

Université de Montréal

**Caractérisation de l'insuffisance cardiaque
chronique chez le rat induite par l'infarctus du
myocarde et l'implication du traitement avec les
antagonistes de l'endothéline**

par

Quang Trinh Nguyen

Département de Physiologie

Faculté de Médecine

Thèse présentée à la Faculté des études supérieures
en vue de l'obtention du grade de Philosophiæ Doctor (Ph.D.)
en physiologie

© Quang Trinh Nguyen, 2000



Université de Montréal

Faculté de Médecine

Cette thèse intitulée :

Caractérisation de l'insuffisance cardiaque chronique chez le rat induite par
l'infarctus du myocarde et l'implication du traitement avec les antagonistes de
l'endothéline

présentée par :

Quang Trinh Nguyen

a été évaluée par un jury composé des personnes suivantes :

Angéline Calderone

Jean Lucien Rouleau

Normand Leblanc

Pedro D'orléans-Juste

Réjean Couture

Thèse acceptée le :

Sommaire

Dans le modèle de l'infarctus du myocarde aiguë chez le rat, il a été démontré que le traitement tardif avec un antagoniste sélectif du récepteur ET_A de l'endothéline améliore le remodelage et la fonction ventriculaire ainsi que la survie. De plus, l'hypertension pulmonaire secondaire à l'infarctus du myocarde est améliorée par le traitement chronique avec un antagoniste ET_A de l'endothéline; par contre, son mécanisme d'action est encore inconnu. L'objectif de ce travail est de déterminer l'effet d'un traitement précoce avec un antagoniste sélectif du récepteur ET_A de l'endothéline sur la fonction et le remodelage cardiaque. De plus, nous voulons déterminer les mécanismes responsables de l'hypertension pulmonaire secondaire à l'infarctus du myocarde et vérifier le rôle du récepteur ET_A de l'endothéline dans ces mécanismes.

Plusieurs facteurs influencent les phénomènes de remodelage, la taille de l'infarctus du myocarde, la perméabilité artérielle, la contrainte pariétale et la qualité du processus de cicatrisation. Les interventions modifiant ces facteurs peuvent influencer le phénomène de remodelage. Nos résultats montrent que l'utilisation précoce avec un antagoniste ET_A de l'endothéline chez le rat post-infarctus mène à l'altération de la formation de la cicatrice, à l'expansion de la zone infarctée, à la dilatation du ventricule gauche et au dysfonctionnement ventriculaire. Ceci est accompagné par une diminution de l'hypertension pulmonaire secondaire à l'infarctus du myocarde, comme reflétée par la diminution significative de la

pression systolique du ventricule droit et d'une diminution des niveaux élevés de l'ET-1 pulmonaire mais non cardiaque.

Le remodelage vasculaire pulmonaire et la plus grande expression des protéines de la matrice extracellulaire représentent les mécanismes fondamentaux impliqués dans le développement de l'hypertension pulmonaire chez le rat post-infarctus. En dépit de l'amélioration de l'hypertension pulmonaire, nos résultats montrent que le blocage du récepteur ET_A est insuffisant pour renverser le remodelage vasculaire pulmonaire ou le développement de la fibrose pulmonaire chez le rat avec l'infarctus du myocarde.

Nous concluons que l'utilisation précoce de l'antagoniste ET_A de l'endothéline chez le rat post-infarctus peut être nuisible pour le remodelage du ventricule gauche. Par contre, son utilisation pourrait devenir un nouveau traitement pour prévenir l'hypertension pulmonaire secondaire à l'infarctus du myocarde.

Remerciements

Je profite de l'occasion qui s'offre à moi pour exprimer ma sincère reconnaissance et mes respects au D^r Jean Lucien Rouleau et au D^r Angelino Calderone pour leur direction de doctorat bien menée. Leur rigueur scientifique, leur ouverture d'esprit et leur confiance qu'ils m'ont témoignés ont su créer l'environnement nécessaire à la réalisation et au succès de ce programme de recherche.

Un remerciement s'adresse également au D^r Peter Cernacek pour sa patience et sa disponibilité exemplaire lors des innombrables discussions et débats autour des résultats et manuscrits qui ont fait l'objet de cette thèse.

J'aimerais exprimer ma gratitude à Hugues Gosselin, Robert Clément, Luc Moquin et mes collègues Ying Tung Sia et Federico Colombo pour leur aide technique.

Rien de cela n'aurait pu se faire sans mes parents, cette thèse est pour Vous. Malgré la grande distance qui nous a séparé, vous êtes toujours restés avec moi, me guidant par vos prières et me rassurant par votre confiance sans borne. Papa, ta persévérance m'a servi d'exemple dans les moments difficiles, tu resteras toujours un modèle pour ma vie. Maman, ton amour m'a éclairé le chemin dans les périodes sombres.

Un grand merci à mes frères Toản, Hoàn, Hung, Ngọc, mes sœurs Loan, Lan, Cúc, ainsi que mes beaux-frères et mes belles-sœurs, parce que vous êtes toujours là pour moi à n'importe quel moment. Je me considère chanceux d'avoir été entouré par une belle-famille qui s'aime et qui est toujours prête à se sacrifier pour chaque membre de la famille. Je pense particulièrement à mon frère Hung, sans toi je ne serais pas comme je suis aujourd'hui.

Un grand merci s'impose à mes deux toutes petites, Stéphanie et Emily. Vous êtes la cause de ma joie, la raison de ma vie. Vous me faites respirer, vivre, rire et rester jeune. Voici le fruit des nuits que Papa a passés à l'Université, il vous appartient. A Alexandre qui viendra au monde cet été, que de belles choses t'attendent dans une famille remplie d'amour.

Quoi dire enfin à Phuong ? Un merci n'est rien qu'une goutte dans la mer des sacrifices que tu as faits pour moi. Tu as su rendre ma vie agréable lorsqu'elle semblait amère. Tu t'es occupée seule de Stéphanie et Emily, quand il fallait que je sois présent. Tu m'as compris sans que je te dise un mot aux moments où je pensais que personne ne me comprenait peu importe combien j'expliquais. J'espère pouvoir un jour te remercier pour ton support constant, pour les longues heures passées seules, pour ta compréhension inégalée, enfin pour tout.

Les mots sont insuffisants pour décrire tous les sacrifices et l'amour que ma belle-mère m'a réservé. Je pense aussi à ma belle-sœur Kinh. Un merci sincère de tout mon cœur à vous deux et tous les membres de la famille.

Que soient aussi remerciées les secrétaires du centre de recherche de l'Institut de Cardiologie de Montréal, particulièrement madame Caroline Gillis. Elles m'ont rendu beaucoup de services sans y être obligées. Pour les bourses dont j'ai pu bénéficier, j'aimerais dire toute ma gratitude au centre de recherche de l'Institut de Cardiologie de Montréal et à la Faculté des études supérieures de l'Université de Montréal.

Un très grand merci à mon ami Martin Tremblay pour sa disponibilité, son amitié et ses encouragements surtout lors de la rédaction de cette thèse.

Công cha như núi thái sơn

Nghiã mẹ như nước trong nguồn chảy ra

Một lòng thờ mẹ kính cha

Cho tròn chữ hiếu nghiã là đạo con

À mes parents, pour leur amour et leur soutien autant terrestre que céleste et pour leur dévouement à l'éducation.

Table des matières

SOMMAIRE	I
REMERCIEMENTS	III
LISTE DES FIGURES	IX
LISTE DES TABLEAUX	XI
LISTE DES ABRÉVIATIONS	XII
CHAPITRE 1	1
I. Introduction	1
I.1 Qu'est-ce que l'insuffisance cardiaque ?	1
I.2 Prévalence	1
I.3 Classification.....	2
I.4 Pronostic.....	3
II. Physiopathologie de l'insuffisance cardiaque	4
II.1. Facteurs mécaniques agissant sur l'insuffisance cardiaque	5
III. Remodelage ventriculaire	8
III.1. Expansion de la zone nécrosée.....	9
III.2 Dilatation de la zone non nécrosée	12
IV Facteurs influençant le remodelage ventriculaire	14
IV.1 Taille de l'infarctus du myocarde	14
IV.2 Perméabilité artérielle : l'hypothèse de l'artère ouverte	16
IV.3 Les modifications de la postcharge	17
IV.4 Interventions pharmacologiques sur le processus de cicatrisation.....	18
IV.5 Hypertrophie ventriculaire	19
IV.6 Hypertension et œdème pulmonaire secondaire à l'insuffisance cardiaque	27
V. Hypothèse neurohormonale	31
V.1 Le système rénine-angiotensine-aldostérone	33
V.2 Le système nerveux sympathique	36
V.3 Les peptides natriurétiques.....	40
VI Théorie inflammatoire dans l'insuffisance cardiaque	43

	vii
VII L'endothéline dans l'insuffisance cardiaque	46
VII.2 Effets physiologique	56
VII.3 Endothéline-1 et pathologie cardio-vasculaire.....	58
 CHAPITRE 2	 1
I. Phénomène de cicatrisation de la zone infarctée après infarctus du myocarde.....	70
II. Endothelin-A Receptor Blockade Causes Adverse Left Ventricular Remodelling but Improves Pulmonary Artery Pressure Postinfarction in the Rat.....	72
 CHAPITRE 3	 103
I L'hypertension et la fibrose pulmonaire secondaire à l'infarctus du myocarde.....	103
II. LU135252, an endothelin_A receptor antagonist did not prevent pulmonary vascular remodeling or lung fibrosis in a rat model of myocardial infarction.....	105
 CHAPITRE 4	 131
I Caractérisation du modèle infarctus du myocarde chez le rat	131
I.1 Préparation du modèle d'infarctus chez le rat.....	131
I.2 Les avantages et limitations du modèle d'infarctus du myocarde chez le rat	134
I.3 Le remodelage du ventricule gauche après l'infarctus du myocarde.....	137
I.5 L'activation neurohormonale	142
I.6 Expression des gènes	143
 CHAPITRE 5	 144
I. Discussion.....	144
I.1 Le traitement de l'insuffisance cardiaque par les antagonistes de l'endothéline.....	144
I.2 Les mécanismes expliquant les effets bénéfiques de l'antagoniste de l'endothéline dans l'IC	147
I.3 Processus de cicatrisation après l'infarctus du myocarde.....	152
I.4 Rôle de l'endothéline dans le processus de cicatrisation post infarctus ...	157
I.5 Blocage sélectif ET _A versus non-sélectif ET _A /ET _B post IM : résultats préliminaires.....	168

	viii
I.6 Les précisions sur l'étude de remodelage ventriculaire avec le LU 135252.....	172
CHAPITRE 6	1
I. Conclusions générales	183
BIBLIOGRAPHIE	186

Liste des figures

Chapitre 1

Figure 1.	Facteurs mécaniques agissant sur l'insuffisance cardiaque.....	7
Figure 2.	La séquence des phénomènes de remodelage cardiaque	8 a
Figure 3.	L'homéostasie régnant entre les processus de synthèse des facteurs endothéliaux vasodilatateurs et constricteurs	30 a
Figure 4.	Mécanismes neurohormonaux agissant sur l'insuffisance cardiaque. 32 a	
Figure 5.	La synthèse et l'action de l'angiotensine II	34
Figure 6.	L'activation sympathique suite au dommage myocardique	38
Figure 7.	Schéma représentant la synthèse de l'endothéline-1 et sa modulation au niveau de la cellule endothéliale.....	49 a
Figure 8.	Représentation simplifiée de la production et du mécanisme d'action de l'endothéline-1 sur la paroi vasculaire.....	52

Chapitre 2

Figure 1.	Flow diagram of the various groups of rats according to myocardial infarction size and treatment group	91
Figure 2.	Comparison between survival of rats with large myocardial infarction treated with saline and LU.....	92
Figure 3.	The left ventricular pressure-volume relations according to myocardial infarction size and treatment group	93
Figure 4.	Representative preproET-1 and β -actin bands from viable left ventricle from hearts of saline-treated rats with no myocardial infarction (MI) (control) and large MI. PreproET-1 is much greater in hearts with large MI	94

- Figure 5. Prepro ANP mRNA expression and plasma angiotensin II levels. Prepro ANP increased in all large myocardial infarction (MI) groups. * $P < .05$ versus sham to small MI. RV=right ventricle and LV=left ventricle 95
- Figure 6. Sections of noninfarcted myocardium from sham-operated (panels A and C) and large myocardial infarction (MI) (panels B, D, E and F). ET-1 immunoreactivity (brown staining) is markedly increased in MI (panels B and D, H200) compared with sham-operated controls (A and C, H200). Panel E shows enhanced ET-1 immunoreactivity in myocardium of MI at higher magnification (H400). Panel F represents a negative control 96

Chapitre 3

- Figure 1. A northern hybridization depicting changes in the steady-state mRNA levels of prepro-collagen α_1 , fibronectin, transforming growth factor- β_1 (TGF- β_1), and TGF- β_3 in the total RNA isolated from rat lungs. 127

Chapitre 4

- Figure 1. Exemples du coeur normal (A) et avec infarctus du myocarde (B) chez le rat 3 mois post IM..... 139

Chapitre 5

- Figure 1. Mécanismes expliquant les effets bénéfiques de l'antagoniste de l'endothéline dans l'insuffisance cardiaque 151 a
- Figure 2. Concept hypothétique impliquant l'endothéline dans la réparation tissulaire post infarctus du myocarde 167 a

Liste des tableaux

Chapitre 1

Tableau 1.	Caractéristiques des récepteurs des endothélines	53
------------	--	----

Chapitre 2

Table 1.	Hemodynamic Parameters 4 Weeks Postinfarction During Therapy.....	97
Table 2.	Morphology Parameters of the Heart at Time of Induced Death	98
Table 3.	Morphologic Characteristics of Mid Left Ventricular Cross-sections.....	99
Table 4.	Plasma and Tissue Endothelin-1	100

Chapitre 3

Table 1.	Morphology Parameters of heart of the Myocardial infarction Rats	128
Table 2.	Hemodynamic Parameters 4 weeks after Infarction During therapy.....	129
Table 3.	Effects of LU 135252 on Myocardial Infarction-induced morphometric changes in Pulmonary arteries	130

Liste des abréviations

α MHC	Isoforme alpha de la chaîne lourde de la myosine.
β MHC	Isoforme bêta de la chaîne lourde de la myosine.
$\pm dP/dt$	Indice de contraction (+) et relaxation (-) ventriculaire
ACE	Enzyme de conversion de l'angiotensine-1
ANP	Facteur ou peptide natriurétique de l'oreillette
ARNm	Acide ribonucléique messager
AT _I	Récepteur AT _I de l'angiotensine
AT _{II}	Angiotensine II
BEST	"beta-blocker Evaluation Survival Trial"
BNP	Peptide natriurétique du cerveau
CIBIS	"Cardiac Insufficiency Bisoprolol Study"
EC	Cellule endothéliale
ECE	Enzyme de conversion de l'endothéline
EDHF	Facteur endothélial hyperpolarisant
ELITE	"Evaluation of Losartan in the Elderly"
ENOS	"NO synthase endothéliale"
ET-1	Endothéline-1
ET _A	Récepteur ET _A de l'endothéline
ET _B	Récepteur ET _B de l'endothéline
FABP	Protéine de liaison d'acide gras
FGFs	Facteurs de croissance des fibroblastes
GMPc	Guanosine-monophosphate cyclique
IC	Insuffisance cardiaque
IGFs	Facteurs de croissance d'insuline
IL-6	Interleukin 6
IM	Infarctus du myocarde
LVEDP	Pression de remplissage du ventricule gauche
MERIT	"Metoprolol controlled and Extended release, Randomised Intervention Trial in congestive Heart Failure"
MMP	Matrice métalloprotéinase
NO	Monoxyde d'azote
NYHA	Association du cœur de New York
PDGF	Facteurs de croissance dérivés des plaquettes
PGI ₂	Prostacycline
PMN	Cellules polymorphonucléaires
ppET-1	preendothelin-1
RAAS	Système rénine-angiotensine-aldostérone
REACH-1	"Research on Endothelin Antagonism in Chronic Heart Failure"
TGFs	Facteurs de croissance de la transformation
TIMP	Inhibiteurs tissulaires de métalloprotéinase
TNF α	Facteur α de nécrose de tumeur

VEGFs	Facteurs de croissance des cellules endothéliales vasculaires
VSMC	Cellule vasculaire du muscle lisse en culture

Chapitre 1

I. Introduction

I.1 Qu'est-ce que l'insuffisance cardiaque ?

On entend par insuffisance cardiaque (IC) l'incapacité du système cardio-vasculaire à fournir un apport suffisant en oxygène et en substrats pour maintenir le métabolisme normal de l'organisme. Il s'agit d'un déséquilibre entre le débit cardiaque et l'ensemble des besoins de l'organisme.

La plupart du temps, ce déséquilibre est causé par des affections du système cardio-vasculaire, notamment : les affections du système vasculaire périphérique telles que l'hypertension artérielle; les affections du myocarde telles que la myocardite, la cardiomyopathie ou l'ischémie myocardique (Braunwald, 1981).

Une anomalie primaire affectant n'importe lequel des quatre principaux facteurs déterminants du débit cardiaque, soit la contractilité myocardique; la précharge volumique (le volume de sang pénétrant dans les ventricules durant la diastole); la postcharge (le travail que la cavité doit accomplir pour surmonter la résistance à l'expulsion du sang); la fréquence et le rythme cardiaque peuvent entraîner un débit cardiaque inadéquat (Kloner and Braunwald, 1980; Braunwald, 1981; Fletcher et al, 1981). Dans l'IC déclarée, il arrive fréquemment que plusieurs de ces déterminants présentent des anomalies.

I.2 Prévalence

La prévalence de l'IC augmente avec l'âge. Les études épidémiologiques menées aux États-Unis semblent indiquer que 1% de la population souffre déjà d'IC et que

chaque année la maladie apparaît chez 0.4% de la population (Rector et Cohn, 1994). En outre, chaque année, jusqu'à 0.2% de la population doit être hospitalisée pour un diagnostic ou un traitement (Parmley, 1999).

I.3 Classification

Les patients souffrant d'IC se divisent en deux grands groupes : les 75% qui présentent une dysfonction systolique et les 25% qui souffrent d'une dysfonction diastolique (Grossman, 1991).

I.3.1 Dysfonction systolique

Les patients souffrant de dysfonction systolique présentent une dilatation des cavités cardiaques ainsi qu'une diminution de la contraction systolique. Les facteurs le plus souvent en cause dans la dysfonction systolique comprennent : 1) une surcharge de pression chronique; 2) une surcharge volumique de longue date; 3) une perte myocardique; et 4) une diminution de la contractilité myocardique provoquée par la maladie (Braunwald, 1981; Borow et al, 1988).

I.3.2 Dysfonction diastolique

La dysfonction diastolique se caractérise par une non-compliance ventriculaire accompagnée d'un retard de la relaxation (Tardif et Rouleau, 1996; Mandinov et al, 2000). Ce phénomène entraîne une élévation marquée de la pression auriculaire et une hausse de la fréquence cardiaque (Yellin et al, 1990). Les patients souffrant de dysfonction diastolique présentent des cavités cardiaques de petite taille et une relaxation diastolique du myocarde anormale (Little et Downes, 1990). L'élévation anormale et chronique de la postcharge est souvent imputable à l'hypertension

artérielle. La dysfonction diastolique est fréquemment observée en présence de cardiopathie hypertensive et de cardiomyopathie hypertrophique (Antherton et al, 1997).

I.4 Pronostic

Le pronostic est directement lié à la gravité clinique. Cette relation est bien illustrée par la classification de l'IC établie par la New York Heart Association (Mc Kee et al, 1971). Les patients asymptomatiques pendant une activité habituelle mais présentant des signes d'atteinte cardio-vasculaire et un débit cardiaque limité à l'effort extrême souffrent d'une IC de classe I; ils ont le pronostic le plus favorable. Les patients présentant une atteinte cardio-vasculaire très grave, qui manifestent des symptômes même au repos, souffrent d'une IC de classe IV et ont le pronostic le plus sombre.

Le taux global de mortalité à 2 ans pour les hommes et les femmes souffrant d'IC se situe entre 20 et 30%. Ce taux est beaucoup plus élevé lorsque l'IC est à un stade avancé; chez les patients souffrant d'une IC de classe IV, elle est de presque 75%.

L'augmentation de la taille du cœur et la réduction de la fraction d'éjection déterminent un pronostic médiocre chez les patients présentant une dysfonction systolique (Chin et Goldman, 1997). Les marqueurs d'un mauvais pronostic en présence de dysfonction diastolique sont une augmentation de l'épaisseur pariétale et une pression veineuse élevée dans les lits veineux pulmonaires et systémiques (Harizi et al, 1988).

À mesure que l'IC évolue, les activations neurohormonales augmentent. On peut mesurer cette activation en présence d'IC et l'utiliser pour assigner un pronostic. Les indices de l'activation neurohormonale les plus couramment mesurés sont les taux de sodium sérique et de noradrénaline plasmatique (Cohn et al, 1984 ; Rector et al, 1987).

II. Physiopathologie de l'insuffisance cardiaque

À l'heure actuelle, la cardiopathie ischémique est la cause la plus courante de l'insuffisance cardiaque (Wenger et al, 1987, Gambassi et al, 1998). Cette affection comporte généralement une atteinte de la paroi ventriculaire gauche causée par l'infarctus du myocarde (Sutton et al, 2000). Toutefois, l'ischémie seule, qui touche une grande partie de la paroi ventriculaire gauche peut avoir un effet marqué sur la fonction systolique du cœur : une portion du myocarde cesse de se contracter et si ce segment est de bonne taille, une dysfonction systolique globale s'ensuit (Theroux, 2000).

Les autres causes importantes sont : 1) l'hypertension artérielle chronique chez les patients souffrant déjà d'IC, des augmentations faibles mais persistantes de la tension artérielle aggravent la maladie (Vaccarino et al, 2000); 2) une cardiomyopathie idiopathique (Manolio et al, 1992); 3) une myocardite virale (Roivainen et al, 2000); 4) une cardiopathie valvulaire et congénitale (Mahaff, 1999).

II.1. Facteurs mécaniques agissant sur l'insuffisance cardiaque

Les cellules myocardiques et leurs sarcomères contractiles s'adaptent aux changements du débit cardiaque et à la tension artérielle (Colucci, 1997; Cleland, 1999). La réaction initiale de ces changements est l'accroissement de la longueur des sarcomères pendant la diastole. Cette distension stimule la sensibilité au calcium des myofilaments et augmente la vitesse maximale de contraction (Braunwald, 1982; Hajjar et al, 2000). Cependant, avec le temps, d'autres mécanismes entrent en jeu. La nature de l'adaptation varie selon que le stress consiste en une surcharge volumique ou une surcharge de pression.

II.1.1. Surcharge volumique

Ce phénomène apparaît progressivement en réaction à l'augmentation du débit cardiaque. La surcharge volumique peut être physiologique, résultant d'un effort isotonique tel l'exercice (Spirito et al, 1994; Pelliccia et al, 1999) qui, avec le temps, mène à un cœur adapté normal mais plus gros. Dans cette situation, le volume diastolique ventriculaire est accru, mais le rapport du rayon interne avec l'épaisseur pariétale est constant. En dépit du grossissement du cœur, une structure et une fonction normales sont maintenues. Ce processus ressemblant à la croissance normale du cœur ne comporte aucun aspect négatif (Spirito et al, 1994; Pelliccia et al, 1999).

