestive heart failure in cardiomyopathic (UM-X7.1) hamsters. *Mol. Cell. Biochem.* 1994; 140: 163-170.
- Shaffer J.E., Malik K.U. Enhancement of prostaglandin output during activation of beta-1 adrenoceptors in the isolated rabbit heart. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1982; 223(3): 729-735.
- Sharpe N. Heart failure in the community. *Prog. Cardiovasc. Dis.* 1998; 41(1 suppl. 1): 73-76.
- Smith C.J., Sun D., Hoegler C., Roth B.S., Zhang X., Zhao G., Xu X.B., Kobari Y., Pritchard K., Sessa W.C., Hintze T.H. Reduced gene expression of vascular endothelial NO synthase and cyclooxygenase-1 in heart failure. *Circ. Res.* 1996; 78: 58-64.
- Smith G.C.S., McGrath J.C. Indomethacin, but not oxygen tension, affects the sensitivity of isolated neonatal rabbit ductus arteriosus, but not aorta, to noradrenaline. *Cardiovasc. Res.* 1988; 22: 910-915.
- Statistiques Canada. Site Web w3.statcan.ca 1999.
- Steinfath M., Danielsen W., von der Leyen H., Mende U., Meyer W., Neumann J., Nose M., Reich T., Schmitz W., Scholz H., Starbatty J., Stein B., Döring V., Kalmar P., Haverich A. Reduced α_1 - and β_2 -adrenoceptor-mediated positive inotropic effects in human end-stage heart failure. *Br. J. Pharmacol.* 1992; 105: 463-469.

- Takahashi M., Shichiri G., Amano m., Kanamori T., Kinoshita M.
Increased uncoupling of β -, β_1 - and β_2 -adrenoceptor to myocardial contraction in failing human myocardium. *Jap. Circ. J.* 1992; 56: 701-709.
- Tanguay M., Jasmin G., Blaise G., Dumont L. Impaired coronary sensitivity to diltiazem in experimental heart failure : involvement of the cyclooxygenase but not the nitric oxide-synthase pathway. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1996; 28(2): 232-239.
- Terzic A., Puc at M., Vassort G., Vogel S.M. Cardiac α_1 -Adrenoceptors : an overview. *Pharmacol. Rev.* 1993; 45(2): 147-175.
- Trimarco B., Cuocolo A., Ricciardelli B., Patrignani P., Volpe M., De Luca N., Condorelli M. Effects of prostaglandin synthesis inhibition on sympathetic- and parasympathetic-mediated coronary hemodynamic responses. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1986; 237(2): 589-599.
- Vane J.R., Botting R.M. New insights into the mode of action of anti-inflammatory drugs. *Inflamm. Res.* 1995; 44 : 1-10.
- Van Zwieten P.A. Current and newer approaches in the drug treatment of congestive heart failure. *Cardiovasc. Drugs Ther.* 1996; 10 : 693-702.
- Vecchini A., Binaglia L., Di Nardo P., Minieri M., Panagia V., Dhalla N.S. Altered lipid metabolism in the failing heart of cardiomyopathic hamsters (UM-X7.1). *Prostaglandins, leukotriens and essential fatty acids* 1995; 52: 199-203.

- Véronneau M., Tanguay M., Fontaine E., Jasmin G., Dumont L.
Reactivity to endothelium-dependent and -independent vasoactive substances is maintained in coronary resistance vessels of the failing hamster heart. *Cardiovasc. Res.* 1997; 33: 623-630.
- Viau S., Fontaine E., Véronneau M., Jasmin G., Dumont L.
Myocardial reactive hyperemia in experimental chronic heart failure : evidence for the role of K⁺ adenosine triphosphate-dependent channels and cyclooxygenase activity. *J. Cardiac Failure* 1997; 3(3): 207-215.
- Wang J., Liu X., Arneja A.S., Dhalla N.S. Alterations in protein Kinase A and protein kinase C levels in heart failure due to genetic cardiomyopathy. *Can. J. Cardiol.* 1999; 15(6): 683-690.
- Watanabe K., Shibata A., Wakabayashi H., Shimada K., Sasaki K., Nagatomo T. Cardiomyopathic hamster hearts : long-term effects of drugs on catecholamine contents and binding characteristics of α_1 - and β_1 -adrenergic receptors. 1993; 16(7): 660-663.
- Wong S.C.Y., Fikuchi M., Melnyk P., Rodger I., Giaid A.
Induction of cyclooxygenase-2 and activation of nuclear factor- κ B in myocardium of patients with congestive heart failure. *Circulation* 1998; 98: 100-103.
- Wu K.K. Cyclooxygenase-2 induction in congestive heart failure : friend or foe ? *Circulation* 1998; 98: 95-96.

Xu B., Li J., Gao L., Ferro A. Nitric oxide-dependent vasodilatation of rabbit femoral artery by β_2 -adrenergic stimulation or cyclic AMP elevation in vivo. Br. J. Pharmacol. 2000; 129 : 969-974.