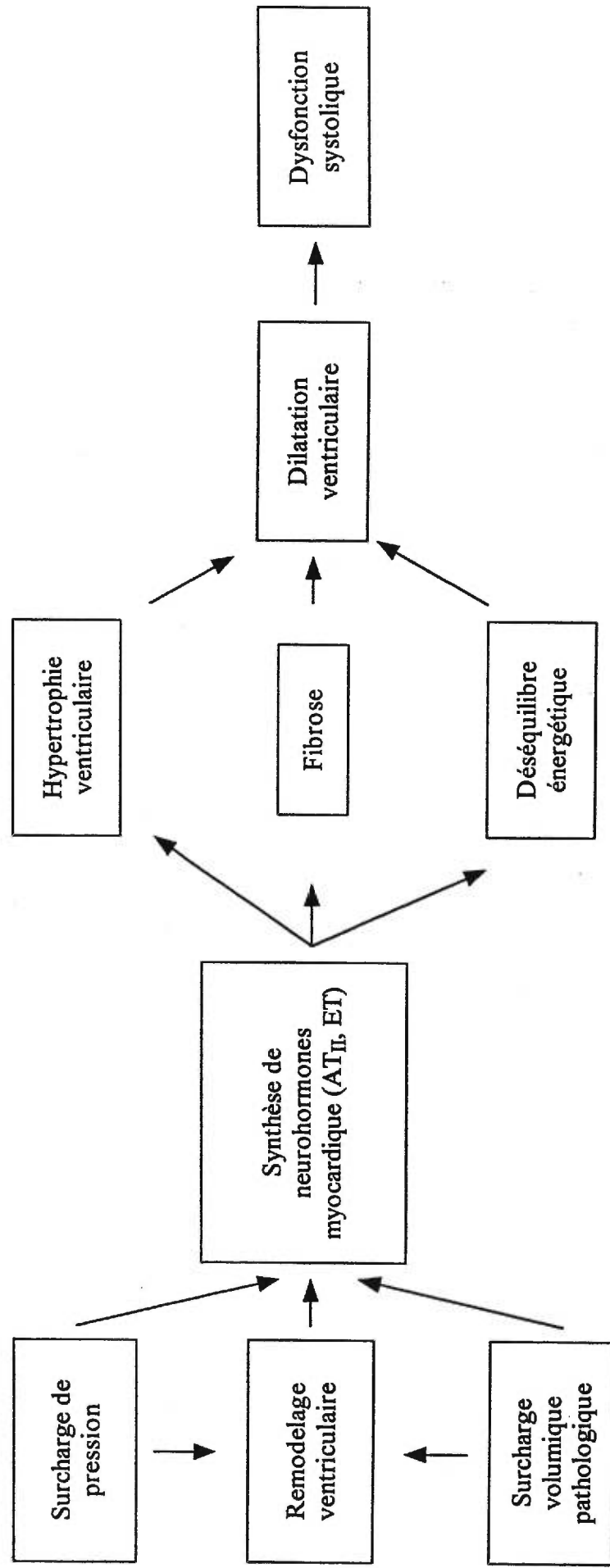
Dans d'autres cas tels que les insuffisances valvulaires, la surcharge volumique est constante et peut devenir pathologique. L'augmentation de la pression diastolique, la contrainte systolique et l'architecture anormale de la cavité

ventriculaire gauche provoquent une hypertrophie ventriculaire gauche excentrique et, avec le temps, l'IC (Corin et al, 1987; Conway et al, 1998; Lee et al, 2000).

II.1.2. Surcharge de pression

La surcharge de pression chronique, comme celle qui survient dans l'hypertension artérielle de longue date ou de sténose aortique, provoque une hypertrophie ventriculaire gauche concentrique pathologique (Nguyen et al, 1998; Neutel et al, 1999; Brooks et al, 2000). La fonction systolique demeure normale un certain temps alors que le ventricule gauche s'hypertrophie pour maintenir le débit cardiaque; cette réaction entraîne une augmentation de la contrainte pariétale et un accroissement de la consommation d'oxygène. Cependant, à mesure que le ventricule gauche continue de s'hypertrophier et que le déficit en énergie s'accroît, le myocarde devient incapable d'assurer un débit cardiaque efficace. C'est ainsi que peut apparaître la dysfonction systolique (Neutel et al, 1999).

La figure 1 illustre les interactions entre les facteurs mécaniques agissant sur l'insuffisance cardiaque.



avec la survenue à long terme d'anomalies myofibrillaires et de fibres interstitielles, source de défaillance cardiaque à long terme (Weber et Brilla, 1991; Weber et al, 1994). Ces phénomènes ont été confirmés en clinique humaine (Rouleau et al, 1996; Pfeffer et al, 1997; St John Sutton et al, 1997).

Globalement, les phénomènes de remodelage ventriculaire aboutissent à :

- une détérioration de la fonction systolique du ventricule gauche liée à l'hypertrophie très évoluée et à la réduction du potentiel contractile ;
- une détérioration de la fonction diastolique du ventricule gauche due à une diminution de la distensibilité ventriculaire en raison de la présence de tissu cicatriciel inextensible et d'hypertrophie ventriculaire gauche.

IV Facteurs influençant le remodelage ventriculaire

Le remodelage cardiaque est un processus complexe et multifactoriel. Plusieurs facteurs comme la taille de l'infarctus, la perméabilité artérielle, les modifications de la postcharge, le processus de cicatrisation et l'hypertrophie ventriculaire peuvent influencer les phénomènes de remodelage cardiaque.

IV.1 Taille de l'infarctus du myocarde

Le remodelage ventriculaire est d'autant plus intense si l'infarctus est plus étendu (Fletcher et al, 1981; Pfeffer et al, 1985). Il existe une relation directe entre le volume télésystolique et la taille de l'infarctus (Fletcher et al, 1981). Cela explique que le

remodelage ventriculaire est surtout causé par des infarctus antérieurs. Le remodelage est de plus faible intensité au cours de l'évolution de l'infarctus du myocarde inférieur (Pfeffer et Braunwald, 1990). Les déformations du ventricule sont plus fréquentes et plus importantes au niveau de la paroi apicale du ventricule gauche où le rayon de courbure du ventricule est plus élevé mais aussi, physiologiquement, la paroi plus fine. Enfin, il ne s'observe pratiquement pas dans les infarctus non transmuraux probablement en raison d'une épaisseur pariétale demeurant élevée. Il existe une relation directe entre l'épaisseur de la paroi et le nombre de fibres musculaires persistant en son sein (Weisman et al, 1988). En d'autres termes, plus la nécrose est complète, plus l'amincissement est grand, plus l'expansion est intense (Anversa et al, 1986; Weisman et al, 1988).

Inversement, la limitation de la taille de l'infarctus du myocarde par reperfusion précoce aboutit à la limitation des phénomènes de remodelage ventriculaire gauche. La plupart des études effectuées sur ce sujet l'ont confirmé (Markis et al, 1981; Schaer et al, 1987; Ross, 1989 ; Lamas et al, 1991; Steurer et al, 1996). La fraction d'éjection est plus élevée, les volumes ventriculaires, en particulier le volume télésystolique, sont plus faibles chez les malades soumis à un traitement thrombolytique (McKay et al, 1986; Ross et al, 1999).

La taille de l'infarctus du myocarde étant un des éléments majeurs de déterminisme du remodelage ventriculaire (Pfeffer et Braunwald, 1990), il semble évident que l'intervention pharmacologique la plus susceptible de limiter le

remodelage est la limitation de la taille de l'infarctus du myocarde par reperfusion précoce (Ross, 1989; Lamas et al, 1991; Steurer et al, 1996).

IV.2 Perméabilité artérielle : l'hypothèse de l'artère ouverte

Si la reperfusion précoce de l'artère responsable de l'infarctus est susceptible de limiter la taille de l'infarctus du myocarde et, le remodelage ventriculaire gauche, il semble également que la reperfusion artérielle intervenant dans des délais au-delà desquels un sauvetage myocardique peut être espéré, c'est-à-dire au-delà de la 6^e heure, puisse, elle aussi, limiter le remodelage ventriculaire (Warren et al, 1988; Marroquin and Lamas, 2000; Sadanandan and Hochman, 2000).

Des observations antérieures avaient montré que chez des malades souffrant d'infarctus du myocarde soumis à un traitement conventionnel, la fonction systolique du ventricule gauche et les volumes ventriculaires étaient plus altérés chez ceux dont l'artère était restée occluse par rapport à ceux dont l'artère s'était reperméabilisée tardivement (Theroux et al, 1976; Fishbein et al, 1980; Schroder et al, 1989). Dans une analyse rétrospective, les patients soumissent à un traitement thrombolytique et reperfusés tardivement ont la fonction ventriculaire gauche et les volumes ventriculaires moins altérés que chez les malades dont l'artère était demeurée occluse (Steg et al, 1998).

Ces phénomènes ont été confirmés expérimentalement par Hochman et collaborateurs qui ont démontré avec un modèle de ligature coronaire que la dilatation cavitaire après infarctus était moindre chez les animaux reperfusés au-delà

des délais susceptibles de procurer un sauvetage myocardique que chez les animaux non reperfusés, alors que la taille de l'infarctus était identique dans les deux groupes (Hochman et Choo, 1987).

Le mécanisme d'action de la reperfusion tardive sur le remodelage ventriculaire est imparfaitement connu (Yousef et Marber, 2000). On estime que la restauration même tardive d'un flux sanguin accélère le processus de cicatrisation, réduit les phénomènes ischémiques résiduels au sein ou à l'entour de la zone nécrosée, et sert d'armature à la zone infarctée (Marroquin et Lamas, 2000; Sadanandan et Hochman, 2000). La présence d'un flux collatéral aurait le même effet (Agati, 1999; Leclercp et al, 1999).

IV.3 Les modifications de la postcharge

Chez les hypertendus, les phénomènes de remodelage sont plus actifs et plus sévères que chez les normotendus (Pfeffer and Pfeffer, 1988; Zhu et al, 1997). Expérimentalement, l'intervention sur les conditions de charge a confirmé le caractère aggravant des médicaments vasoconstricteurs (Molstad and Abdelnoor, 1991; Jugdutt et al, 1996; Stump et al, 2000).

Inversement, la réduction des conditions de charge du ventricule gauche par des moyens pharmacodynamiques est susceptible de limiter les phénomènes de remodelage. L'utilisation des dérivés nitrés ou tout autre médicament susceptible de réduire la pression systémique et la résistance vasculaire sont susceptibles de prévenir ou de limiter les phénomènes de remodelage ventriculaire. Cela a été montré

chez le rat avec les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (Fletcher et al, 1981; Pfeffer et al, 1985; Braunwald and Pfeffer, 1991) et les dérivés nitrés (Ohlin et al, 1998; Charles et al, 1999). Les mêmes observations ont été faites avec les mêmes produits en clinique humaine (Rouleau et al, 1994; Rutherford et al, 1994; Pfeffer et al, 1997; Garratt et al, 1998).

IV.4 Interventions pharmacologiques sur le processus de cicatrisation

Les médicaments interférant avec le processus de cicatrisation peuvent avoir un effet néfaste sur le remodelage en limitant l'épaisseur de la zone nécrosée. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens en particulier l'indométhacine (Jugdutt et al, 1979; Hammerman et al, 1983; Hammerman et al, 1984; Jugdutt and Basualdo, 1989) et l'ibuprofène (Brown et al, 1983; Cannon et al, 1985) et plus récemment l'antagoniste B₂ (HOE 140) de la bradykinine (Frimm et al, 1996) sont capables de réduire l'épaisseur de la cicatrice fibreuse de la zone nécrosée chez des modèles animaux. En clinique humaine, l'indométhacine a été montrée capable d'amincir la paroi nécrosée et de favoriser la survenue de rupture pariétale et d'anévrisme ventriculaire. En clinique, cela pose le problème des interventions médicamenteuses durant la phase initiale de l'infarctus du myocarde, celles en particulier destinées à limiter la fréquence de la réocclusion secondaire après traitement thrombolytique. Comme les anti-inflammatoires non stéroïdiens sont également des antiplaquettaires puissants, certains d'entre eux ont été utilisés dans cette indication. Il serait à ce titre intéressant de vérifier dans les essais qui ont utilisé ce type d'anti-inflammatoires si des ruptures

pariétales ou des anévrismes ventriculaires furent observées plus fréquemment dans le groupe des patients traités.

IV.5 Hypertrophie ventriculaire

L'hypertrophie ventriculaire gauche est un des domaines de la recherche cardiovasculaire qui s'est développée le plus rapidement ces dernières années en raison du volume considérable d'informations issues des études sur la biochimie cellulaire et moléculaire ainsi que sur les travaux morphologiques, physiopathologiques et cliniques. Les grandes études épidémiologiques ont mis en évidence le rôle délétère de l'hypertrophie ventriculaire gauche qui conduit à terme vers l'insuffisance cardiaque congestive et qui est associée à un risque accru de mort subite (Pfeffer et al, 1992; Bolognese and Cerisano, 1999). Parallèlement, plusieurs investigations chez l'animal d'expérience et chez l'homme ont démontré que certaines interventions thérapeutiques pouvaient faire régresser l'hypertrophie ventriculaire gauche, du moins partiellement (Pfeffer and Braunwald, 1990; Pfeffer et al, 1992; Colucci, 1997).

La qualité de la réponse hypertrophique dépend de la nature du chargement imposé au cœur, et peut constituer l'hypertrophie concentrique (dans laquelle le ratio de l'épaisseur de la paroi sur le diamètre de la cavité du ventricule gauche augmente) ou l'hypertrophie excentrique (dans laquelle le ratio de l'épaisseur de la paroi et le diamètre de la cavité diminue) (Sutton and Sharpe, 2000). L'hypertrophie cardiaque a également été distinguée comme étant physiologique ou pathologique.

L'hypertrophie physiologique est considérée comme un processus bénin lequel se produit, par exemple, chez les athlètes, et qui n'a pas de conséquences néfastes sur la fonction ventriculaire menant à l'insuffisance cardiaque (Braun, 1994; Colan, 1997). En revanche, l'hypertrophie pathologique, par exemple, à la suite de l'hypertension, a finalement comme conséquence l'insuffisance ventriculaire (Weber et al, 1992; Weber and Brilla, 1993; Calderone et al, 1995).

Dans l'hypertrophie pathologique il y a un dépôt excessif de collagène interstitiel (Weber and Brilla, 1993). Ceci augmente la rigidité cardiaque, entravant de ce fait la relaxation diastolique et le remplissage, aussi bien que la contraction systolique du cœur chez l'homme et les modèles animaux (Weber, 1997). Beaucoup de facteurs peuvent être impliqués dans la régulation de la fourniture de l'oxygène au tissu. Le dépôt de collagène est un de ces facteurs. L'excès de collagène contribue à l'occlusion des vaisseaux coronaires, limitant de ce fait l'approvisionnement de l'oxygène et causant un balancement négatif d'énergie (Swynghedauw, 1999).

L'approvisionnement de l'oxygène peut également être limité par le développement inadéquat de l'approvisionnement vasculaire, c'est-à-dire une diminution de la densité capillaire, en association avec la réponse hypertrophique telle qu'observée dans l'hypertrophie pathologique (Cleutjens et al, 1999; Swynghedauw, 1999; Sun and Weber, 2000).

La variation dans la balance d'énergie par les processus qui se produisent dans l'interstitium cardiaque peut alors modifier le phénotype de myocyte, qui a été proposé pour commuter à un programme fœtal, comportant non seulement un

changement de l'isoforme de myosine rapide à une plus lente consommant moins d'énergie sous forme d'ATP, mais également un passage d'un métabolisme utilisant préférentiellement les lipides comme substrat à un métabolisme utilisant le glucose comme source principale d'énergie (Swynghedauw, 1999). De cette façon, toutes les composantes du muscle cardiaque contribuent au fonctionnement approprié du cœur.

IV.5.1 Changements morphologiques

La plus grande partie du volume du cœur de mammifère adulte normal est occupée par des myocytes et constitue le noyau de l'unité contractile du cœur. Les myocytes contiennent plusieurs protéines contractiles spécifiques qui se contractent de façon rythmique et coordonnée. Ils sont entourés par des capillaires, composés par les cellules endothéliales, et fournissent l'oxygène aux myocytes. Les capillaires entourent les myocytes en prenant une forme hexagonale qui optimise les distances de diffusion de l'oxygène (Cleutjens et al, 1999; Swynghedauw, 1999; Sun and Weber, 2000).

La principale structure squelettique du cœur est fournie par la matrice extracellulaire (Weber, 1997). Les protéines de la matrice extracellulaires, comme le collagène du type IV, sont présentes dans la membrane basale entourant le myocyte. D'autres types de collagène, tels les types I, III et VI de collagène, sont présents dans et autour des artères coronaires et dans l'interstitium. Dans un cœur normal adulte, les collagènes interstitiels composent 1-2% du volume du cœur. Des protéines de la matrice extracellulaire sont produites par les fibroblastes, qui sont également trouvés dans l'interstitium (Weber, 1997). Globalement, les myocytes, la matrice

extracellulaire et le phénomène de la vascularisation cardiaque sont les principaux déterminants du fonctionnement cardiaque. Une modification d'un ou de plusieurs de ces facteurs déterminants peut influencer le fonctionnement normal du cœur (Cleutjens et al, 1999; Sun and Weber, 2000).

L'hypertrophie ventriculaire gauche peut être observée dans une grande variété de situations cliniques. Physiologiquement, c'est le mécanisme normal par lequel la paroi des ventricules, et tout particulièrement celle du ventricule gauche, s'épaissit au cours de la croissance. Pendant les tous premiers mois de la vie, les cellules myocardiques se multiplient mais ce phénomène cesse rapidement, et ultérieurement l'accroissement du volume du cœur est dû à la seule augmentation du volume des myocytes existants. Chez le sujet âgé, il existe une augmentation de la masse ventriculaire gauche partiellement causée par l'hypertrophie mais aussi par un dépôt de collagène dans la paroi ventriculaire (Swynghedauw, 1999).

En physiopathologie humaine, on distingue schématiquement les hypertrophies ventriculaires gauches secondaires à une augmentation chronique de la tension pariétale en raison d'une surcharge de pression ou d'une surcharge de volume et les myocardiopathies hypertrophiques (Weber, 1997). L'hypertrophie concentrique secondaire aux surcharges mécaniques chroniques (hypertension artérielle, sténose aortique) est caractérisée par une prolifération des sarcomères en parallèle avec les sarcomères existants. L'augmentation de l'épaisseur de la paroi est due à une augmentation du diamètre des fibres. C'est un mécanisme compensatoire qui a pour but la normalisation de la tension pariétale systolique (Weber, 1997; Swynghedauw,

1999). Dans l'hypertrophie excentrique, on observe une élongation des fibres avec une augmentation des sarcomères en série avec les sarcomères existants (Weber, 1997; Swynghedauw, 1999). La cause la plus fréquente est représentée par les insuffisances valvulaires, aortiques ou mitrales, entraînant une régurgitation chronique responsable de la dilatation cavitaire. En application de la loi de Laplace, cette augmentation du volume ventriculaire gauche accroît la tension pariétale et, dans un but compensateur, il se développe une hypertrophie de la paroi (Buckberg, 1999).

Dans l'infarctus du myocarde, l'hypertrophie est due à la destruction d'une partie de la paroi myocardique. Les cellules cardiaques ne se divisent pas, elles démontrent néanmoins une croissance résultant en un volume cellulaire plus grand. Cette hypertrophie cellulaire compense en partie pour la perte nette des cellules cardiaques qui ont subi un endommagement irréversible. L'importance de cette hypertrophie dépend de l'étendue de l'infarctus initial (Fletcher et al, 1981; Pfeffer et al, 1985).

IV.5.2 Changements phénotypiques

L'expression des gènes change au cours de l'hypertrophie ventriculaire gauche. Ceci est dû aux deux principales protéines contractiles, myosine et actine, principales protéines intervenant dans la contraction, constituants essentiels des filaments épais et fins des sarcomères (Swynghedauw, 1999).

IV.5.2.1 Isomyosines

Le changement d'isoforme de la chaîne lourde de la myosine a été le premier exemple et le plus étudié d'une phénoconversion survenant en réponse à une surcharge de travail hémodynamique (Swynghedauw, 1999). Les filaments épais du sarcomère peuvent contenir deux isoformes différentes de la chaîne lourde de la myosine, α -MHC et β -MHC. Chez le rat, il a été démontré qu'une surcharge chronique de travail hémodynamique augmente l'isoforme β -MHC (l'isomyosine $\beta\beta$ ou V3) et une diminue l'isoforme α -MHC (l'isomyosine $\alpha\alpha$ ou V1) (Yoshiyama et al, 1997; Gidh-Jain et al, 1998). Les ventricules de rat contiennent normalement environ 90% de α -MHC. Par contre, elle est faible dans les ventricules humains qui sont à tous les stades de la vie essentiellement composés de β -MHC. Le changement de l'isoforme α -MHC en isoforme β -MHC résulte en une molécule de myosine hydrolysant plus lentement l'ATP, ce qui explique la plus faible vitesse de raccourcissement de la fibre cardiaque hypertrophiée et cela est généralement considéré comme avantageux car il permet de maintenir une tension normale à un coût énergétique moindre. Chez l'humain, un changement de la proportion de l'isoforme β aurait peu ou pas d'impact sur la performance mécanique du cœur puisqu'elle est déjà prédominante chez le cœur sain. Comme β -MHC est l'isoforme prédominante des ventricules de rats fœtaux, de là était venue l'idée d'une réexpression d'un phénotype fœtal dans l'hypertrophie cardiaque. β -MHC augmente également au cours du vieillissement (Swynghedauw, 1999) supportant l'hypothèse

selon laquelle la perte myocytaire qui survient dans les cœurs âgés produit une surcharge de travail sur les myocytes restants.

IV.5.2.2 Isoactines

La contraction est due à l'activation par l'actine de l'activité ATPasique de la myosine. Cette activation peut impliquer deux isoformes de l'actine, l'actine α -squelettique et l'actine α -cardiaque et les surcharges de travail hémodynamique modifient leur expression. L'actine α -squelettique n'est pas augmentée dans le cœur sénescant et l'homologie entre le cœur surchargé et le cœur sénescant est donc β -MHC élevée et actine α -squelettique basse (Yoshiyama et al, 1997; Gidh-Jain et al, 1998). Chez l'homme, et contrairement aux rongeurs, l'acide ribonucléique messager (ARNm) codant pour l'actine α -squelettique augmente au cours du développement normal et représente l'isoforme majoritaire du cœur adulte (Swynghedauw, 1999).

IV.5.2.3 Le facteur atrial natriurétique (ANP)

Concomitant avec les changements des gènes contractiles fœtaux, l'augmentation de l'expression d'ARNm codant pour l'ANP est associée avec l'hypertrophie ventriculaire (Nicholls et al, 1993; Mair et al, 1999). L'ANP n'est normalement sécrété que par les oreillettes. C'est le meilleur marqueur biologique de surcharge mécanique puisqu'il s'exprime dans les ventricules surchargés mécaniquement, même lorsque cette surcharge est de très courte durée (Nicholls et al, 1993). Le rôle physiologique de cette augmentation n'a pas été élucidé. Cependant, Calderone et al

ont récemment constaté que l'ANP et d'autres agents, favorisant l'augmentation de guanosine-monophosphate cyclique (GMPc), peuvent empêcher la croissance et moduler le phénotype des myocytes ventriculaires de rat néonatal en réponse à divers stimulus hypertrophiques (Calderone et al, 1998). Il est possible qu'une augmentation d'ANP ventriculaire soit un mécanisme de régulation qui module la réponse hypertrophique.

IV.5.3 Stades évolutifs de l'hypertrophie ventriculaire gauche

Le physiopathologiste Meerson (Meerson and Pshennikova, 1965) a décrit trois phases évolutives successives dans le développement de l'hypertrophie ventriculaire gauche secondaire à une surcharge mécanique modérée et chronique : une première phase d'hyperactivité cellulaire avec augmentation de la synthèse protéique et de l'ARN (en moins d'une heure) puis une phase, souvent très longue, d'hypertrophie compensatrice caractérisée par l'accroissement de la taille des myocytes et enfin une phase de défaillance ventriculaire se traduisant par les signes cliniques et les anomalies hémodynamiques caractéristiques de l'insuffisance cardiaque congestive.

La genèse de l'hypertrophie ventriculaire gauche est multifactorielle (Swynghedauw, 1999). Les modèles animaux et cliniques ont souligné l'importance de l'augmentation de pression et de volume mais également de la vitesse de cette augmentation et de sa durée (Pfeffer et Braunwald, 1990). Mais cette théorie mécanique est insuffisante et un peu simplificatrice pour expliquer la genèse de l'hypertrophie ventriculaire gauche, surtout pour l'hypertrophie de cause inconnue sans surcharge mécanique. D'autres facteurs ont donc été incriminés tels que : une

prédisposition génétique, le sexe, l'hyperviscosité sanguine, l'hyperactivité du système nerveux sympathique et enfin l'intervention de facteurs neuro-hormonaux qui ont fait l'objet de très nombreux travaux ces dernières années (Sigurdsson and Swedberg, 1996).

IV.6 Hypertension et œdème pulmonaire secondaire à l'insuffisance cardiaque

Dans l'IC, il semble que le défaut d'éjection systolique qui ne vide pas les ventricules provoque une accumulation du sang dans le cœur et dans la circulation veineuse et diminue le volume artériel. Dans les insuffisances cardiaques modérées, une légère augmentation de volume sanguin est néanmoins susceptible de rétablir le volume artériel et vers un nouvel équilibre. En effet, selon l'application au cœur des lois de Starling, une augmentation du volume sanguin ventriculaire peut, jusqu'à un certain point, entraîner une augmentation de la force de contraction ventriculaire et donc du débit cardiaque. Cependant, si l'atteinte cardiaque est plus sévère, la rétention liquidienne est insuffisante pour contrecarrer le déficit du volume sanguin artériel. Les liquides s'accumulent alors dans la circulation veineuse, la pression hydrostatique s'y accroît et provoque la formation d'œdèmes. L'œdème pulmonaire limite les échanges gazeux, entraîne une hypoxie qui, à son tour, provoque l'hypertension pulmonaire et atténue le fonctionnement cardiaque. Dans l'IC du ventriculaire gauche, la pression veineuse et capillaire pulmonaire augmentent (ce qui peut entraîner un œdème pulmonaire), puis s'élève ensuite la pression artérielle pulmonaire ; celle-ci à son tour retentit sur l'éjection systolique ventriculaire droite,

aboutissant à une augmentation des pressions télédiastolique ventriculaires droites, veineuses, centrale et périphérique, ce qui augmente la probabilité de la formation d'œdèmes.

La cellule endothéliale joue un rôle primordial dans la modulation du tonus vasculaire pulmonaire, par l'intermédiaire de nombreux médiateurs paracrines qu'elle synthétise (Dinh-Xuan, 1992). Parmi les substances vaso-actives d'origine endothéliale, la famille des endothélines représente un groupe de puissants vasoconstricteurs dont l'action est contrebalancée par celles des vasodilatateurs, prostacycline (PGI_2), monoxyde d'azote (NO) (Dinh-Xuan, 1992) et facteur endothélial hyperpolarisant (EDHF). Ces facteurs contrôlent le tonus du muscle lisse sous-jacent, la prolifération de nombreux types cellulaires de la paroi vasculaire pulmonaire, ainsi que l'agrégation plaquettaire (Dinh-Xuan, 1992).

Les études électrophysiologiques sur diverses artères, dont l'artère coronaire humaine, démontrent que l'acétylcholine et d'autres vasodilatateurs endothélium-dépendants provoquent des hyperpolarisations et des relaxations endothélium-dépendantes, qui sont dues à un facteur endothélial hyperpolarisant et diffusible (EDHF), différent de NO et de la prostacycline (Feletou et al, 1999; Brandes et al, 2000). L'identité chimique de l'EDHF n'est pas connue et plusieurs EDHF peuvent exister. Dans certains vaisseaux sanguins, les acides épixyeicosatriénoïques (EET), formés à partir de l'acide arachidonique par l'action du cytochrome P-40, peuvent correspondre à l'EDHF (Campbell et al, 1996; Gebremedhin et al, 1998).

L'hyperpolarisation des cellules du muscle lisse induite par l'EDHF est relayée par une augmentation du flux des ions potassium. Le type de canal K^+ impliqué n'a pas été établi définitivement, mais ces canaux sont plus vraisemblablement des canaux K^+ calcium-dépendants que ATP-dépendants (Taylor et al, 1988; Cohen et al, 1995). Comme pour le NO, la libération d'EDHF nécessite une augmentation de la concentration de Ca^{2+} intracellulaire des cellules endothéliales.

La contribution de l'hyperpolarisation à la relaxation vasculaire endothélium-dépendante varie en fonction de la taille des artères et elle est prédominante dans les vaisseaux de résistance (Campbell et al, 1996; Urakami-Harasawa et al, 1997; Feletou et al, 1999). Dans les grosses artères, les deux médiateurs (NO et EDHF) peuvent contribuer aux relaxations endothélium-dépendantes, mais le rôle de NO prédomine dans les circonstances normales. Dans ces artères, si la synthèse de NO est inhibée, l'EDHF peut être à l'origine de relaxations endothélium-dépendantes pratiquement normales (Kilpatrick et al, 1994; Feletou et al, 1999).

Dans les pathologies comme l'athérosclérose ou l'hypertension artérielle pulmonaire (Dinh-Xuan et al, 1991), lorsque la production ou l'activité de NO sont réduites, la contribution de l'EDHF peut être importante pour la régulation du tonus vasculaire. Il existe également un déséquilibre de la balance PGI_2 /thromboxane A_2 en faveur de ce dernier qui possède à la fois des effets vasoconstricteurs et procoagulants (Christman et al, 1992). Enfin, l'expression cellulaire et les taux sanguins de l'endothéline-1 sont augmentés dans diverses formes d'hypertension

artérielle pulmonaire (Giaid et al, 1993). Du fait de leurs propriétés inhibitrices de l'activation plaquettaire, la baisse de la production du NO et de la PGI₂ par la cellule endothéliale favorise l'agrégation plaquettaire et l'adhérence des plaquettes à la paroi vasculaire. Ainsi, il est probable que tout mécanisme entraînant un dysfonctionnement de la cellule endothéliale pourra perturber l'homéostasie régnant entre les processus de synthèse des facteurs endothéliaux vasodilatateurs et constricteurs. Cette perturbation entraîne un déséquilibre de la balance en faveur des facteurs vasoconstricteurs. La vasoconstriction pulmonaire qui en résulte va s'intriquer aux lésions thrombotiques et aux modifications histologiques du lit vasculaire pulmonaire pour participer à la constitution et à l'aggravation de l'hypertension artérielle pulmonaire (Figure 3).

Il a été démontré dans l'hypertension artérielle pulmonaire secondaire à l'IM modéré, qu'une diminution de l'expression de la NO synthase endothéliale est observée dans le poumon des rats infarctés (Driss et al, 2000). Par contre, son activité reste inchangée dans l'hypertension artérielle pulmonaire primaire induite par l'injection de monocrotaline (substance toxique détruisant les cellules endothéliales pulmonaires) (Prié et al, 1998). Il est possible qu'une diminution de la synthèse du NO pulmonaire soit associée à l'hypertension artérielle pulmonaire secondaire et non à l'hypertension artérielle pulmonaire primaire

Peptides natriurétique
Adrenoméduline
EDRF (NO)
Prostacycline (PGI₂)
Bradykinine

Vasodilateurs



Vasoconstricteurs

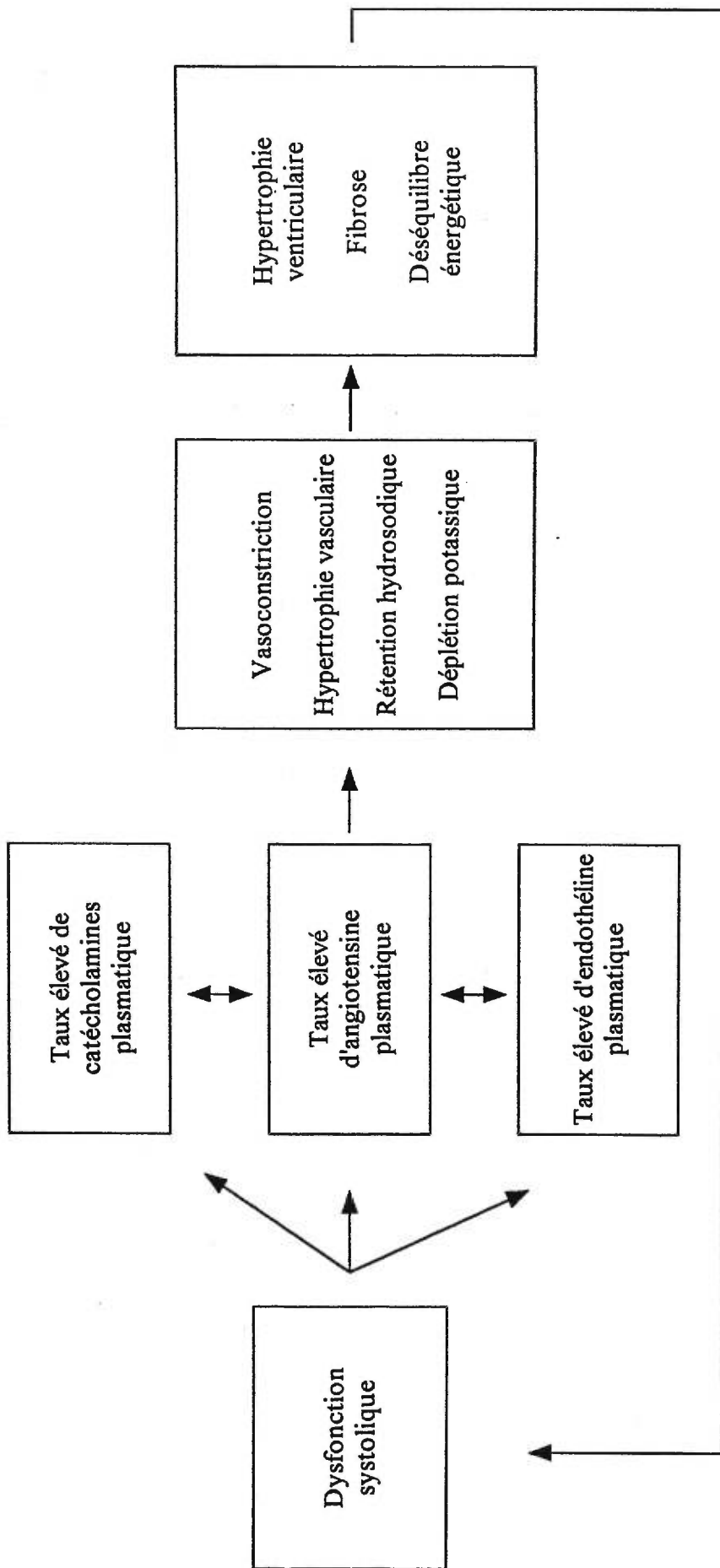
Angiotensin II
Aldostérone
Endothéline
Catécholamine
Neuropeptide Y
Vasopressine

V. Hypothèse neurohormonale

Pendant plusieurs années, l'insuffisance cardiaque a été considérée comme un désordre hémodynamique (Swynghedauw, 1999). Selon cette hypothèse, l'insuffisance cardiaque a évolué suivant des dommages au cœur, déclenchant une série d'événements hémodynamiques, menant à la progression de la maladie, et finalement à l'insuffisance cardiaque et la mort du patient. Dans la mesure où les médecins ont visualisé l'insuffisance cardiaque comme un désordre hémodynamique, ils ont approché son traitement en essayant d'améliorer ces dérangements hémodynamiques. En conséquence différents agents inotropiques positifs, comme les digitaliques et les drogues vaso-dilatatrices périphériques, étaient synthétisés et évalués en clinique. Malheureusement, les résultats cliniques ont été décevants. En dépit d'exercer des effets hémodynamiques favorables, la thérapie à long terme avec une variété d'agents inotropiques positifs ou vasodilatateurs n'ont fourni aucun avantage clinique et beaucoup ont compromis la survie des patients présentant une insuffisance cardiaque (Pfeffer et Pfeffer, 1988). De plus, les traitements à long terme des drogues utilisées dans l'IC chronique ont prouvé que les réductions de la mortalité et de la morbidité sont mal corrélées avec des changements hémodynamiques. Ces observations ont soulevé des doutes importants au sujet de la validité de l'hypothèse hémodynamique dans l'insuffisance cardiaque. En raison des limitations du modèle hémodynamique, l'hypothèse alternative du désordre neurohormonal a été postulée (Packer, 1992; Rouleau et al, 1994). Cette hypothèse est basée sur l'observation que plusieurs systèmes neurohormonaux avec des effets

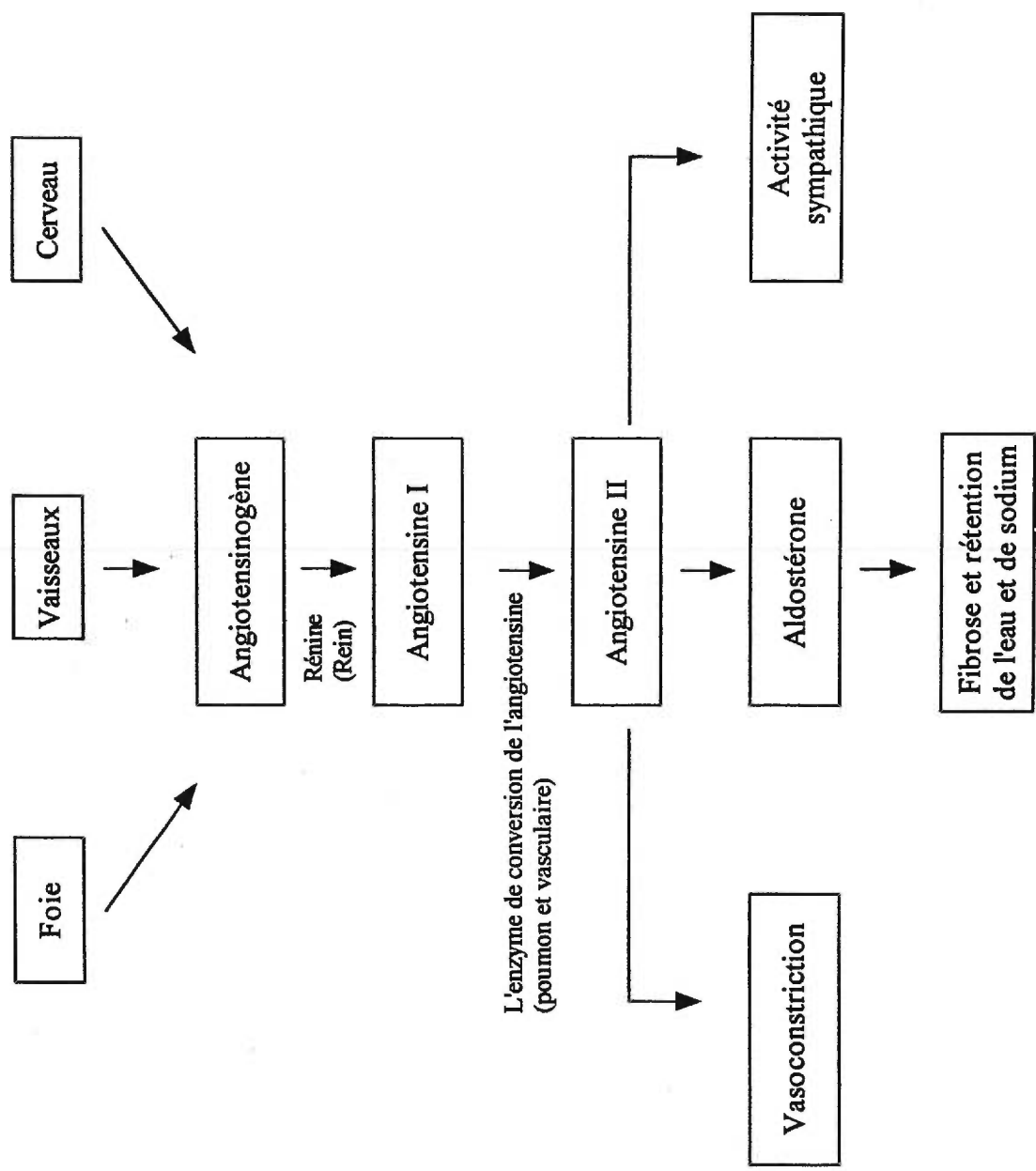
cardiaques et vasculaires sont activés chez les patients présentant une insuffisance cardiaque chronique, et cette activation neurohormonale contribue aux anomalies hémodynamiques et cliniques de la maladie (Figure 4).

L'insuffisance cardiaque est alors considérée comme un désordre de multisystèmes qui se caractérise par les anomalies de muscle cardiaque et squelettique, de la fonction rénale, une stimulation du système nerveux sympathique et une configuration complexe des changements neurohormonaux. L'insuffisance cardiaque chronique est associée à l'activation et aux changements de la régulation du système neurohormonal autonome. Bien que ces mécanismes compensatoires neurohormonaux fournissent le support valable pour le cœur dans des circonstances physiologiques normales, ils ont également un rôle fondamental dans le développement et la progression ultérieure de l'insuffisance cardiaque chronique (Packer, 1992; Rouleau et al, 1994).



V.1 Le système rénine-angiotensine-aldostérone

L'angiotensine-II (AT_{II}) est un octapeptide qui est le produit final d'une cascade de réactions enzymatiques dont les deux principales étapes sont la production de l'angiotensine-I à partir de l'angiotensinogène sous l'effet de la rénine, et la production d'AT_{II} à partir de l'angiotensine-I sous l'effet de l'enzyme de conversion (Schnee et Hsueh, 2000) (Figure 5). L'AT_{II} joue un rôle très important dans l'homéostasie et notamment dans le maintien de la pression artérielle, des résistances périphériques et du volume extracellulaire. De plus, elle a été considérée comme un facteur trophique qui influence notamment la multiplication des cellules musculaires lisses dans la paroi artérielle et l'hypertrophie des myocytes cardiaques (Schnee et Hsueh, 2000). Dans ce contexte, le développement de bloqueurs des récepteurs AT₁ qui sont distribués dans les principaux tissus-cibles de l'appareil cardio-vasculaire et également dans les reins, la cortico-surrénale, le cerveau et le foie, paraît logique. La stimulation des récepteurs AT₁ entraîne la croissance cellulaire des cellules musculaires lisses et des cardiomyocytes, la prolifération de la matrice extracellulaire, la synthèse du collagène et elle augmente le tonus sympathique. L'AT_{II} est une hormone vasoconstrictrice efficace du système rénal (les artérioles efférentes) et de la circulation systémique où elle stimule le relargage de la noradrénaline des neurones terminaux sympathiques, empêche l'activité vagale, et favorise le relargage de l'aldostérone. Ceci mène à la rétention du sodium et de l'eau et à une plus grande excrétion du potassium. En outre, l'AT_{II} a des effets importants sur les myocytes cardiaques et peut contribuer au dysfonctionnement endothélial qui



est observé dans l'insuffisance cardiaque chronique. L'avantage au moins théorique du blocage de ces récepteurs est d'empêcher la synthèse d'AT_{II} par les voies alternatives (voie des chymases) qui ne sont pas bloquées par les inhibiteurs de l'enzyme de conversion (Sadoshima, 2000). Par ailleurs, le blocage direct du récepteur n'entraîne pas l'accumulation de bradykinine, deuxième grande voie métabolique modulée par l'enzyme de conversion. On sait que cette accumulation de bradykinine a été incriminée dans les phénomènes de toux apparaissant sous inhibiteurs de l'enzyme de conversion.

Sur le plan clinique, plusieurs bloqueurs des récepteurs AT_I sont utilisés en pratique (Song et White, 2000). Le plus étudié a été le losartan (Spinar et al, 2000). Ses effets hémodynamiques en aigu ou à court terme (12 semaines) se caractérisent par une vasodilatation artérielle, une diminution de la pression artérielle qui semble être dose-dépendante, une réduction de la pression capillaire pulmonaire et une tendance à induire une bradycardie. Au plan neurohormonal, on observe une augmentation de la concentration plasmatique d'AT_{II} surtout à fortes doses de losartan et une réduction de la concentration plasmatique d'aldostérone. Il ne semble pas, au terme de 12 semaines, y avoir de phénomène d'activation neurohormonale (Pitt, 1995; Pitt et al, 1997).

Les antagonistes des récepteurs AT_I de l'AT_{II} apparaissent comme une alternative potentielle des inhibiteurs de l'enzyme de conversion, notamment lorsque ceux-ci sont mal tolérés en raison des phénomènes de toux. La bonne tolérance de cette classe est relevée dans la plupart des études. Il faut néanmoins noter qu'il n'y a

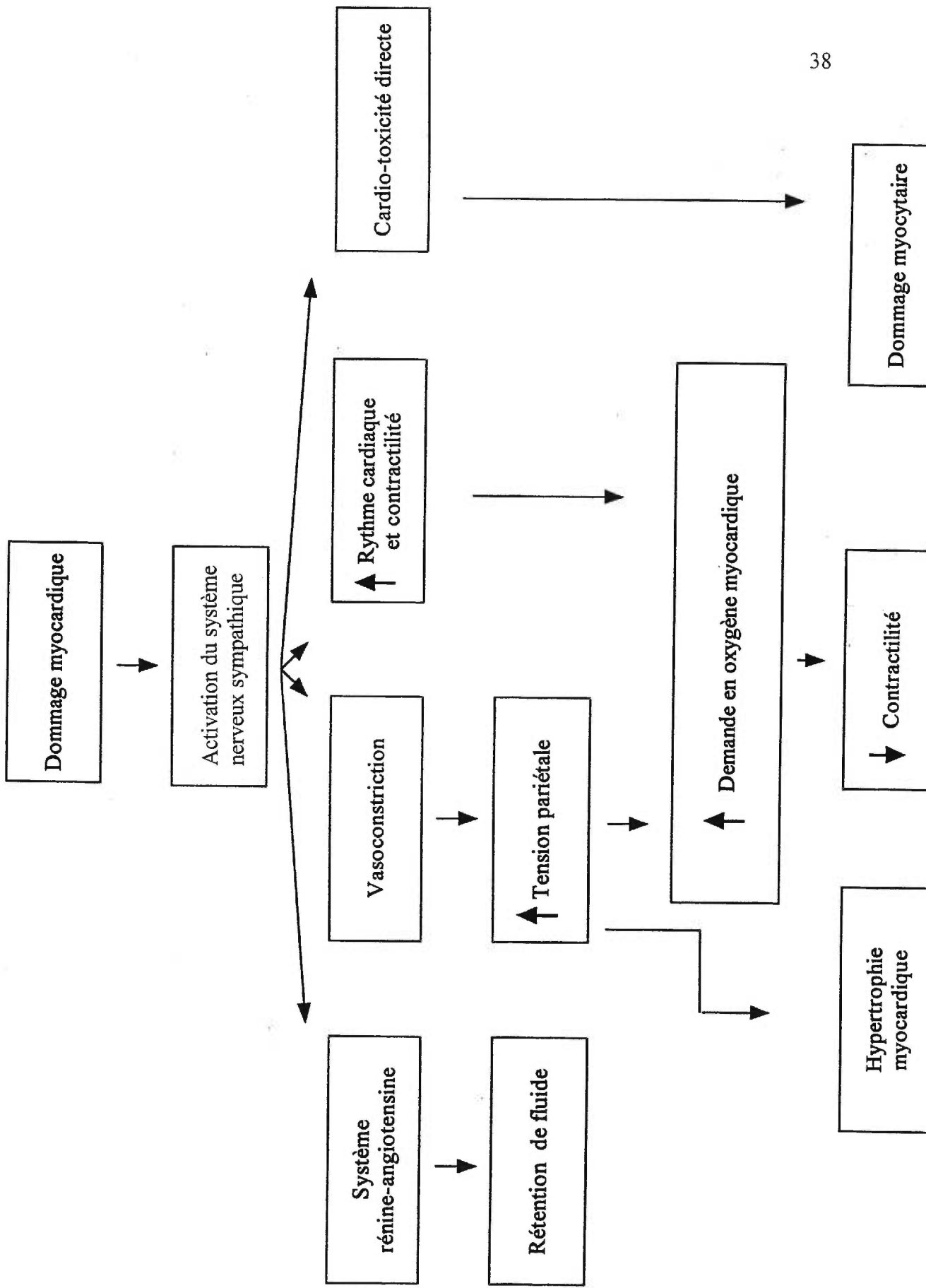
pas actuellement de données convaincantes sur la mortalité. Il faudra donc attendre les résultats des études à grande échelle, telle l'étude CHARP, pour savoir si cette classe constitue réellement une alternative aux inhibiteurs de l'enzyme de conversion dans le traitement de l'insuffisance cardiaque chronique.

Les anti-aldostérones ont démontré une action préventive sur la fibrose myocardique dans des modèles expérimentaux d'hypertrophie ventriculaire gauche. L'étude RALES démontre que l'association de spironolactone au traitement habituel de l'insuffisance cardiaque réduit la morbidité et la mortalité des patients avec IC sévère (Pitt et al, 1999)

V.2 Le système nerveux sympathique

Le système nerveux sympathique est activé dans l'insuffisance cardiaque aiguë comme mécanisme compensatoire précoce. Il fournit le support inotropique et maintient le débit cardiaque (Bristow, 1998; Colucci et al, 2000) (Figure 6). L'activation sympathique chronique cependant a des effets délétères, causant une plus grande détérioration dans la fonction cardiaque. L'augmentation précoce de l'activité sympathique est détectée au cœur, et ceci semble précéder l'augmentation sympathique au muscle squelettique et aux reins qui est présente dans l'insuffisance cardiaque avancée (Jackson et al, 2000). La stimulation sympathique soutenue active le système rénine-angiotensine-aldostérone et d'autres neurohormones, menant au plus grand tonus basal veineux et artériel (et aux plus grandes précharges et

postcharges respectivement), aux plus grandes concentrations en noradrénaline plasmatique, à la conservation progressive du sel et de l'eau, et à l'œdème (Colucci et al, 2000). L'activité sympathique excessive est également associée à l'apoptose cardiaque, à l'hypertrophie, et à la nécrose myocardique locale (Colucci, 1997). A long terme, la capacité du myocarde de répondre aux concentrations élevées chroniques des catécholamines est atténuée par la régulation vers le bas "down régulation" des récepteurs β -adrénergiques, bien que ceci puisse être associé au dysfonctionnement des barorécepteurs et à un accroissement ultérieur de l'activité sympathique (Bristow, 2000). En effet, des anomalies de la fonction des barorécepteurs sont bien documentées dans l'insuffisance cardiaque chronique, avec le tonus parasympathique réduit, menant à la modulation autosomique anormale du nœud sinusal. D'ailleurs, on a uniformément observé une réduction de la variabilité de la fréquence cardiaque dans l'insuffisance chronique, en raison de la modulation vagale réduite du nœud sinusal, qui peut être un repère pronostique chez les patients présentant une insuffisance cardiaque chronique (Bristow, 1999).



V.2.1 Les β -bloqueurs

L'intérêt théorique de cette classe dans la prévention de l'insuffisance cardiaque est de lutter contre la stimulation neurohormonale en sachant que la stimulation du système adrénergique est détectée encore plus précocement que celle du système rénine angiotensine et qu'elle persiste sous inhibiteur de l'enzyme de conversion (Bristow, 2000). L'utilisation des β -bloqueurs dans l'insuffisance cardiaque a montré une amélioration hémodynamique. Récemment, Hall et al ont montré qu'après 18 mois de traitement avec le métoprolol, il existait une réversibilité du remodelage avec une diminution de la masse et de la sphéricité du ventriculaire gauche, s'ajoutant à l'amélioration de la performance ventriculaire gauche observée dès le 3e mois (Hall et al, 1995). Aucune étude clinique n'a encore démontré de bénéfices cliniques au stade de la dysfonction asymptomatique et de cette réversibilité potentielle du remodelage. En revanche, dans l'insuffisance cardiaque symptomatique, les études réalisées avec le carvedilol (Basu et al, 1997), un β -bloqueur de 3e génération non sélectif et alpha-agoniste, ont démontré une telle réduction de la mortalité et des hospitalisations pour insuffisance cardiaque. Cette molécule a obtenu la première autorisation de mise sur le marché pour la famille des β -bloqueurs dans l'insuffisance cardiaque. D'autres études avec des β -bloqueurs sélectifs (CIBIS II, MERIT-HF) ont confirmé ces résultats chez un plus grand nombre de patients.

V.3 Les peptides natriurétiques

Il y a trois peptides natriurétique, de structure semblable, et ceux-ci exercent un éventail d'effets sur le cœur, les reins, et le système nerveux central. Le peptide natriurétique de l'oreillette (ANP) est libéré des oreillettes en réponse à l'étirement, menant à la natriurèse et à la vasodilatation (Burnett, 1999). Chez l'homme, le peptide natriurétique du cerveau (BNP) est également libéré à partir du cœur, principalement des ventricules, et ses actions sont semblables à celle d'ANP (Omland et al, 1996). Le peptide natriurétique de type C est limité à l'endothélium vasculaire et au système nerveux central et possède seulement certains effets dont la natriurèse et la vasodilatation (Burnett, 1999).

Les peptides natriurétiques des oreillettes et du cerveau augmentent en réponse à l'expansion de volume et à la surcharge de pression du cœur et agissent en tant qu'antagonistes physiologiques aux effets de l'AT_{II} sur le tonus vasculaire, la sécrétion d'aldostérone, et la réabsorption rénale tubulaire de sodium (Bonow, 1996). Parce que les peptides natriurétiques sont des médiateurs importants, avec des concentrations accrues en circulation chez les patients présentant une insuffisance cardiaque, l'intérêt clinique s'est développé avec le potentiel diagnostique et pronostique de ces peptides (Burnett, 1999). L'intérêt substantiel a été exprimé au sujet du potentiel thérapeutique des peptides natriurétiques, en particulier avec le développement des agents qui empêchent l'enzyme qui métabolise l'ANP (endopeptidase neutre) (Chen et Burnett, 1999; Lisy et al, 1999).

V.3.1 Inhibiteurs de l'endopeptidase neutre et de l'enzyme de conversion de l'angiotensine

L'enzyme de conversion de l'angiotensine et l'endopeptidase neutre sont deux métalloprotéases à zinc impliqués dans la régulation de plusieurs peptides vaso-actifs. L'enzyme de conversion de l'angiotensine transforme l'angiotensine-I en angiotensine-II et dégrade la bradykinine. L'endopeptidase neutre inactive les peptides natriurétiques et semble également jouer un rôle dans le métabolisme de la bradykinine (Burnett, 1999).

Au cours de l'insuffisance cardiaque, l'activation du système rénine-angiotensine antagonise l'action vasodilatatrice et l'ANP et il a été montré que l'administration préalable d'un inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine restaure les effets cardiovasculaires et rénaux de l'ANP dans des modèles expérimentaux (Chen et al 1999). La conception de médicaments dotés à la fois d'une action inhibitrice sur la synthèse de l'AT_{II} et sur l'endopeptidase neutre, préservant ainsi l'activité biologique des peptides natriurétiques paraît donc séduisante. L'inhibition isolée de l'endopeptidase neutre par l'administration de candoxatril 150 mg x 2 chez des patients en insuffisance cardiaque de gravité moyenne augmente la concentration plasmatique d'ANP, diminue celle de l'aldostérone et réduit les pressions auriculaires et capillaires pulmonaires (Northridge et al, 1999). Cet effet paraît maintenu après 10 jours de traitement avec une réduction significative des pressions de remplissage du ventricule gauche.

Dans un modèle expérimental d'insuffisance cardiaque (hamster syrien cardiomyopathique), l'administration intraveineuse d'un inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (l'énalaprilate), d'un inhibiteur de l'endopeptidase neutre et d'un inhibiteur mixte ont été comparés (Trippodo et al, 1993). L'inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine ou l'inhibiteur de l'endopeptidase neutre ont un effet hémodynamique modeste. Par contre, l'inhibiteur mixte diminue de façon significative la pression télédiastolique du ventricule gauche et la pression systolique, augmente le débit cardiaque et réduit les résistances vasculaires systémiques. La potentialisation du blocage de l'enzyme de conversion de l'angiotensine par le blocage de l'endopeptidase neutre semble donc efficace (Duncan et al, 1999; Marie et al, 1999; Trippodo et al, 1999). Des essais thérapeutiques ont débuté sur plusieurs antagonistes mixtes et il faudra suivre avec intérêt les résultats cliniques de cette voie thérapeutique prometteuse.

Il existe d'autres mécanismes hormonaux qui sont aussi impliqués dans l'insuffisance cardiaque chronique. La cascade de l'acide arachidonique mène à la formation des prostaglandines (prostaglandine E_2 et prostacycline I_2) qui protège la microcirculation glomérulaire pendant la vasoconstriction rénale et maintient la filtration glomérulaire en dilatant les artéioles glomérulaires afférentes (Yu et al, 1997; Yamamoto et al, 1999). Le système kallikreine kinine forme la bradykinine ayant pour résultat la natriurèse et la vasodilatation et stimule la production de prostaglandines (Tschope et al, 1999; Raut et al, 1999). Des concentrations

d'hormones antidiurétiques (vasopressine) sont également augmentées dans l'insuffisance cardiaque chronique grave (Fujita et al, 1998).

VI Théorie inflammatoire dans l'insuffisance cardiaque

L'émergence d'une théorie inflammatoire dans l'insuffisance cardiaque avec la mise en évidence du rôle des cytokines a été proposée pour compléter l'hypothèse neurohormonale. Un certain nombre d'évidences cliniques et expérimentales plaident en faveur d'un effet défavorable de ces médiateurs de l'inflammation qui pourraient jouer un rôle dans l'aggravation de l'insuffisance cardiaque, notamment dans les stades les plus sévères (Givertz et Colucci, 1998).

Les cytokines sont des protéines à faible poids moléculaire sécrétées par différents types de cellules et qui ont une variété d'actions immunitaires et/ou inflammatoires. Les cytokines impliquées en pathophysiologie de l'IC sont nombreuses mais les plus importantes sont le facteur α de nécrose tumorale (TNF- α), et l'interleukine-6 (IL-6) (Prabhu et al, 2000; Ridker et al, 2000; Siwik et al, 2000).

Une élévation de la concentration plasmatique de TNF- α et de ses récepteurs solubles I et II a été démontrée chez des patients avec insuffisance cardiaque. Ces changements se sont avérés être en corrélation positive avec la sévérité symptomatique de l'IC chronique chez les patients (Latini et al, 1994; Givertz et Colucci, 1998; Ridker et al, 2000). De plus, l'augmentation de la concentration

plasmatique du récepteur soluble II semble être un facteur de mauvais pronostic à court terme (Ridker et al, 2000).

Plusieurs évidences expérimentales démontrent un rôle possible du TNF- α au niveau du myocarde (Kurrelmeyer et al, 2000). Il a été démontré que le TNF- α exerce un effet inotrope négatif sur les myocytes cardiaques et que cet effet est lié à l'activation des récepteurs de type I (Jacobs et al, 1999). Plus récemment, on a montré que le TNF- α provoque une réponse hypertrophique sur les myocytes cardiaques (Ono et al, 1998). Finalement, il a été démontré que l'ARN messenger du TNF- α et la protéine elle-même sont présents dans les cœurs humains défaillance (Azzawi et al, 1999). En dehors de l'action hypertrophique potentielle, le TNF- α peut contribuer à l'expression de la NO synthase inductible, de proto-oncogènes et favorise l'apoptose (la mort cellulaire programmée) (Givertz et Colucci, 1998; Torre-Amione et al, 1999). L'ensemble de ces observations suggère qu'il existe une surexpression du TNF- α dans les myocytes cardiaques qui peut contribuer à l'aggravation de l'IC

Si l'insuffisance cardiaque entraîne une production de TNF- α , cette cytokine à son tour semble avoir un effet néfaste sur la fonction contractile du cœur. Le groupe de Mann a implanté des pompes osmotiques chez le rat, en position intrapéritonéale (Bozkurt et al, 1998). Le rythme de perfusion était réglé de façon à obtenir des taux systémiques de TNF α comparables à ceux rapportés chez des patients avec insuffisance cardiaque (80-100 U/ml). Les animaux ont été suivis pendant 15 jours. Les auteurs ont observé une dépression de la fonction ventriculaire

gauche et une dilatation du ventricule gauche. Ces phénomènes étaient au moins en partie réversibles (par l'arrêt de la pompe osmotique ou par le traitement par un antagoniste du TNF α).

Le cœur défaillant est non seulement une cible mais aussi une source de TNF α (Torre-Amione et al, 1999). Bryant et collaborateurs ont développé un modèle de souris transgénique capable d'exprimer le TNF α . Ces animaux ont présenté des symptômes d'insuffisance cardiaque caractérisés par la dilatation et la réduction de la fraction d'éjection ventriculaire. De plus, la tachypnée et une diminution de l'activité ont aussi été observées chez ces souris transgéniques (Bryant et al, 1998; Franco et al, 1999).

Une autre cytokine importante qui a été impliquée dans la pathogénie de IC est IL-6. Les niveaux élevés d'IL-6 sont présents chez les patients avec IC (Kaneko et al, 1997; Ono et al, 1998; Ridker et al, 2000). Bien que quelques études aient prouvé que les niveaux IL-6 élevés sont associés à un mauvais pronostic (Carlstedt et al, 1997; Orus et al, 2000), ceci ne s'est pas avéré le cas dans les études sur le dysfonctionnement ventriculaire gauche (SOLVD) (Torre-Amione et al, 1996). L'augmentation d'IL-6 est associée avec un plus long séjour d'hospitalisation et une fonction ventriculaire gauche plus faible (Carlstedt et al, 1997; Orus et al, 2000). De plus, IL-6 a été impliqué dans le développement de l'ostéoporose qui est connu chez les patients avec IC (Romas et Martin, 1997).

L'association du niveau de cytokine inflammatoire élevé avec un faible pronostic d'insuffisance cardiaque (Carlstedt et al, 1997; Orus et al, 2000), ainsi que

leurs effets nuisibles sur la fonction et structure myocardique (Bozkurt et al, 1998; Bryant et al, 1998; Franco et al, 1999) suggèrent que les cytokines soient susceptibles d'être nuisibles dans cette condition. Cependant, il est important de se rappeler que la fonction primaire de la réponse inflammatoire est de protéger le corps contre les infections et autres stress auxquels il est exposé. C'est seulement quand la réponse inflammatoire est suractivée de façon prolongée qu'elle commence à avoir des effets nocifs. Il a été proposé que les cytokines exprimées dans le myocarde (tels $TNF\alpha$ et IL-6) en réponse à des dommages environnementaux puissent être importantes dans la réorganisation homéostatique cardiaque (Givertz et Colucci, 1998). L'expression à court terme des cytokines inflammatoires peut fournir au myocarde une réponse adaptative au stress, tandis que l'expression à long terme de ces molécules peut être mal adaptée en produisant une décompensation cardiaque.

VII L'endothéline dans l'insuffisance cardiaque

L'endothélium, la monocouche cellulaire constituant l'intima, a longtemps été considéré comme une barrière passive entre le sang circulant et la paroi vasculaire. La découverte de la prostacycline en 1976 (Moncada et al, 1976) et du monoxyde d'azote en 1980 (Furchgott, 1999) comme facteurs vasorelaxants d'origine endothéliale a mis en évidence le rôle fondamental de l'endothélium en physiologie et en pathologie cardiovasculaire. L'endothélium sécrète des autacoïdes impliqués dans la régulation de la vasomotricité, de la prolifération cellulaire et de l'agrégation plaquettaire (Moncada et al, 1991; Furchgott, 1999). Cependant, dès 1985, des

facteurs vasoconstricteurs, produits par l'endothélium ont aussi été découverts (Hickey et al, 1985). En 1988, un petit peptide de 21 acides aminés, un puissant vasoconstricteur d'origine endothéliale appelé endothéline-1 (ET-1) (Yanagisawa et al, 1988), fut identifié. Le rôle potentiel de cette molécule dans de nombreux processus physiopathologiques a rapidement été étudié et a ouvert la voie à des perspectives thérapeutiques nouvelles.

VII.1.1 Structure de l'endothéline

L'ET-1 a été initialement identifiée à partir de cellules endothéliales aortiques porcines (Yanagisawa et al, 1988). Chez l'homme, elle appartient à une famille comprenant trois isoformes : l'endothéline-1, l'endothéline-2 et l'endothéline-3 (Inoue et al, 1989; Miyauchi et Masaki, 1999). Chacune provient d'un gène distinct, codant pour un précurseur spécifique. Les gènes de l'ET-1, ET-2 et ET-3 sont situés respectivement sur les chromosomes 6, 1 et 20. Les endothélines sont constituées de 21 acides aminés, comprenant deux ponts disulfures, et une extrémité C-terminale identique de 6 acides aminés, nécessaires à leurs activités biologiques. Une analogie structurale fut retrouvée avec les sarafotoxines, peptides issus du venin du serpent "*Actractapis engaddensis*." (Miyauchi et Masaki, 1999).

VII.1.2 Métabolisme de l'endothéline

La régulation de la synthèse des endothélines se fait majoritairement au niveau transcriptionnel, avec une production de novo en réponse à une stimulation des cellules endothéliales. Des quantités limitées d'ET-1 peuvent cependant être stockées

à l'intérieur des cellules endothéliales (Harrison et al 1995; Russell et Davenport, 1999), mais leur rôle fonctionnel reste à déterminer. La synthèse des endothélines sera détaillée pour l'ET-1. Le produit initial du gène de l'ET-1 est un prépropeptide constitué de 212 acides aminés nommé préproET-1. La synthèse d'ET-1 survient alors schématiquement en trois étapes : le clivage enzymatique de la préproET-1 pour former un peptide de 38 acides aminés, la BigET-1. Il a été démontré qu'une convertase de type subtilisine, la furine, pouvait être responsable du clivage de la préproET-1 (Denault et al, 1995). La transformation en produit terminal se fait par clivage par une métalloprotéase, l'enzyme de conversion de l'endothéline (ECE), et est nécessaire pour obtenir une activité biologique maximale (Kimura et al, 1989). Il existe plusieurs isoformes d'enzymes de conversion de l'endothéline (ECE-1 α , ECE-1 β et ECE-2), dont l'ECE-1 α , qui est une forme biologique active exprimée dans de nombreuses cellules comprenant les cellules endothéliales (Xu et al, 1994; Shimada et al, 1995). Cet enzyme est inhibé par le phosphoramidon, un inhibiteur non sélectif de l'enzyme de conversion de l'endothéline, inhibant d'autres métalloprotéases tels que l'endopeptidase neutre. L'enzyme de conversion de l'endothéline, de façon parallèle à l'enzyme de conversion de l'angiotensine, constitue une cible pharmacologique potentielle.

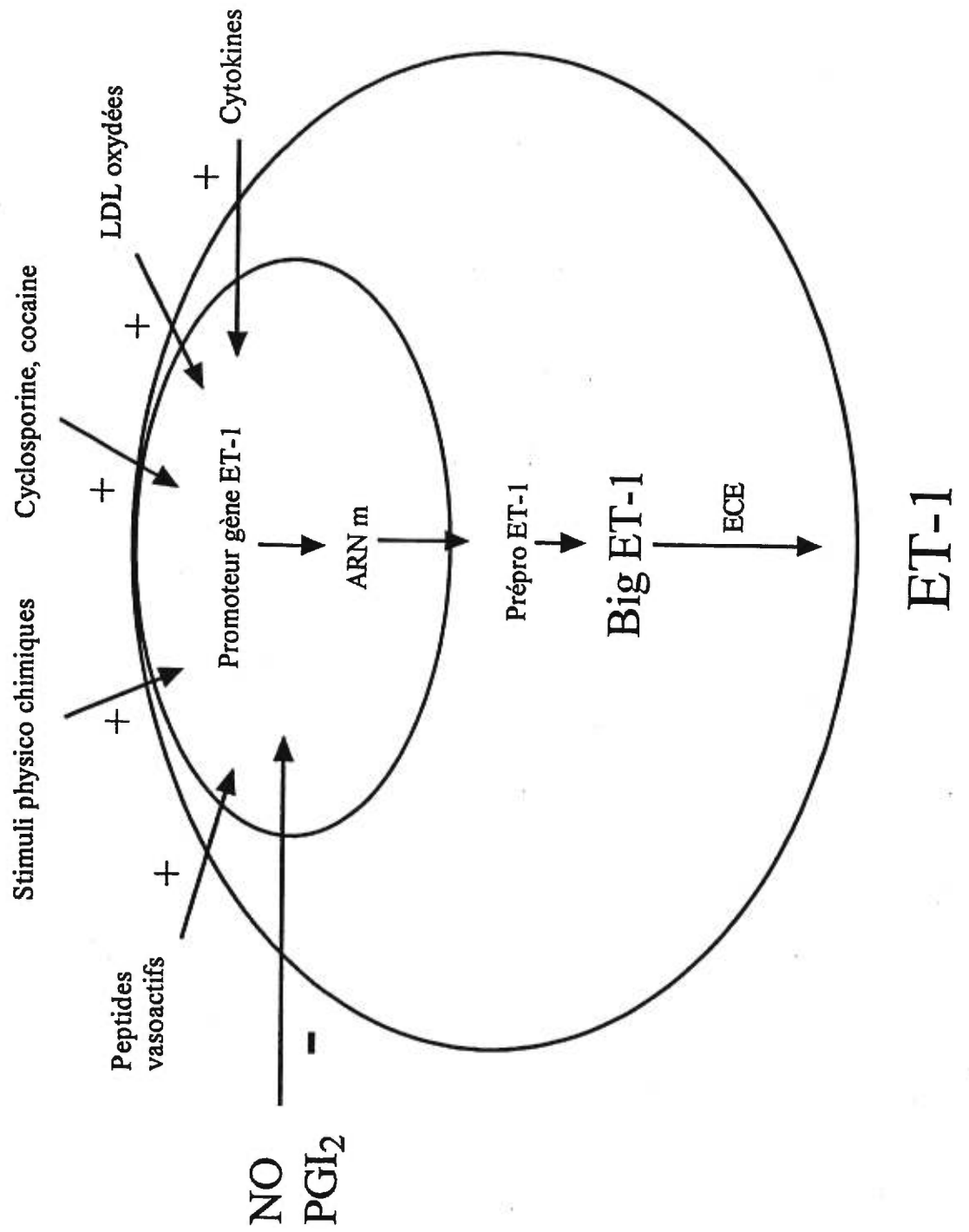
Une fois synthétisée, l'ET-1 va être sécrétée de façon prédominante au pôle basal de la cellule endothéliale (Wagner et al, 1992). Elle aura par conséquent une action prédominante locale sur les cellules musculaires lisses adjacentes. L'ET-1 semble donc plutôt un médiateur paracrine qu'une hormone endocrine. La demi-vie

de l'ET-1 dans le sang est courte, inférieure à 5 minutes, avec un métabolisme lié à la fois à l'internalisation du complexe endothéline-récepteur et à une clairance rénale et pulmonaire (Dupuis et al, 1996).

De nombreux facteurs augmentent sa synthèse : substances vasoactives (adrénaline, AT_{II} , cortisol, vasopressine), facteurs de croissance, cytokines, lipopolysaccharides, lipoprotéines de faible densité (LDL) oxydées, stimuli physicochimiques et certains médicaments tels que la cyclosporine, ainsi que la cocaïne. Par ailleurs, d'autres substances inhibent cette synthèse : monoxyde d'azote, prostacycline et ANP. Le monoxyde d'azote du fait de son action inhibitrice sur la synthèse mais également sur l'effet biologique de l'ET- 1 est donc un puissant modulateur du système de l'ET- 1 (Figure 7).

VII.1.3 Les récepteurs de l'endothéline

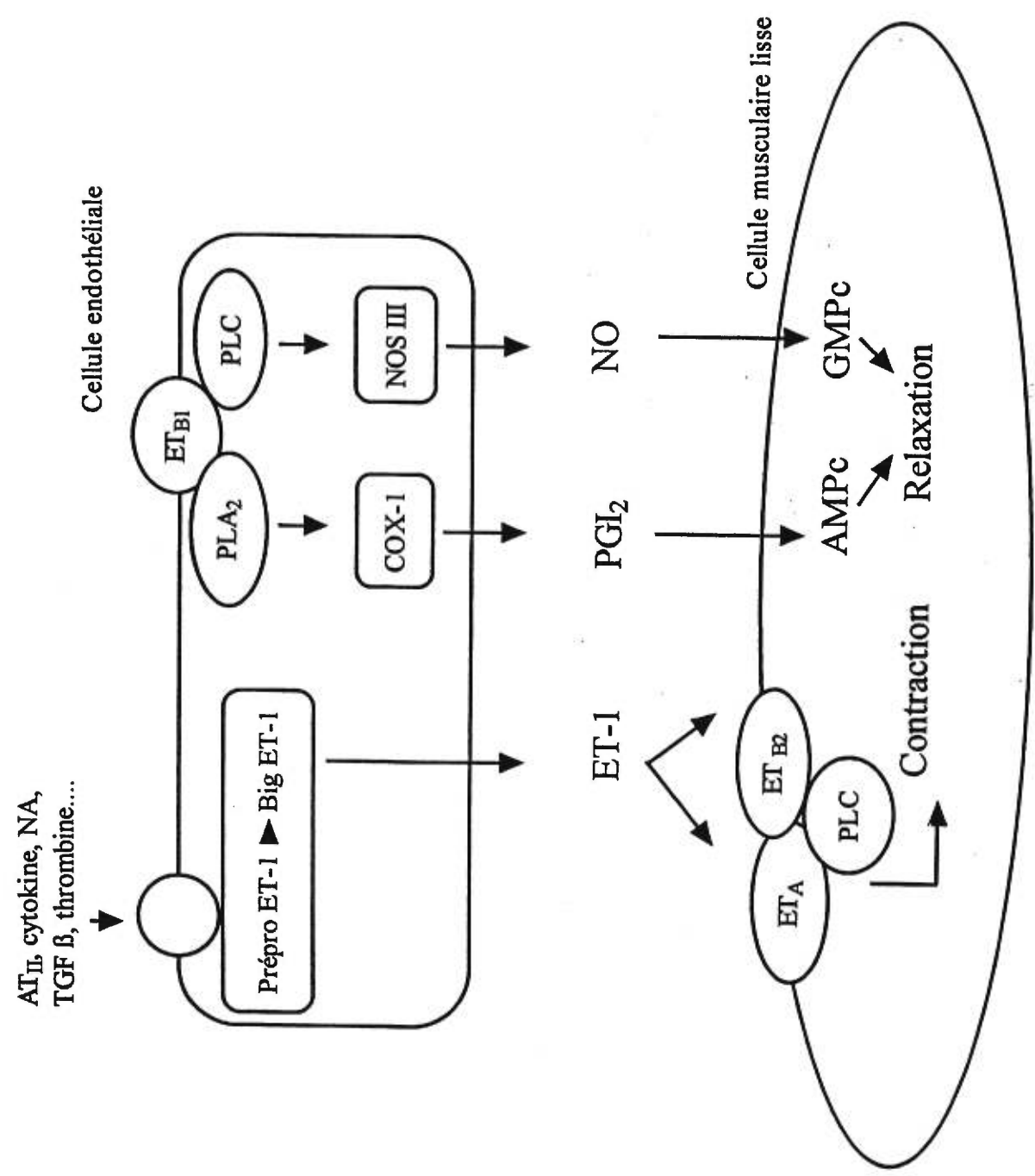
Les endothélines se lient à des récepteurs couplés à des protéines G. Deux de ces récepteurs ont été clonés : ET_A et ET_B présentant entre eux une homologie de structure de l'ordre de 60%. Il existe au moins deux sous-types de récepteurs pour chacun (ET_{A1} , ET_{A2} et ET_{B1} , ET_{B2}). Ces récepteurs se distinguent par des différences d'affinité des isoformes d'endothélines. Sur les préparations vasculaires exprimant le récepteur de type ET_A répondent aux trois endothélines selon l'ordre de puissance des agonistes suivant : $ET-1 \geq ET-2 \gg ET-3$, alors que dans le cas du récepteur ET_B les trois agonistes sont équipotents. Au niveau vasculaire, le récepteur ET_A est exprimé de façon prédominante sur les cellules musculaires lisses (Hosoda et al,



1991) tandis que le récepteur ET_B est exprimé à la fois sur les cellules endothéliales et les cellules musculaires lisses. L'effet principal de la stimulation des récepteurs ET_A est une vasoconstriction quel que soit le territoire vasculaire. La stimulation des récepteurs ET_B des cellules endothéliales module la vasoconstriction de l'ET-1 en induisant un relargage des substances vasodilatatrices d'origine endothéliale telles que le monoxyde d'azote et la prostacycline, tandis que la stimulation des récepteurs ET_B des cellules musculaires lisses peut induire une vasoconstriction (Figure 8).

Plusieurs dizaines d'antagonistes des récepteurs de l'endothéline ont été développés et utilisés comme outils pharmacologiques pour caractériser les récepteurs de l'endothéline et déterminer leurs rôles fonctionnels dans différents modèles *in vitro* et *in vivo*. Ainsi, le BQ 123 est un antagoniste peptidique et sélectif pour le récepteur ET_A . C'est l'antagoniste le plus utilisé et le plus cité dans le domaine de la recherche sur l'endothéline. Par contre, due à sa propriété peptidique, le BQ 123 est instable, facilement dégradé par les enzymes protéolytiques et donc sa biodisponibilité par voie orale est très limitée. A l'opposé, le LU 135252 est un antagoniste non peptidique actif oralement. Ce produit peut nous permettre de réaliser des études chroniques comme nous faisons dans le modèle de l'infarctus du myocarde chez le rat. Il est important à préciser que la sélectivité du LU 135252 n'est pas très grande, étant seulement 100 fois plus sélectif pour le récepteur ET_A , l'utilisation de ce composé à des fortes concentrations pourrait influencer l'activité fonctionnelle du récepteur ET_B . Le ABT 627 est l'énantiomère actif du A-127722, un

antagoniste sélectif d'ET_A qui est actif oralement avec une longue durée d'action, serait plus facile à manipuler comparé au LU 135252. Le BQ 788 est l'antagoniste sélectif ET_B le plus utilisé dans différentes études in vitro et in vivo ; étant peu soluble dans l'eau ce composé a des limites pour les études in vivo. À cause de sa nature non peptidique et parce qu'il est plus sélectif pour le récepteur ET_B que le BQ 788, le composé A 192621 de la compagnie Abbott possède des avantages pratiques pour les essais cliniques. Il existe plusieurs antagonistes non sélectifs de l'endothéline, le bosentan, le SB 209670 et le LU 420627 sont parmi ceux-ci. Tous les trois sont des composés non peptidique. Le bosentan est le plus utilisé et beaucoup de nouvelles découvertes dans le domaine de l'endothéline ont été réalisées avec ce composé. Le SB 209670 a une affinité relative plus grande que le bosentan. Par contre, l'avantage d'utiliser le LU 420627 est que ce composé a une affinité équipotente pour les deux récepteurs comparés aux deux autres. Les principales molécules sont notées dans le tableau 1.



AT_{II} , cytokine, NA,
 $TGF\ \beta$, thrombine....

Cellule endothéliale

Cellule musculaire lisse

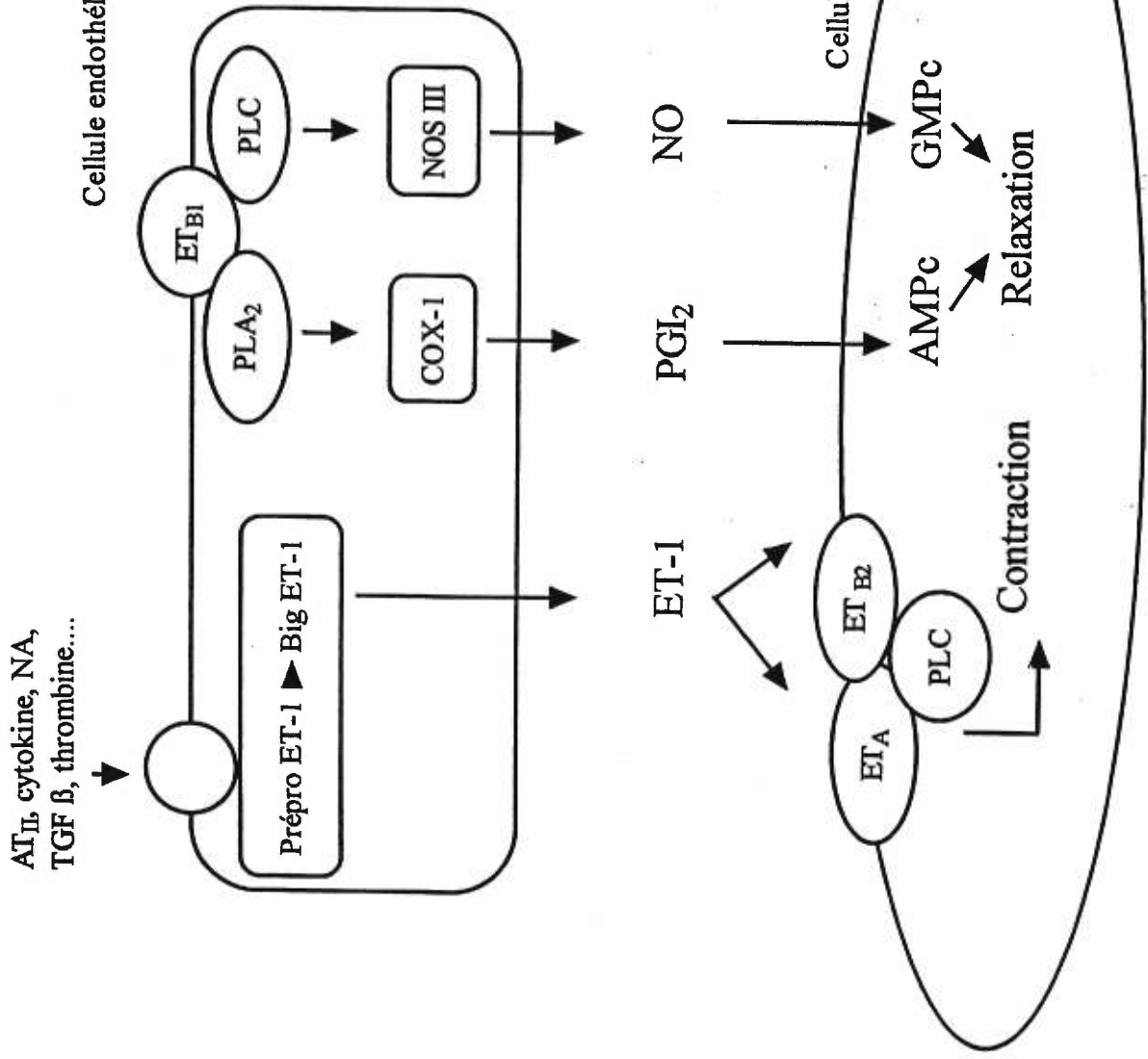


Tableau 1 : Caractéristique des récepteurs des endothélines

	Récepteurs		
	ET _A	ET _B	Sélectivité
Nombre d'acides aminés	427	442	
Affinité des agonistes	ET-1 ≥ ET-2 >> ET-3	ET-1 = ET-2 = ET-3	
Affinité des antagonistes sélectifs (K _i ; nM)			
BQ 123	22	1800	818 (ET _A)
LU 135252	1.4	140	100 (ET _A)
ABT 627	0.034 (IC ₅₀)	63.3 (IC ₅₀)	1861 (ET _A)
BQ 788	1300 (IC ₅₀)	1.2 (IC ₅₀)	1083 (ET _B)
A 192621	6300	4.5	1400 (ET _B)
Affinité des antagonistes non-sélectifs (K _i ; nM)			
Bosentan	6.5	343	43 (ET _A)
SB 209670	0.43	14.7	38 (ET _A)
LU 420627	2	6	3 (ET _A)

VII.1.4 Mécanisme d'action de l'endothéline

Dans la plupart des cellules, c'est une augmentation prolongée de calcium cytosolique qui médie les effets des endothélines (Sokolovsky, 1991). Comme pour les autres hormones mobilisant le calcium, l'augmentation du taux de calcium cytosolique observée sous l'influence de l'endothéline est la conséquence de l'activation conjointe d'au moins deux systèmes membranaires. Ainsi, la stimulation de la phospholipase C par les endothélines (relayés par le récepteur ET_A ou ET_B) conduit à l'apparition de deux seconds messagers, l'inositol 1, 4, 5 triphosphate (IP₃) soluble et le diacylglycérol, une molécule qui reste dans la membrane plasmique et active la protéine kinase C. L'IP₃ se lie à des récepteurs-canaux calciques dans le réticulum endoplasmique/sarcoplasmique, provoquant une libération très rapide de calcium dans le cytosol. Le signal calcique stimulé par l'endothéline pourrait être régulé par un mécanisme de ``feed back`` négatif impliquant la protéine kinase C. En fait, expérimentalement, l'incubation de cellules mésangiales ou de fibroblastes avec des phorbol d'esters, activateurs de protéine kinase C, atténue l'augmentation de calcium intracellulaire provoquée par l'ET-1 (Takuwa et al, 1989). Notons également que l'oxyde nitrique pourrait aussi antagoniser l'augmentation de calcium intracellulaire provoqué par l'ET-1 (Lopez et al, 1991).

Le maintien de la réponse cellulaire est assuré par une augmentation de l'influx de calcium à travers des canaux calciques de la membrane plasmique. Les premières observations publiées par l'équipe de Masaki laissaient supposer que dans les muscles lisses vasculaires, l'ET-1 était un agoniste des canaux calciques voltage dépendant de type L (Yanagisawa et al, 1988). Cependant, aujourd'hui de

nombreuses données démontrent que l'influx de calcium provoqué par l'ET-1 est observé en présence d'inhibiteurs de ces canaux calciques de type L, et que d'autres canaux, les ``receptor-operated calcium channels`` seraient également cibles des endothélines (Chand et al, 1990 ; Stanimirovic et al, 1994).

Il faut également mentionner que l'ET-1 diminue le taux d'AMP cyclique dans les fibroblastes en culture (Takuwa et al, 1989) ou dans les myocytes isolés (Hilal-Dandan et al, 2000). Cependant, les conséquences physiologiques qui leur sont associées restent à déterminer. De plus, l'activation de l'échangeur Na^+/H^+ dans les cellules endothéliales de capillaires cérébraux se produit par un mécanisme non élucidé, indépendamment d'une augmentation de calcium et d'une activation de la protéine kinase (Vigne et al, 1991). Egalement, dans les myocytes isolés à partir de rats nouveau-nés, l'endothéline active l'échangeur Na^+/H^+ , provoque une augmentation du volume des cellules, induit l'expression des proto-oncogènes c-fos et c-myc, ainsi que des gènes codant pour les protéines contractiles (Kramer et al, 1991) suggérant un rôle majeur de ces peptides dans la réponse hypertrophique. Enfin, bien que leurs récepteurs ne possèdent pas l'activité tyrosine kinase intrinsèque, les endothélines stimulent la phosphorylation de plusieurs protéines sur des résidus tyrosine. L'une de ces protéines pourrait être l'isoforme γ de la phospholipase C, l'isoforme couplée à certains facteurs de croissance (Zachary et al, 1993).

Par ailleurs, l'ET-1 stimule la phospholipase A_2 (Damron et al, 1993; Wu-Wong et al, 1996), avec une libération en cascade de thromboxane A_2 , de

prostacycline, et la phospholipase D (Eskildsen-Helmond et al, 1996; Clerk A et al, 1997). Elle interagit également avec les canaux potassiques ATP-dépendants (Kobayashi et al, 1996; Watanuki et al, 1997)

VII.2 Effets physiologiques

VII.2.1 Rôle en cours de développement

L'ET-1 a un rôle important dans le développement du cœur et des vaisseaux. En effet, les anomalies induites chez les souris "knock-out" pour le gène codant pour la préproET-1 sont létales par anomalies du développement cardio-vasculaire et craniofacial (Kurihara et al 1995). Ces anomalies de développement ont été retrouvées dans des études précliniques avec les antagonistes des récepteurs ET_A, mettant en évidence le rôle important de la stimulation de ce récepteur lors du développement du cœur et des gros vaisseaux. Du fait de ces propriétés, les médicaments antagonistes de l'ET-1 risquent de présenter des effets tératogènes.

VII.2.2 Rôle à l'âge adulte

Deux types d'étude permettent d'évaluer les effets cardio-vasculaires de l'ET-1 : d'une part son administration directe et, d'autre part, par l'administration de ses antagonistes. On peut bloquer l'action de l'endothéline endogène de deux façons : soit en agissant au niveau du récepteur de l'endothéline, soit en bloquant l'action de l'enzyme de conversion de l'endothéline empêchant la transformation de la big-endothéline-1 inactive en endothéline.

L'administration d'ET-1 par voie veineuse chez l'homme produit une élévation de la pression artérielle par augmentation des résistances artérielles périphériques. Cet effet a deux caractéristiques : il est lent, mais prolongé, alors que la demi-vie de l'ET-1 est très courte (inférieure à 5 minutes). L'étude des effets de l'ET-1 chez l'homme est facilitée par les modèles de mesure de débit au niveau des avant-bras avec administration des molécules par voie artérielle humérale. Ces modèles expérimentaux permettent d'étudier l'effet de cette molécule au niveau local, en évitant d'obtenir des concentrations ayant un effet systémique. L'administration d'ET-1 induit une vasoconstriction dose-dépendante qui survient progressivement dans ce modèle (Haynes et al 1994). Cette vasoconstriction est abolie en présence de BQ-123, un antagoniste ET_A alors que l'administration de BQ-123 seul entraîne une importante vasodilatation (Haynes et al 1994; Berrazueta et al, 1997). Ces données suggèrent que la vasoconstriction induite par l'ET-1 est principalement due à une stimulation des récepteurs ET_A situés au niveau des cellules musculaires lisses. Elles mettent surtout en évidence le rôle important de l'ET-1 dans le maintien du tonus vasculaire basal, confirmé par l'effet hypotenseur obtenu lors de l'administration systémique d'un antagoniste mixte ET_A/ET_B (TAK-O44) chez des sujets sains (Haynes et al, 1996). L'administration de BQ-788, un inhibiteur sélectif ET_B , s'accompagne d'une vasoconstriction chez des sujets sains (Love et al, 2000). La résultante de la stimulation des récepteurs ET_B endothéliaux et musculaires est donc une relaxation musculaire lisse, relayée probablement par l'endothélium (Verhaar et

al, 1998). Cette composante peut être altérée dans certaines circonstances telle l'insuffisance cardiaque.

Le phosphoramidon, inhibiteur des métalloprotéases, prévient la vasoconstriction induite par la big-endothéline. Infusé seul il provoque une vasodilatation au niveau de l'avant-bras chez le volontaire sain (Haynes et Webb, 1994).

L'ensemble de ces données souligne le rôle important de l'ET-1 dans le maintien du tonus vasculaire basal et dans la régulation de la pression artérielle chez l'homme.

VII.3 Endothéline-1 et pathologie cardio-vasculaire

La concentration plasmatique d'ET-1 est augmentée dans de nombreux processus pathologiques soit par augmentation de sa production ou par diminution de sa clairance. Différents mécanismes peuvent être impliqués dans son rôle en pathologie cardio-vasculaire. Elle possède un effet vasoconstricteur direct et indirect par l'augmentation du tonus sympathique. Elle potentialise la contraction musculaire lisse à différents vasoconstricteurs (AT_{II} , noradrénaline, vasopressine et sérotonine). De plus, elle possède un effet mitogénique, augmentant la prolifération cellulaire et elle est responsable d'une hypertrophie vasculaire et myocardique. L'implication de l'ET-1 dans différents processus pathologiques et l'intérêt potentiel de ses inhibiteurs ont été étudiés dans de nombreuses pathologies, particulièrement dans l'insuffisance cardiaque et l'hypertension artérielle.

VII.3.1 Insuffisance cardiaque

L'insuffisance cardiaque est une pathologie fréquente pour laquelle la mortalité et la morbidité restent importantes malgré le traitement par inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine. Étant donné ses propriétés proches de celles de l'AT_{II}, l'endothéline est appelée à jouer un rôle important dans l'insuffisance cardiaque.

Bien que l'endothéline plasmatique ne représente qu'une part infime de la quantité d'endothéline présente dans l'organisme, la concentration plasmatique d'endothéline est augmentée dans l'insuffisance cardiaque quelle que soit l'étiologie (Rodeheffer et al, 1992 ; Wei et al, 1994).

Chez l'insuffisant cardiaque la concentration est environ deux à trois fois supérieures par rapport au sujet sain. L'augmentation de la concentration plasmatique d'endothéline-1 est proportionnelle à la gravité de l'insuffisance cardiaque comme pour les autres neurohormones (Cody et al, 1992; Rodeheffer et al, 1992). Le taux plasmatique d'endothéline-1 est corrélé au stade NYHA (New York Heart Association) et au volume télédiastolique du ventricule gauche (Pacher et al, 1996). (Selon la NYHA, la classification de l'IC est divisée en quatre classes : classe I, absence de symptômes; classe II, symptômes survenant pendant une activité habituelle; classe III, symptômes survenant pendant une activité requérant des efforts plus légers; classe IV, symptômes survenant au repos). Tout particulièrement la concentration plasmatique d'endothéline-1 est bien corrélée avec les résistances vasculaires pulmonaires (Cody et al, 1992) et est inversement corrélée à la fraction d'éjection et au débit cardiaque (Krum et al, 1995). Sa concentration plasmatique est également inversement corrélée à la consommation maximale en oxygène à l'effort

(VO_{2max}) (Krum et al, 1995). De même, la production cardiaque d'endothéline est augmentée dans l'insuffisance cardiaque (Cody et al, 1992; Rodeheffer et al, 1992). Comme dans le postinfarctus, l'élévation de l'endothéline-1 plasmatique est un facteur de gravité (Stewart et al, 1991) et est liée au pronostic de l'insuffisance cardiaque (Pacher et al, 1996; Frey et al, 2000).

Les formes circulantes détectées sont constituées principalement du précurseur de l'ET-1, la bigET-1 (Frey et al, 2000); ces données étant en faveur d'une augmentation de la synthèse d'ET-1 ou par la diminution de la capacité d'éliminer d'ET-1 de la circulation sanguine (sa clairance) (Dupuis et al, 1998). De plus, la concentration de bigET-1 est étroitement corrélée à la survie et semble constituer un meilleur paramètre pronostique que les mesures hémodynamiques, la concentration d'ANP et l'activité rénine plasmatique (Pacher et al, 1996).

L'augmentation de la synthèse d'ET-1 est liée probablement à l'hypoxie tissulaire. Avec l'activation neurohormonale, comme l'activation du système rénine-angiotensine et du système sympathique, l'endothéline-1 semble contribuer aux modifications vasculaires pulmonaires et systémiques qui caractérisent l'insuffisance cardiaque.

Dans l'insuffisance cardiaque, on pourrait croire que les récepteurs continuellement exposés à des taux élevés d'endothéline-1 voient leur nombre diminuer (down-regulation). Des données expérimentales montrent au contraire que la densité des récepteurs à l'endothéline est augmentée suggérant que l'endothéline puisse jouer un rôle dans le maintien des performances cardiaques (Ponick et al,

1998). Les récepteurs ET_A cardiaques ne sont pas altérés dans l'insuffisance cardiaque terminale et gardent une fonction normale (Kiowski et al, 1995; Ponick et al, 1998).

De nombreux antagonistes des récepteurs de l'endothéline sont en cours de développement, le plus avancé actuellement est le bosentan (un inhibiteur mixte) qui est en phase 3 dans l'étude REACH-1 (Mylona et Cleland, 1999). Plusieurs autres produits sont en phase 2 que ce soit des antagonistes mixtes ou sélectifs des récepteurs ET_A. Chez des insuffisants cardiaques en stade NYHA III, l'administration intraveineuse de bosentan a entraîné non seulement une réduction de la pression artérielle systolique, de la pression artérielle pulmonaire et des résistances vasculaires pulmonaires, mais aussi une augmentation de l'index cardiaque d'environ 14%. Cet effet bénéfique est obtenu sans tachycardie réflexe du fait de l'absence de stimulation neurohormonale (pas d'augmentation des taux sériques de noradrénaline ou d'angiotensine-II) (Kiowski et al, 1995). Ces données ont été confirmées par une étude incluant des patients insuffisants cardiaques traités par bosentan par voie orale pendant 2 semaines (Sutsch et al, 1998).

Le blocage du système de l'endothéline pourrait également ralentir la progression de la maladie. Chez le lapin devenu insuffisant cardiaque par tachycardie, l'administration d'un inhibiteur spécifique des récepteurs ET_A dès le début de la tachycardie entraîne, par comparaison au placebo, une moindre dilatation ventriculaire et une meilleure fraction de raccourcissement (Spinale et al, 1997). Ce ralentissement de la progression de la maladie s'accompagnerait d'un effet favorable

sur le pronostic. Il a été montré récemment chez le rat insuffisant cardiaque par ligature coronaire qu'un inhibiteur sélectif des récepteurs ET_A améliore le pronostic à long terme (Sakai et al, 1996). Cette amélioration du pronostic s'accompagne d'une amélioration hémodynamique avec un effet favorable sur le remodelage ventriculaire (Mulder et al, 1997).

De plus, dans le même modèle de rat insuffisant cardiaque (par ligature coronaire), l'administration de bosentan (antagoniste ET_A/ET_B; à la dose de 100 mg/kg/jour) par la voie orale, débuté 7 jours post-infarctus, entraîne une augmentation de la survie des rats infarctés au cours d'un traitement chronique (survie de 65% versus 43% dans le groupe témoin à 9 mois) (Mulder et al, 1997). Ce gain de survie est comparable à celui obtenu dans le même modèle avec les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine.

Chez l'homme, l'administration locale (par voie humérale) de BQ-123 ou de phosphoramidon chez des patients insuffisants cardiaques traités par inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine entraîne une vasodilatation (Love et al, 1996). Les mêmes auteurs ont montré que l'administration locale d'ET-1 chez l'insuffisant cardiaque entraîne une vasoconstriction moindre que celle des sujets sains, l'effet étant supérieur à la normal lors de l'administration de sarafotoxine S6c (agonist ET_B) (Love et al, 1996). Ces données seraient expliquées par une régulation à la baisse "*down-regulation*" des récepteurs de type ET_A, et un "*up-regulation*" des récepteurs ET_B au niveau vasculaire dans l'insuffisance cardiaque associée à une dysfonction endothéliale affectant la réponse relaxante relayée par la stimulation des

récepteurs ET_B (Dagassan et al, 1996). Au niveau myocardique, la réponse fonctionnelle des récepteurs ET_A semble conservée (Ponicke et al, 1998).

Les thérapies inhibant le système de l'ET-1 apparaissent donc très intéressantes dans l'insuffisance cardiaque. Les antagonistes de l'ET-1 sont actuellement privilégiés, du fait de l'absence d'inhibiteurs spécifiques de l'enzyme de conversion de l'endothéline. Des essais thérapeutiques sont en cours afin de déterminer si les effets bénéfiques obtenus à court terme avec les antagonistes de l'endothéline seront confirmés en termes d'efficacité et de tolérance lors de traitements à long terme dans l'insuffisance cardiaque sévère.

VII.3.2 Hypertension artérielle

Contrairement à l'insuffisance cardiaque, le rôle du système des endothélines reste controversé dans l'hypertension artérielle. Les concentrations sériques d'ET-1 ne sont pas augmentées dans la majorité des modèles expérimentaux d'hypertension artérielle chez l'animal, ou dans l'hypertension artérielle essentielle humaine, et la réponse vasoconstrictrice des vaisseaux résistifs à l'ET-1 est diminuée. Cependant, les concentrations tissulaires peuvent être augmentées dans certains modèles expérimentaux (Brunner, 1998) et les concentrations sériques d'ET-1 sont élevées dans l'hypertension artérielle maligne, la prééclampsie et l'hypertension artérielle associée à une insuffisance rénale (Shichiri et al, 1990; Florijn et al, 1991). L'administration d'ET-1 est responsable d'une vasoconstriction et d'une élévation de la tension artérielle chez l'animal comme chez l'homme, et cet effet est additif lors de l'administration conjointe d'angiotensine-II (Yoshida et al, 1992).

L'administration d'antagonistes de l'ET-1 à des rats hypertendus réduit la pression artérielle de façon très variable selon le modèle utilisé et la molécule testée (Brunner, 1998) tandis que des résultats favorables et additifs aux inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine ont été obtenus dans un modèle canin d'hypertension (Donckier et al, 1991; 1997).

Chez l'homme, l'administration par la voie orale de bosentan à la posologie de 500 ou de 2000 mg/jour pendant 4 semaines chez des patients hypertendus s'est révélée aussi efficace que l'administration d'énalapril en termes de réduction de la pression artérielle diastolique (Krum et al, 1998). Cette réduction tensionnelle a été obtenue sans stimulation du système rénine-angiotensine ou du système sympathique. Dans cette étude, les effets indésirables du bosentan à la posologie de 2000 mg/jour étaient de 43% versus 37% dans le groupe placebo. Ces effets sont principalement la céphalée, des oedèmes des membres inférieurs, et plus rarement la cytolysé hépatique.

VII.3.3 Coronaropathies

Une augmentation de la concentration sérique d'ET-1 a été retrouvée à la phase aiguë de l'infarctus, de l'angine de poitrine instable et de l'angioplastie transluminale (Stewart et al, 1991; Ray et al, 1992; Ameli et al, 1993). De plus, l'immunoréactivité de l'ET-1 tissulaire est augmentée dans les lésions athéroscléreuses associées à un angine de poitrine instable comparativement à celles associées à un angine stable (Zeihner et al, 1995). Comme dans l'insuffisance cardiaque, la concentration d'ET-1 plasmatique est un marqueur pronostique post-infarctus, la mortalité à 1 an étant

étroitement corrélée à la concentration sérique d'ET-1 mesurée au 3^e jour d'un infarctus du myocarde (Omland et al, 1994). L'effet vasoconstricteur d'ET-1 décrit précédemment est retrouvé au niveau coronarien chez l'homme (Pernow et al, 1996). L'administration d'antagonistes de l'endothéline diminue l'étendue de l'infarctus dans un modèle canin d'infarctus du myocarde (Grover et al, 1993), ces données étant cependant controversées du fait de résultats discordants avec d'autres études.

L'ensemble de ces données est en faveur d'un rôle actif de l'ET-1 à la fois dans la génération de l'athérosclérose et dans les événements cliniques coronariens, y compris dans les phénomènes de resténose après angioplastie.

VII.3.4 Hypertension artérielle pulmonaire

L'hypertension artérielle pulmonaire est caractérisée par une augmentation des résistances vasculaires pulmonaires pouvant être responsables d'une hypertrophie ventriculaire droite en réponse à la surcharge prolongée en pression. Les étiologies les plus communes sont l'hypoxie des pathologies pulmonaires chroniques, la maladie thromboembolique veineuse, l'insuffisance cardiaque ou les cardiopathies congénitales. L'hypertension artérielle pulmonaire primaire est une pathologie rare et grave, pour laquelle aucune cause n'a été clairement identifiée.

L'hypertension artérielle pulmonaire est associée à l'hypertrophie de la vascularisation pulmonaire aux dépens des cellules musculaires lisses, et plus tardivement à une prolifération intimale. Une dysfonction endothéliale fut observée dans les modèles expérimentaux et semble avoir un rôle important dans la

physiopathologie de l'hypertension artérielle pulmonaire primaire ou secondaire (conséquence de l'insuffisance cardiaque).

Contrairement à l'hypertension artérielle systémique, l'augmentation de la concentration d'ET-1 plasmatique est clairement établie dans l'hypertension artérielle pulmonaire humaine (Stewart et al, 1991; Druml et al, 1993; Langleben et al, 1993). Comme dans l'insuffisance cardiaque, cette augmentation semble principalement liée à une augmentation de la synthèse d'ET-1 (Stewart et al, 1991), bien que le poumon soit à la fois un site de production et de clairance des endothélines.

L'ET-1 possède une action vasorelaxante à faible dose sur la circulation pulmonaire normale par stimulation des récepteurs ET_B , l'effet vasoconstricteur n'étant obtenu que pour des concentrations élevées. Dans l'hypertension artérielle pulmonaire, cet effet vasorelaxant est aboli, alors que l'effet vasoconstricteur est augmenté, relayé à la fois par les récepteurs ET_A et ET_B (Eddahibi et al, 1993; 1995). En plus de ces effets vasomoteurs, l'ET-1 possède une action mitogénique au niveau des cellules musculaires lisses humaines (Zamora et al, 1993). Du fait de son action à la fois sur la vasomotricité et la prolifération des cellules musculaires lisses artérielles pulmonaires et de son augmentation de synthèse locale, l'ET-1 est apparue comme un agent potentiellement important dans la physiopathologie de l'hypertension artérielle pulmonaire.

Dans des modèles animaux d'hypertension artérielle pulmonaire induite par la monocrotaline ou par l'hypoxie, l'administration d'antagonistes ET_A ou mixtes entraîne une diminution à la fois de l'hypertension artérielle pulmonaire mais

également des lésions anatomiques. Ces résultats semblent prometteurs et l'antagonisme du système des endothélines représente une nouvelle approche thérapeutique de l'hypertension artérielle pulmonaire actuellement en cours d'évaluation chez l'homme.

Chapitre 2

I. Phénomène de cicatrisation de la zone infarctée après infarctus du myocarde.

Après un infarctus, les mécanismes compensatoires à court et à long termes sont activés pour compenser la perte de la structure cardiaque. Ces mécanismes compensatoires induisent des changements structuraux qui ne sont pas cependant limités à la zone infarctée, mais également au myocarde sain. Durant la phase aiguë de l'infarctus, le remodelage de la zone infarctée est activé, comprenant l'expansion de la zone infarctée, la réparation tissulaire et le processus de cicatrisation (Hochman et Bulkley, 1982). Plus tard, la cicatrice est stabilisée mais la dilatation ventriculaire peut se produire davantage en raison de l'hypertrophie excentrique du myocarde restant (Braunwald et Pfeffer, 1991).

La plupart des études thérapeutiques expérimentales post-infarctus ont porté sur le remodelage cardiaque au niveau du myocarde sain. Cependant, les données récentes chez l'animal et chez les humains démontrent l'importance de la zone infarctée elle-même comme cible potentielle pour l'intervention thérapeutique post-infarctus (Cannon et al, 1985; Jugdutt et al, 1989; Frimm et al, 1996). Contrairement à la pensée générale laquelle préconise que la cicatrice est juste un tissu mort, il semble que le processus de cicatrisation s'avère être actif et bien contrôlé. En outre, les interventions dans le processus de cicatrisation semblent affecter la fonction cardiaque (Jugdutt, 1993). Par conséquent, il est possible que les changements de la structure de la zone infarctée peuvent être d'une importance majeure pour l'entretien de la fonction cardiaque.

Bien que nous sachions que la fonction et la structure cardiaques soient étroitement liées et que toutes les deux changent après un infarctus, il reste beaucoup à connaître sur la façon dont ces changements interagissent pour causer la réduction de la fonction cardiaque post-infarctus. Aussi, il n'est pas clair quelle composante structurale devrait être visée par les traitements pharmacologiques pertinents post-infarctus.

Récemment, l'ET-1 tissulaire a été démontrée en grande concentration dans la zone infarctée (Oie et al, 1997). De plus, un plus grand nombre de récepteurs de l'endothéline et de l'enzyme de conversion de l'endothéline est observé dans les fibroblastes cardiaques et les cellules inflammatoires lors du processus de cicatrisation (Tonnessen et al, 1998; Kobayashi et al, 1999). Ces observations suggèrent un rôle de l'ET-1 dans le processus de cicatrisation de la zone infarctée. Par conséquent, dans ce travail nous explorons le rôle potentiel de l'ET-1 lors de la réparation tissulaire post-IM. Notre hypothèse est la suivante: le système endothéline est essentiel pour la réparation tissulaire, et le blocage de ce système lors de la période active de guérison empêche ou retarde ce processus de cicatrisation et ainsi modifie le remodelage cardiaque et sa fonction ventriculaire. L'infarctus du myocarde est induit par ligation de l'artère coronaire interventriculaire descendante et l'inhibition chronique du récepteur ET_A de l'endothéline débute 20 heures après l'opération de l'infarctus afin d'intervenir dans le remodelage de la zone infarctée.

II. Endothelin-A Receptor Blockade Causes Adverse Left Ventricular Remodelling but Improves Pulmonary Artery Pressure Postinfarction in the Rat

Quang Trinh Nguyen, Peter Cernacek, Angelino Calderone, Duncan J. Stewart,
Pierre Picard, Pierre Sirois, Michel White, Jean L. Rouleau

Circulation 98, 2323-2330 (1998)

Abstract

Background Endothelin A (ET_A) receptor antagonists have been shown to improve ventricular remodelling and survival in rats when started 10 days postinfarction. Whether starting them earlier would have a more or less beneficial effect is uncertain.

Methods Rats surviving an acute myocardial infarction (MI) for 24 hours (n=403) were assigned to saline or the ET_A receptor antagonist LU 127043 or its active enantiomer LU 135252 for 4 weeks.

Results Chronic LU treatment had no effect on survival with 46% of LU rats and 47% of saline-treated rats with large MI surviving to the end of the study. LU treatment led to scar thinning, further left ventricular (LV) dilatation, an increase in LV end diastolic pressure and an increase in wet lung weight, $P < .05$. Despite this detrimental effect on LV function, LU led to a significant decrease in right ventricular (RV) systolic (50 ± 2 to 44 ± 2 mm Hg, $P < .05$ versus saline) and right atrial pressures. LU treatment also prevented the increase in pulmonary ET-1 found in saline-treated rats with large MI but did not modify the increase in cardiac ET-1 in hearts with large MI.

Conclusions The early use of the ET_A receptor antagonists LU 127043 or its active enantiomer LU 135252 postinfarction in the rat leads to impaired scar healing, to LV dilatation and dysfunction. This is accompanied by a decrease in RV systolic and right atrial pressures and a decrease in pulmonary but not cardiac ET-1 levels. It

would thus appear that the early use of ET_A receptor antagonists postinfarction may be detrimental.

Introduction

Endothelin-1 (ET-1) is an endothelial-derived powerful vasoconstrictor substance¹ that also has positive chronotropic and inotropic myocardial effects.¹⁻³ Its long-term effects include stimulation of myocardial and vascular smooth muscle hypertrophy, interstitial fibrosis, and myocardial cell injury.³ In acute myocardial infarction (MI), ET-1 levels increase markedly and their elevation is associated with MI size and a poor prognosis.⁴ In chronic congestive heart failure, systemic and cardiac ET-1 levels increase significantly.⁵ In heart failure, the non-specific ET_A + ET_B receptor antagonist Bosentan and selective ET_A receptor antagonists have generally been shown to have beneficial acute and long-term hemodynamic effects, although there have been exceptions.⁶⁻¹³

Most commonly heart failure occurs as the result of a MI.¹⁴ In large MI, during the first few postinfarction days, there can be stretching of the scar (scar expansion)¹⁴ which leads to ventricular dilatation and further reduction of the pumping ability of the heart. Later, the scar is stabilized but further ventricular dilatation can occur as a result of eccentric hypertrophy of the remaining myocardium.¹⁴ This dilatation of the ventricle has been shown to be closely related to the long-term prognosis of patients postinfarction.¹⁴ Results of experimental studies done by one group using the specific ET_A receptor antagonist BQ-123 suggest that ET_A receptor blockade is beneficial in

this situation when started 10 days postinfarction.^{4,10} More recently, another group has found that the use of an ET_A receptor antagonist could cause excessive ventricular dilatation when started within 24 hours of an MI.¹³ Clearly, more work is necessary in the area of ET-receptor antagonism and postinfarction evolution to help clarify the importance of the timing of initiation of ET-receptor antagonists. In this study, we investigated the effects of the specific ET_A receptor antagonists LU 127043¹⁶ and its active enantiomer LU 135252¹⁷ started within 24 hours of an acute MI in rats and continued for 4 weeks thereafter.

Methods

Animals

Male Wistar rats (Charles Rivers, St-Constant, Quebec, Canada) 7 weeks of age weighing 200 to 250 g, were selected. The use and care of laboratory animals was according to the Canadian Council for Animal Care and were approved by the Animal Care Committee of the Montreal Heart Institute.

MI Operation Procedure

MI was induced by ligating the left anterior coronary artery as described previously.¹⁸ There was a high peri-infarction mortality with 41% dying within 24 hours of the operative procedure.

Treatment Interventions

On the day following the operation (approximately 20 hours postoperation), surviving animals were randomized into three groups as follows: 1) operated rats + 0.9% saline; 2) operated rats + LU 127043 or its active enantiomer LU 135252, with the treatment stopped for 2 days before the hemodynamic measurements; and 3) operated rats + LU 135252 given continuously until the time of sacrifice (Fig 1). LU 135252 and LU 127043 are essentially the same selective ET_A receptor antagonist [(+)-(5)-2-(4, 6-dimethoxy-pyrimidin-2-yloxy)-3-methoxy-3, 3-diphenyl-propionic acid] produced by Knoll AG (Ludwigshafen, Germany), LU 135252 being the active enantiomer of LU 127043.^{16,17} All rats received twice daily gavage with 60 mg/kg/day of LU 135252 or vehicle (0.9% saline), except for rats receiving LU 127043 at 100 mg/kg/day in the drinking water. Results with LU 127043 and LU135252 were similar and thus considered together.

The Chronic Hemodynamic Effects of LU

The hemodynamic studies evaluating the chronic effects of LU were done 4 weeks postinfarction. Rats were anesthetized with a gas mixture containing 100% oxygen and halothane reduced from 2% to 0.5-0.8% 15 minutes before left and right heart hemodynamic recordings were measured by a microtip pressure transducer catheter (model SPR-407, 2F, Millar Instrument, Houston, TX) as previously described.²⁸ Rats that died after 72 hours but prior to the hemodynamic study had morphologic

assessment of MI size but were not used for other measurements except for survival. Those dying between 24 and 72 hours were assumed to have had a large MI.

Passive Pressure-Volume Relationship and Ventricular Remodelling

A first group of rats (n=73) were used to assess LV remodelling. First, the passive pressure-volume relationship of these hearts were assessed as previously described,¹⁸ and the heart filled with saline to a pressure of 15 mm Hg, sealed and fixed in formalin. The heart was then cut halfway (middle) between the base and apex and slices prepared for histologic study, as previously described.¹⁸ A large MI was defined as involving $\geq 45\%$ of LV circumference, and a sham or small infarction as involving $\leq 20\%$. Hearts with a moderate infarction ($>20\%$ to $<45\%$), were excluded as there were too few of them for meaningful analyses. The surface of the scar cross-section was obtained by planimetry and divided by scar length in order to obtain an assessment of average scar thickness.

Assessment of Cardiac Hypertrophy

A second group of rats (n=155) was used to assess the degree of cardiac hypertrophy and endothelin and atrial natriuretic peptide (ANP) levels. After the hemodynamic protocol was completed, 6 mL of blood was collected via the right jugular vein. The lungs were removed and perfused with saline to remove any residual blood, the heart was then rapidly excised and divided into right and left atria, right ventricle, left

ventricle (including septum), and the scarred area. Each tissue was then weighed individually. The scarred area surface was determined by planimetry. Rats were divided into sham or small MI, or large MI according to whether they had a scar to body weight ratio <0.1 mg/g or >0.2 mg/g. This was based on a relationship between the scar to body weight ratio and LVEDP. Rats with a large MI based on a scar to body weight ratio >0.2 mg/g had hemodynamic values similar to those with a large MI based on a $\leq 45\%$ scar circumference (data not shown).

Assessment of Plasma and Tissue Endothelin Levels

The plasma endothelin concentration and the endothelin concentration of the lungs, the right ventricle, the viable portion of the left ventricle and the scar were determined by previously established methods.¹⁹ PreproET-1 mRNA levels in the viable portion of the LV were measured using a ribonuclease protection assay (RPA) kit from Ambion Inc. (Austin, TX) (RPA II). Samples were then electrophoresed on a vertical Novex system for 2 hours at 150 volts, transferred on a positively charged nylon membrane where they were crosslinked by high energy ultra-violet radiation. The biotin moiety on the protected probes was revealed using standard streptavidin alkaline phosphatase coupled with CDP-Star (BrightStar BioDetectKit; Ambion Inc.). The resulting chemiluminescent reaction was exposed on BioMax Kodak films (Rochester, NY) for 1 to 4 hours. A low molecular weight RNA ladder (0.15-1.7 kb; Gibco BRL, Burlington, Ontario, Canada) incorporated on every gel enabled us to accurately identify expected bands at 499 and 313 bases, for preproET-1 and β -actin,

respectively. The intensity of preproET-1 bands was quantified by densitometry (GS-700, Biorad, Mississauga, Ontario, Canada) and normalized relative to the β -actin density.

Assessment of Cardiac Prepro ANP mRNA and Plasma Angiotensin II Levels

Plasma angiotensin II levels were measured as previously described.¹⁸ Cardiac prepro ANP mRNA was measured as previously described.²⁰ The mRNA level of prepro ANF was normalized to the level of 28S rRNA to correct for potential differences in the amount of RNA loaded and/or transferred.

Immunocytochemical Analysis

A polyclonal antiserum against human ET-1 was obtained from Peninsula Laboratories. The avidin-biotin-peroxidase complex method was used. Negative controls were performed by replacing nonimmune serum for the primary antibody, or by omitting steps in the avidin-biotin-peroxidase complex procedure.

Statistical Analysis

All values were expressed as mean \pm SEM. Results were compared by using a two-tailed student's *t* test for unpaired data and by analysis of variance followed by Dunnett's test when appropriate. Statistical significance was assumed at $P < .05$. Kaplan-Meier survival curves over the whole follow-up were constructed and the curves compared by the generalized Savage (Mantel-Cox) test.

Results

Effects of ET_A Receptor Antagonists on Survival

The survival of sham-operated or small MI rats, whether saline- or LU-treated, was excellent. Overall mortality in rats with large MI was similar in the two treatment groups, with approximately 47% of rats treated with saline surviving and 46% of rats treated with LU surviving the 4-week study (Fig 2).

The Chronic Hemodynamic Effects of LU

No difference in the hemodynamic characteristics of rats with sham operation or small MI were noted between the various treatment groups (Table 1). However, in rats with large MI, RV systolic pressure was significantly decreased in the LU group in which the medication was continued until sacrifice ($P < .05$) as compared with the saline-treated group (Table 1). This occurred despite a significant increase in left ventricular end diastolic pressure (LVEDP) in the LU stop group as compared to the saline large MI group. A tendency towards an increase in LVEDP was noted in the LU continuous group. The decrease in RVEDP in the LU continuous group did not reach statistical significance but the decrease in right atrial pressure did. The decrease in these variables in the LU stop group was directionally similar but not statistically significant.

Passive Diastolic Pressure-Volume Relationship

Treatment with LU had no effect on the passive diastolic pressure-volume relationship of sham or small MI rat hearts. As expected, a large MI caused this relationship to be shifted to the right as compared to the sham or small MI groups (Fig 3). The large MI hearts treated with LU had the greatest rightward shift ($P < .05$) indicating greater ventricular dilatation despite similar MI size.

Cardiac Remodelling and Morphologic Studies

The characteristics of cardiac chamber and scar weight as well as scar surface and lung weight are presented in Table 2. In the sham-operated or small MI groups, treatment with LU had no effect on any of these variables. As compared to saline-treated rats with large MI, LU-treated hearts had a significant increase in both RA and LA weight to body ratio, and their wet lung weight to body weight ratio was also increased suggesting greater pulmonary congestion.

In rats that were sham-operated or had small infarctions, no difference in any of the measured morphologic variables between saline and LU-treated groups were identified (Table 3). As compared to saline-treated rats with large MI, LU-treated rats with large MI had a greater increase in epicardial circumference and greater thinning of the scar as reflected by a decrease in cross-sectional scar surface to scar length. Infarct size and other variables were no different between the two MI groups.

Endothelin Concentrations

Plasma ET-1 concentrations were similar in sham-operated or small MI rats regardless of treatment (Table 4). Rats with large MI treated with saline had an elevated plasma ET-1, however, levels were even greater in LU-treated rats with a large MI.

Sham or small MI rats treated with LU had slightly higher pulmonary ET-1 levels than saline-treated sham or small MI rats (Table 4). Rats with large MI treated with saline had the greatest increase in ET-1. LU rats treated with a large MI had no elevation in pulmonary ET-1 levels.

ET-1 and PreproET-1 mRNA levels in the viable portion of the LV of sham-operated or small MI hearts were similar regardless of treatment [0.20 ± 0.3 preproET-1/ β -actin mRNA (n=6) for saline-treated, and 0.23 ± 0.06 preproET-1/ β -actin mRNA (n=6)] (Table 4, Fig 4). The increase in LV ET-1 and preproET-1 mRNA levels in hearts of saline-treated rats with large MI was significant (1.31 ± 0.17 preproET-1/ β -actin mRNA, n=5, $P < .02$) and similar to that of hearts of LU-treated rats with large MI (0.96 ± 0.17 preproET-1/ β -actin mRNA, n=6). RV ET-1 levels were similar to those of the LV in all four groups. The highest levels of tissue ET-1 levels were, however, found in the scar of hearts with a large MI regardless of treatment group.

Cardiac Prepro ANP mRNA and Plasma Angiotensin II

Cardiac prepro ANP mRNA expression was increased in the RV and LV of both groups with large MI (Fig 5), the increase in LU-treated hearts being greatest.

Plasma angiotensin II decreased in LU 135252 continuously treated rats with sham or small MI as compared to the saline group (Fig 5). Plasma angiotensin II was increased similarly in saline and LU 135252 continuously treated rats treated with large MI, but increased even more when LU 135252 was stopped.

Immunocytochemical Analysis

ET-1 immunoreactivity was found to be very low in the myocardium of sham-operated controls (Fig 6). However, ET-1 immunoreactivity was markedly increased in the viable myocardium of failing hearts with large MI. This was true for rats receiving saline or LU.

Discussion

This study demonstrates that the early and sustained use of the orally active ET_A receptor antagonists LU 127043 and its active enantiomer LU 135252 postinfarction in the rat results in detrimental healing of the scar. This in turn leads to excessive ventricular dilatation, and LV dysfunction. These changes are accompanied by an increase in cardiac prepro ANP mRNA levels and, when LU is stopped, an increase in plasma angiotensin II. The early and sustained use of orally active ET_A receptor antagonists was, however, associated with beneficial effects on pulmonary pressures

and prevented the increase in pulmonary ET-1 levels found with a large MI. Despite this, there was no improvement in RV or left and right atrial hypertrophy. The end result was no change in survival. Taken together, these findings suggest that ET_A receptor antagonists should not be started early postinfarction as they may lead to detrimental ventricular remodelling which in turn could counter the potential beneficial effects that these drugs may have when used long-term in this model of heart failure.¹⁰ It would nevertheless appear that these agents may be useful in attenuating the pulmonary hypertension associated with LV dysfunction.

One of the major findings of this study is that ET_A blockade started within 24 hours of an acute MI impairs scar healing contributes to excessive ventricular dilatation and dysfunction. The early use of an ET_A receptor antagonist postinfarction caused the scar to be thinner suggesting that collagen deposition was impaired. Considering the known stimulating effect of ET-1 on fibroblasts,³ the large number of ET_A receptors on fibroblasts,³ the increase in circulating and cardiac ET-1 levels and the marked increase in cardiac preproET-1 mRNA in heart failure,⁵ it should come as no surprise that ET_A receptor antagonists would have this effect. One interesting finding from this study is that the scar had greater ET-1 levels as compared with the rest of the myocardium. This finding is compatible with an important role for ET-1 in maintaining scar integrity. Because starting ET_A receptor antagonists 7 to 10 days postinfarction in this model has been found not to affect the scar, to improve LV remodelling and to prolong survival,¹⁰ it would appear that once

the scar is healed and stable, ET_A receptor antagonists no longer have detrimental effects on the scar or ventricular remodelling.

The only study showing prolonged survival with the non-specific ET receptor antagonist Bosentan also started the drug 1 week postinfarction.⁸ That study, combined with the results of Sakai et al,¹⁰ support the possibility that starting endothelin antagonists after the scar is healed is particularly beneficial. Nevertheless, results by Fraccarollo et al⁷ raise the possibility that non-specific ET receptor blockade may have superior effects on scar healing and thus potentially more favorable effects on postinfarction LV remodelling. They found that starting Bosentan 3 hours postinfarction had no detrimental effects on LV remodelling 8 days later and improved remodelling slightly by 8 weeks postinfarction. Why non-specific blockade should be better than specific ET_A antagonists for scar healing is not obvious as fibroblasts also have ET_B receptors.³⁰ However, as ET_B receptors also stimulate nitric oxide release, and nitric oxide has antiproliferative effects, this mechanism remains a possibility.

The dose of Bosentan used appears to be important for optimal hemodynamic and remodelling effects and for survival.⁸ This raises the possibility that the use of larger doses of LU may have yielded different results than those found in our study. However, the goal of this study was to evaluate the effects of specific ET_A receptor antagonists on postinfarction LV remodelling and larger doses would have reduced the receptor specificity of LU.^{16,17} In pilot studies, we went to great lengths to be certain that the doses of LU used not only blocked the vasoconstrictor effects of ET-

1, but also preserved its receptor selectivity. Nevertheless, our therapeutic regimen of LU was active as it led to significant alterations in plasma and pulmonary ET-1 levels, plasma angiotensin II, LV prepro ANP mRNA levels, LV remodelling and pulmonary pressures.

ET_A blockade decreased pulmonary pressures despite causing an increase in LVEDP in rats with a large MI. Thus, the decrease in pulmonary vascular resistance caused by chronic ET_A blockade is likely greater than that reflected by the decrease in pulmonary systolic pressures, assuming that cardiac output was similar in both groups. Studies by Sakai et al⁹ suggest that ET_A antagonist induced decreases in pulmonary pressures are largely the result of changes in the pulmonary vasculature itself. They found that a decrease in pulmonary pressures was present even after the ET_A receptor antagonist was stopped. That ET_A blockade should have particularly impressive effects on pulmonary pressures is compatible with an important pathophysiologic role of endothelin in the development of pulmonary hypertension in heart failure.⁵

Despite causing LV dilatation and no change in systemic arterial pressure, ET_A blockade was not accompanied by greater LV hypertrophy. This suggests that the known stimulatory effect of ET-1 on myocardial hypertrophy was at least partially suppressed by ET_A blockade. However, it would appear that this antihypertrophic effect of ET_A blockade was not sufficient to prevent the development of significant RV and atrial hypertrophy. This is all the more surprising as RV systolic and right atrial pressures were decreased and RVEDP also tended to decrease. We are at a loss

to explain this finding, except for the possibility that the increase in LVEDP produced by LU treatment activated other systems, such as angiotensin II, that preferentially stimulated hypertrophy. Reflex stimulation of vasoconstrictor systems would also help explain the lack of decrease in systemic arterial pressures that occurred despite the use of a known vasodilatory substance. Another possibility is that the decrease in right sided pressures was too modest to be translated to a measurable reduction in RV hypertrophy.

In this study, LU was found to suppress angiotensin II plasma levels in sham to small MI rats. Unfortunately this beneficial effect was lost in rats with large MI and, in LU-treated rats with large MI when LU was stopped, angiotensin II levels were at their highest, a finding compatible with more severe LV dysfunction.

Acknowledgments

This work was supported by the Medical Research Council of Canada and Knoll Pharmaceuticals, Toronto, Ontario, Canada.

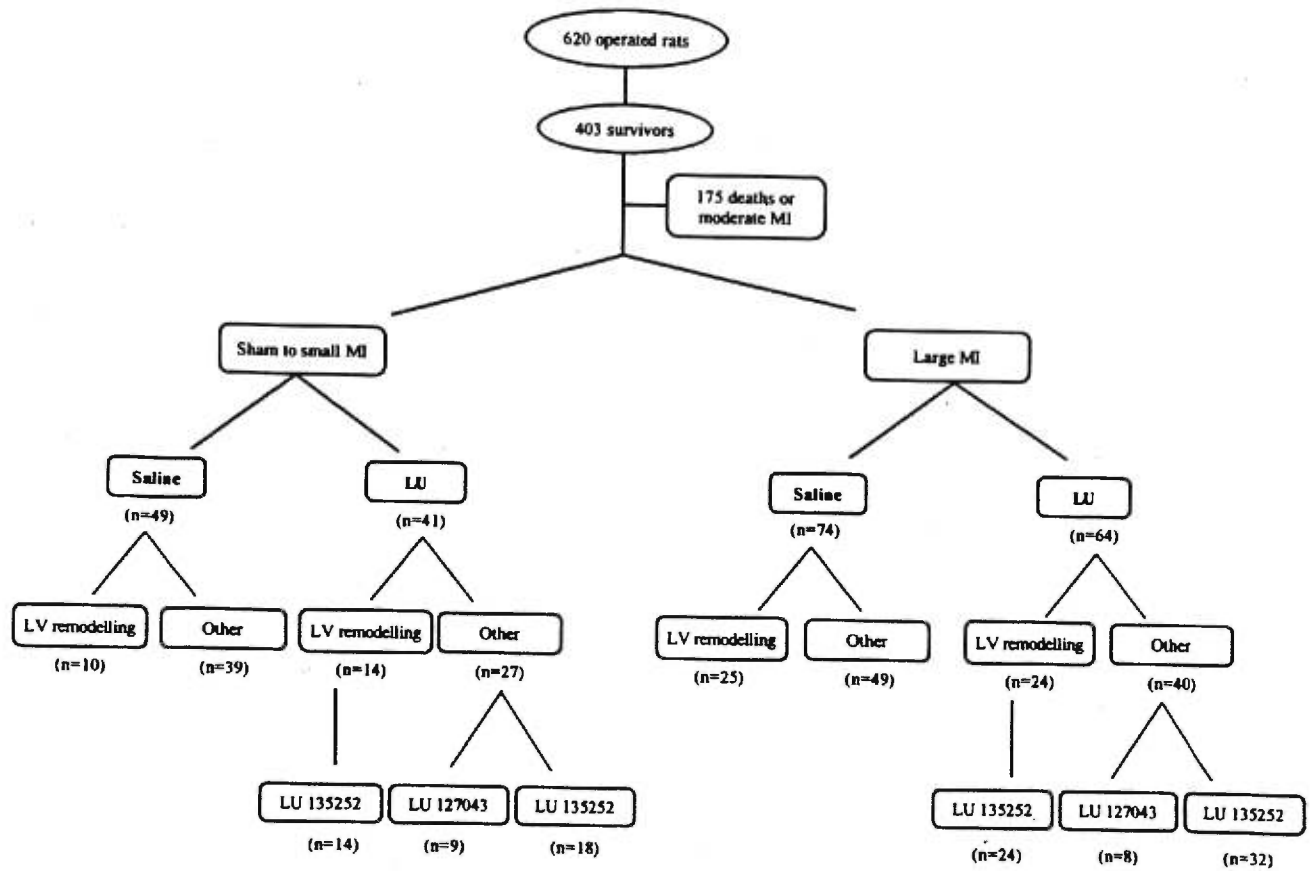
References

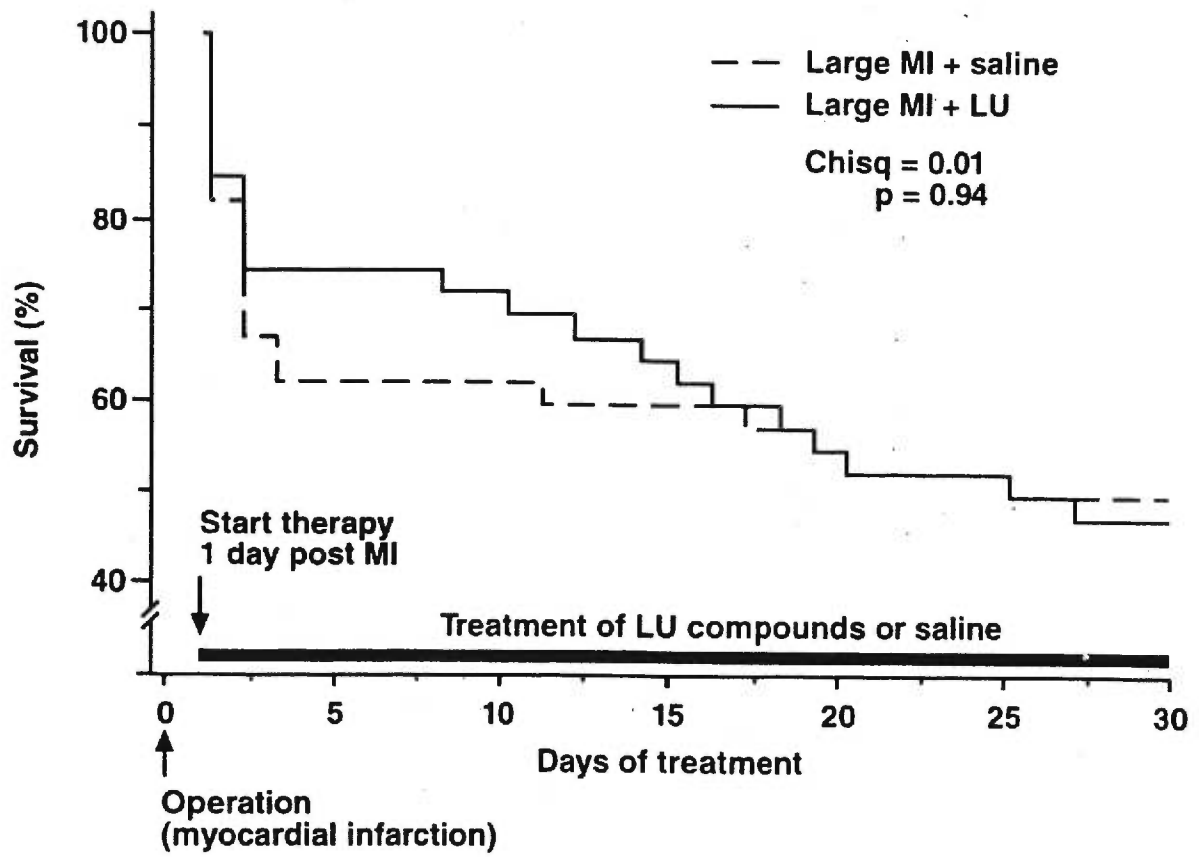
1. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomobe Y, Kobayashi M, Mitsui Y, Yazaki Y, Goto K, Masaki T. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature*. 1988;332:411-415.
2. Li K, Stewart DJ, Rouleau JL. Myocardial contractile actions of endothelin-1 in rat and rabbit papillary muscle. Role of endocardial endothelium. *Circ Res*. 1991;69:301-312.

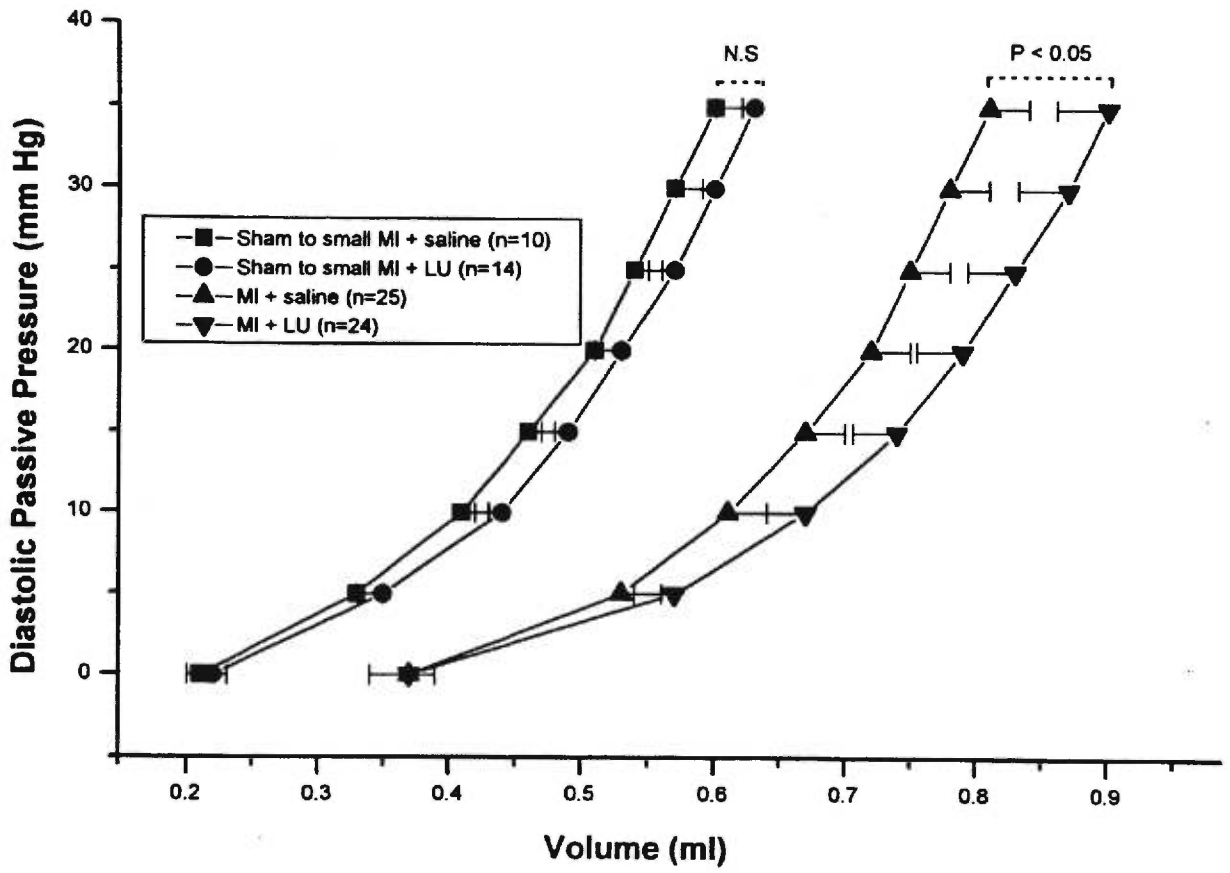
3. Rubanyi GM, Polokoff MA. Endothelins: Molecular biology, biochemistry, pharmacology, physiology, and pathophysiology. *Pharmacol Rev.* 1994;46:325-415.
4. Omland T, Lie RT, Aakvaag A, Aarkand T, Dickstein K. Plasma endothelin determination as a prognostic indicator of 1-year mortality after acute myocardial infarction. *Circulation.* 1994;89:1573-1579.
5. Cody RJ, Haas GJ, Binkley PF, Capers Q, Kelley R. Plasma endothelin correlates with the extent of pulmonary hypertension in patients with chronic congestive heart failure. *Circulation.* 1992;85:504-509.
6. Sutch G, Hunziker P, Kim JH, Bryzinski B, Schlatter P, Bertel O, Kiowski W. The effect of prolonged endothelin-antagonist therapy with bosentan in severe chronic heart failure. *Eur J Clin Invest.* 1996;26(suppl. I):A51. Abstract.
7. Fraccarollo D, Hu K, Galuppo P, Gaudron P, Ertl G. Chronic endothelin receptor blockade attenuates progressive ventricular dilation and improves cardiac function in rats with myocardial infarction. *Circulation.* 1997;96:3963-3973.
8. Mulder P, Richard V, Derumeaux G, Hogie M, Henry JP, Lallemand F, Compagnon P, Macé B, Comoy E, Letac B, Thuillez C. Role of endogenous endothelin in chronic heart failure. *Circulation.* 1997;96:1976-1982.
9. Sakai S, Miyauchi T, Sakurai T, Yamaguchi I, Kobayashi M, Goto K, Sugishita Y. Pulmonary hypertension caused by congestive heart failure is ameliorated by long-term application of an endothelin receptor antagonist. Increased

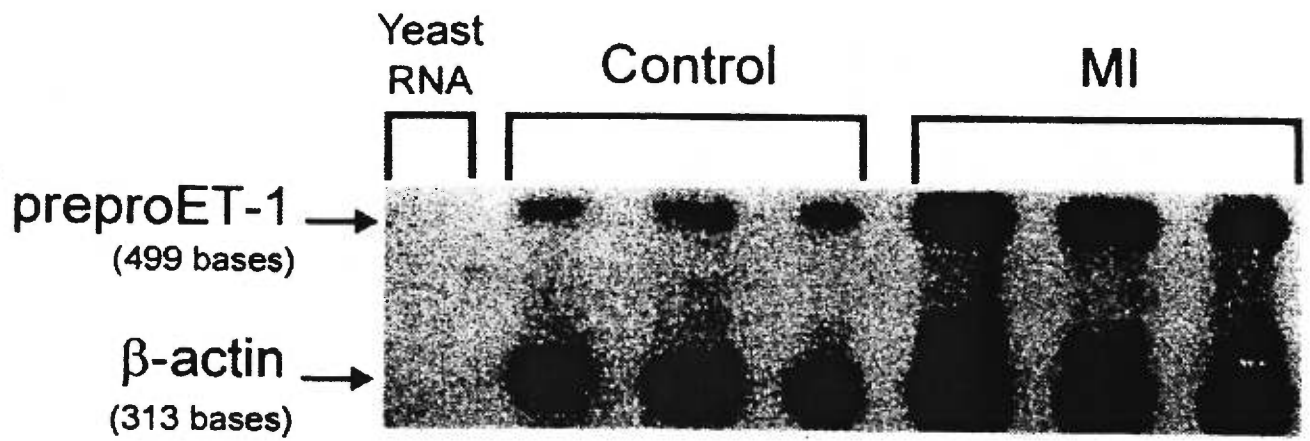
- expression of the endothelin-1 messenger ribonucleic acid and endothelin-1-like immunoreactivity in the lung in congestive heart failure in rats. *J Am Coll Cardiol*. 1996;28:1580-1588.
10. Sakai S, Miyauchi T, Kobayashi M, Yamaguchi I, Goto K, Sugishita Y. Inhibition of myocardial endothelin pathway improves long-term survival in heart failure. *Nature*. 1996;283:353-355.
 11. Sakai S, Miyauchi T, Sakurai T, Kasuya Y, Ihara M, Yamaguchi I, Katsutoshi G, Sugishita Y. Endogenous endothelin-1 participates in the maintenance of cardiac function in rats with congestive heart failure: Marked increased in endothelin-1 production in the failing heart. *Circulation*. 1996;93:1214-1222.
 12. Kiowski W, Sütsch G, Hunziker P, Müller P, Kim J, Oechslin E, Schmitt R, Jones R, Bertel O. Evidence for endothelin-1-mediated vasoconstriction in severe chronic heart failure. *Lancet*. 1995;346:732-736.
 13. Sütsch G, Hunziker P, Kim JH, Bryzinski B, Schlatter P, Bertel O, Kiowski W. The effect of prolonged endothelin-antagonist therapy with Bosentan in severe chronic heart failure. *Eur J Clin Invest*. 1996;26(suppl I):A51. Abstract.
 14. Pfeffer MA, Braunwald E. Ventricular remodelling after myocardial infarction. Experimental observations and clinical implication. *Circulation*. 1990;81:1161-1172.
 15. Pfeffer JM, Finn PV, Pfeffer MA. Endothelin-A receptor antagonism in rats with myocardial infarction and failure. *J Am Coll Cardiol*. 1997;29(suppl. A):399A. Abstract.

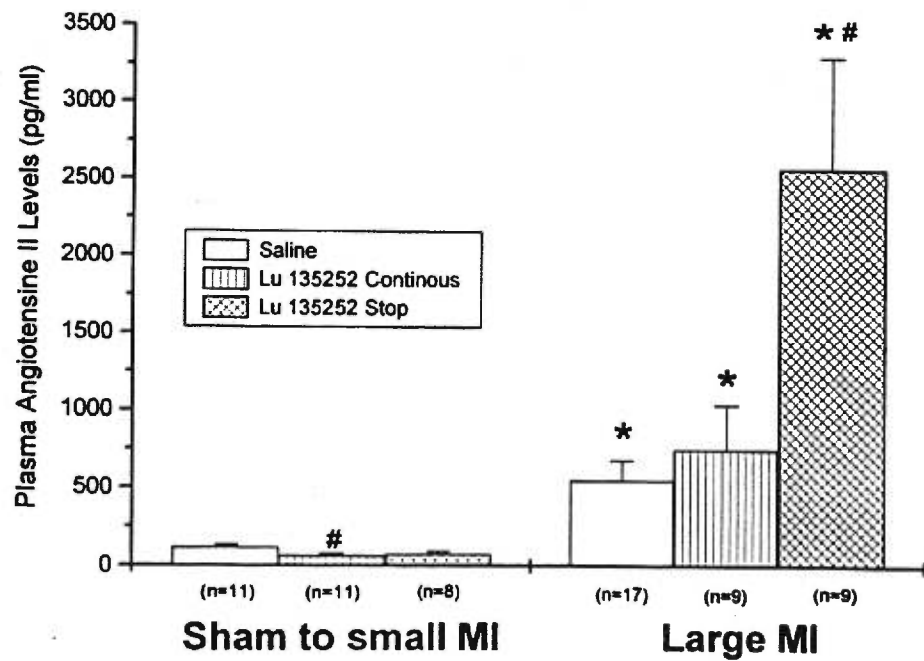
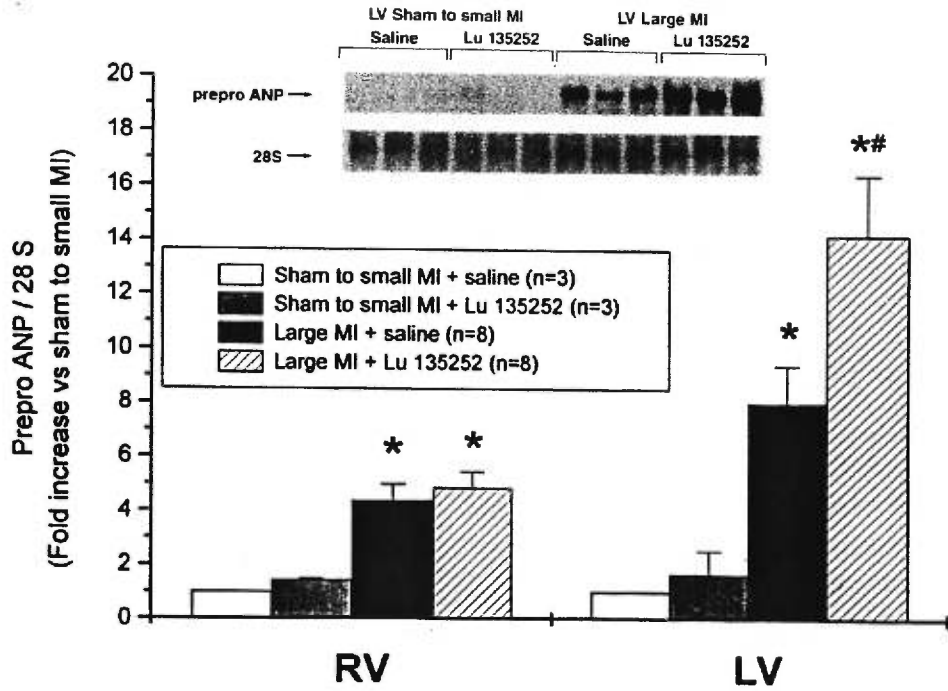
16. Riechers H, Albrecht H, Amberg W, Baumann E, Bernard H, Böhm H, Klinge D, Kling A, Müller S, Raschack M, Unger L, Walker N, Wernet W. Discovery and optimization of a novel class of orally active nonpeptidic endothelin-A receptor antagonists. *J Med Chem.* 1996;39:2123-2128.
17. Münter K, Hergenröder S, Unger L, Kirchengast M. Oral treatment with an ET_A-receptor antagonist inhibits neointima formation induced by endothelial injury. *Pharm Pharmacol Lett.* 1996;6:90-92.
18. Bélichard P, Savard P, Cardinal R, Nadeau R, Gosselin H, Paradis P, Rouleau JL. Marked different effects on ventricular remodelling result in a decrease in inducibility of ventricular arrhythmias. *J Am Coll Cardiol.* 1994;23:505-513.
19. Forbes RD, Cernacek P, Zheng S, Gomersall M, Guttman RD. Increased endothelin expression in a rat cardiac allograft model of chronic vascular rejection. *Transplantation.* 1996;61:791-797.
20. Izzo NJ, Tulenko TN, Colucci WS. Phorbol esters and norepinephrine destabilize α_{1B} -adrenergic receptor mRNA in vascular smooth muscle cells. *J Biol Chem.* 1994;269:1705-1710.











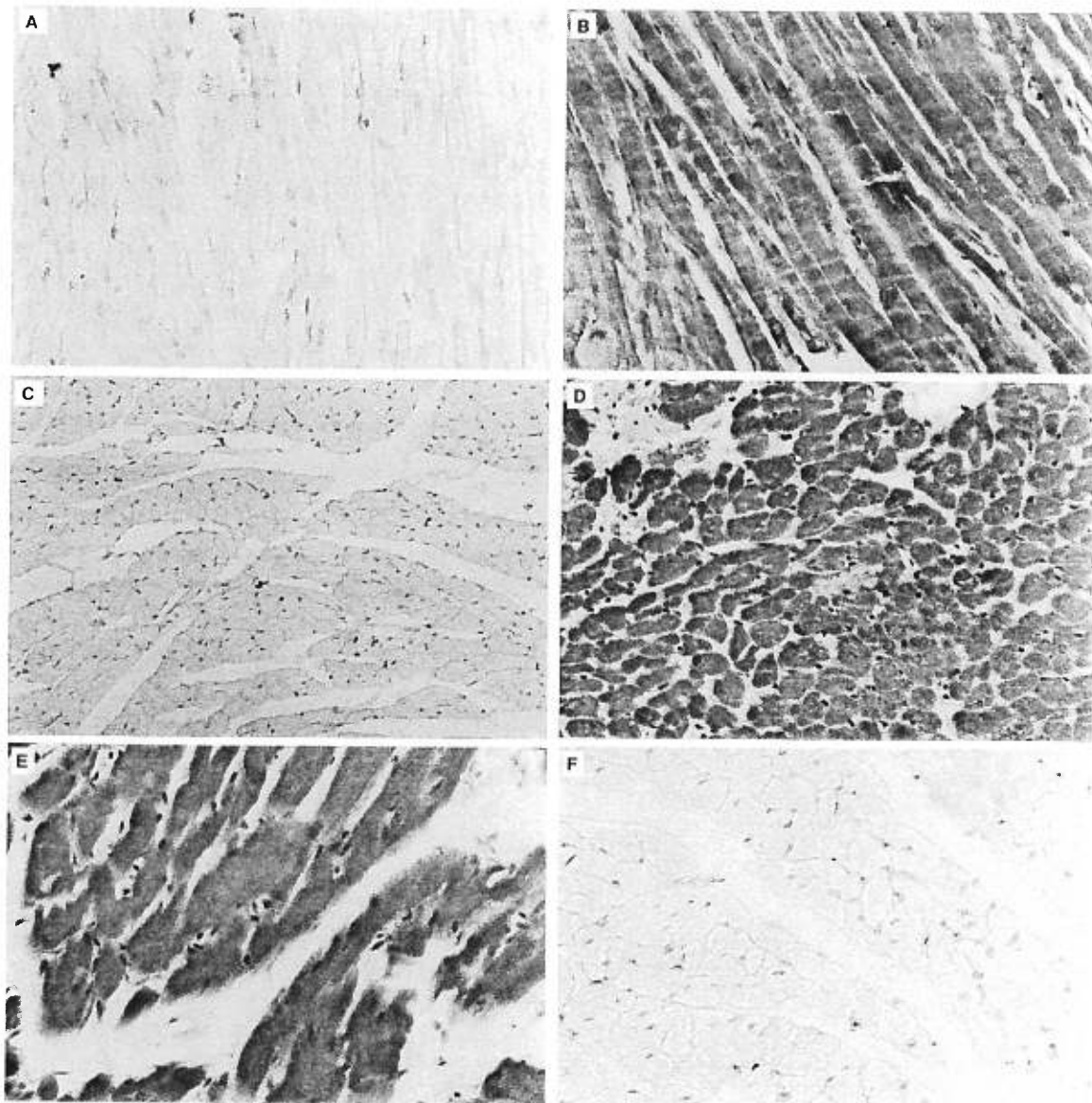


TABLE 1. Hemodynamic Parameters 4 Weeks After Infarction During Therapy

	HR, bpm	RVSP, mm Hg	RVEDP, mm Hg	RV dP/dt, mm Hg/s	LVSP, mm Hg	LVEDP, mm Hg	LV dP/dt, mm Hg/s
Sham or small MI							
Saline solution (n=37)	360±6	26±1	2±0	1196±41	106±2	6±0	4649±125
LU stop 2 days (n=15)	361±10	26±1	2±1	1175±81	108±4	5±1	4658±257
LU continuous (n=26)	376±7	26±1	2±0	1327±79	106±3	6±1	4398±202
Large MI							
Saline solution (n=42)	340±6†	50±2†	14±1†	1469±63†	86±2†	27±1†	2959±134†
LU stop 2 days (n=16)	330±7†	46±3†	13±1†	1336±110	89±2†	32±1*†	2561±159†
LU continuous (n=27)	350±8†	44±2*†	12±1†	1246±66	88±3†	29±1†	2952±158†

HR indicates heart rate; RVSP, RV systolic pressure; and LVSP, left ventricular systolic pressure.

Values are mean±SEM.

* $P<0.05$ vs saline solution.

† $P<0.05$ vs sham or small infarction.

TABLE 2. Morphology Parameters of Heart at Time of Induced Death

	Scar wt/Body wt, mm/g	Scar wt/Surface, mg/mm ²	LV wt/Body wt, mg/g	LA wt/Body wt, mg/g	RV wt/Body wt, mg/g	RA wt/Body wt, mg/g	Lung wt/Body wt, mg/g
Sham or small MI							
Saline solution (n=39)	0.03±0.01	1.26±0.20	2.01±0.03	0.10±0.01	0.55±0.01	0.11±0.01	3.95±0.16
LU (n=27)	0.03±0.01	1.05±0.04	2.07±0.05	0.11±0.01	0.58±0.02	0.12±0.01	3.86±0.01
Large MI							
Saline solution (n=49)	0.35±0.02†	0.74±0.04†	1.91±0.05	0.23±0.01†	1.05±0.04†	0.29±0.03†	6.66±0.46†
LU (n=40)	0.36±0.02†	0.59±0.02*†	1.99±0.04	0.29±0.01†	1.14±0.04†	0.45±0.04*†	8.50±0.37*†

Values are mean ± SEM.

*P<0.05 vs saline solution.

†P<0.05 vs sham or small infarction.

TABLE 3. Morphological Characteristics of Mid-LV Cross Sections

	Infarct Size, %	Epicardial Circumference, mm	Epicardial Myocardial Length, mm	Epicardial Scar Length, mm	Cross-Sectional Scar Surface, mm ²	Cross-Sectional Scar Surface/Scar Length, mm ² /mm
Sham or small MI						
Saline solution (n=10)	0	33.69±0.43	34.28±0.70	0	0	0
LU (n=14)	0.3±0.008	34.91±0.02	34.79±0.01	0.10±0.003	0.08±0.002	0.06±0.002
Large MI						
Saline solution (n=25)	50±1†	35.86±0.68	19.28±0.42†	16.87±0.69†	8.42±0.44†	0.51±0.02†
LU (n=24)	50±1†	37.67±0.49*†	19.69±0.69†	17.97±0.57†	7.86±0.33†	0.44±0.02*†

Values are mean ± SEM.

*P<0.05 vs saline solution.

†P<0.05 vs sham or small MI.

TABLE 4. Plasma and Tissue ET-1

		ET-1			
	Plasma, pg/mL	Pulmonary, pg/mg Protein	LV, fg/mg	RV, fg/mg	Scar, fg/mg
Sham to small MI					
Saline	1.54 ± 0.23 (n=13)	90 ± 2 (n=10)	256 ± 32 (n=7)	280 ± 34 (n=7)	N/A
LU continuous	1.83 ± 0.25 (n=8)	115 ± 4* (n=4)	260 ± 45 (n=4)	276 ± 27 (n=4)	N/A
Large MI					
Saline	2.57 ± 0.30* (n=15)	157 ± 3* (n=11)	615 ± 74* (n=6)	626 ± 54* (n=6)	1826 ± 287‡
LU continuous	5.68 ± 1.10*† (n=10)	114 ± 3*† (n=13)	704 ± 44* (n=9)	653 ± 26* (n=9)	1878 ± 297‡

N/A indicates not applicable. LV, RV, and scar endothelin are per milligram of wet tissue weight.

* $P < 0.05$ compared with saline sham to small MI.

† $P < 0.05$ compared with saline large MI.

‡ $P < 0.001$ compared with viable LV myocardium.

Chapitre 3

I L'hypertension et la fibrose pulmonaire secondaire à l'infarctus du myocarde

L'hypertension et la fibrose pulmonaire sont des complications fréquentes dans l'insuffisance cardiaque congestive. Plusieurs évidences rapportées suggèrent que l'ET-1 puisse être un candidat intéressant comme facteur pathogène dans le tissu pulmonaire.

En plus des effets sur le cœur en défaillance induisant la congestion et l'hypertension artérielle pulmonaire secondaire, l'ET-1 pourrait également jouer un rôle direct pro-congestif dans la circulation pulmonaire en augmentant la perméabilité des capillaires pulmonaires (Poulat et Couture, 1998) et la filtration des liquides transcapillaires ayant pour résultat l'œdème des voies aériennes (Horgan et al, 1991).

À part du rôle vasoconstricteur des vaisseaux pulmonaires (Horgan et al, 1991), menant à l'augmentation ultérieure de pression des vaisseaux et possiblement à l'hypertension artérielle pulmonaire, l'ET-1 pourrait jouer un rôle important dans la progression de la fibrose pulmonaire (Hoche et al, 2000). Lorsque synthétisée et libérée par plusieurs types de cellules résidentes dans le poumon, telle les macrophages alvéolaires, et fibroblastes, l'ET-1 peut agir comme médiateur par ses propriétés chemotactiles et mitogènes à la synthèse de collagène.

La production accrue d'ET-1 et le changement de l'expression des récepteurs de l'endothéline dans les poumons lors de l'insuffisance cardiaque congestive pourraient donc contribuer à l'hypertension et la fibrose pulmonaire. Plusieurs études in vivo ont démontré que le traitement avec des antagonistes de l'ET

empêche l'hypertrophie vasculaire du muscle lisse dans le modèle de rat de DOCA-salt de l'hypertension artérielle et après l'infusion de l'angiotensine II (Moreau, 1998; Schiffrin, 1998). De même, l'administration des antagonistes de l'ET-1 réduit l'ampleur de la fibrose dans les poumons des rats bléomycine-traités (Park et al, 1997). Collectivement, ces observations suggèrent que les antagonistes du récepteur ET-1 peuvent améliorer l'hypertension pulmonaire par l'intermédiaire de la modulation de remodelage vasculaire et de l'expression des protéines de la matrice extracellulaire. À cet égard, la présente étude examine si le développement de l'hypertension pulmonaire est associé au remodelage vasculaire pulmonaire et aux changements du phénotype moléculaire de la fibrose. Deuxièmement, le rôle potentiel d'ET-1 dans ces événements pathophysiologiques a été examiné par l'intermédiaire de l'administration de l'antagoniste du récepteur ET_A de l'endothéline (LU135252), 20 heures post-IM pendant une période de 4 semaines.

II. LU135252, an endothelin_A receptor antagonist did not prevent pulmonary vascular remodeling or lung fibrosis in a rat model of myocardial infarction

Quang Trinh Nguyen¹, Federico Colombo¹, Jean L. Rouleau²,

Jocelyn Dupuis¹, and Angelino Calderone^{*1}

Br J Pharmacol. 2000 Aug 7;130(7):1525-1530.

Abstract

1. The early intervention with endothelin_A (ET_A) receptor antagonists following coronary artery ligation has been shown to reduce the development of pulmonary hypertension, despite a lack of improvement in left ventricular function.
2. The present study examined the contribution of pulmonary vascular remodeling and the progression of lung fibrosis in the development of pulmonary hypertension and the subsequent role of endothelin-1 in these processes in a rat model of myocardial infarction (MI).
3. The administration of 60 mg kg⁻¹ per day of the specific ET_A receptor antagonist LU135253 ((+)-(S)-2-(4,6-dimethoxy-pyrimidin-2-yloxy)-3-methoxy-3,3-diphenyl-propionic acid) 24 hr following coronary artery ligation failed to improve left ventricular contractile indices, but reduced the extent of pulmonary hypertension, as reflected by the significant decrease in right ventricular systolic pressure.
4. The medial wall thickness of small pulmonary arteries (50-200 μm) was significantly increased 4 weeks following MI, albeit LU135253 treatment did not ameliorate this pattern of vascular remodeling.
5. The steady-state mRNA levels of collagen, fibronectin, transforming growth factor-β₁, and -β₃ were significantly increased in the lungs of MI rats. The treatment with LU135252 did not alter this pattern of gene expression.

6. Thus, these data demonstrate pulmonary vascular remodeling and the increased expression of extracellular matrix proteins represent underlying mechanisms implicated in the development of pulmonary hypertension in the MI rat.
7. Despite the amelioration of the pulmonary hypertensive state, ET_A receptor blockade was insufficient to reverse pulmonary vascular remodeling, or the development of lung fibrosis in the MI rat.

Key words: coronary ligation, endothelin-1, ET_A receptor, pulmonary hypertension, pulmonary vascular remodeling, extracellular matrix proteins, transforming growth factor- β

Abbreviations

ET_A; endothelin-A receptor

ET-1; endothelin-1

LU135253; (+)-(S)-2-(4,6-dimethoxy-pyrimidin-2-yloxy)-3-methoxy-3,3-diphenyl-propionic acid

MI; myocardial infarction

PH; pulmonary hypertension

TGF- β ; transforming growth factor- β

Introduction

A common pathophysiological feature of pulmonary hypertension (PH), regardless the etiology, is an increase in the circulating levels of endothelin-1 (ET-1) (Hay, 1999; MacLean, 1999; Stewart, 1993). In left ventricular failure, the most prevalent cause of secondary PH, elevated plasma ET-1 levels were found to relate directly with the severity of PH (Cody et al., 1992). Recent studies have confirmed the contribution of ET-1 in the development of left ventricular dysfunction and PH in the myocardial infarct (MI) rat model. The treatment with an ET receptor antagonist 1 week post-MI reduced mortality, improved cardiac function, and PH (Sakai et al., 1996a). By contrast, the early administration (24-48 hr post-MI), did not have any beneficial effect or exacerbated the contractile dysfunction of the left ventricle, albeit an amelioration of PH was still evident (Sakai et al, 1996b; Nguyen et al., 1998). The apparent paradox with regard to the therapeutic efficacy of ET antagonists on left ventricular contractile function has been attributed to the suggested role of ET-1 in early scar formation and stabilization (Nguyen et al., 1998). Nonetheless, regardless the time frame of ET-1 receptor antagonist administration, the beneficial effect on PH persists in the MI rat model.

The underlying mechanism(s) attributed to the beneficial effect of ET-1 receptor antagonist treatment on the development of PH in the MI rat remains unresolved. Pulmonary vascular remodeling and the progression of fibrosis represent pathophysiological events implicated in the genesis and/or maintenance of PH (Prie et al., 1997; Zhang and Phan, 1996). Indeed, several *in vivo* studies have shown the

LU135252. A dose of 60 mg kg⁻¹ per day of LU135252 was administered twice daily by gavage 24 hr following coronary-ligation or sham-operation for a period of 4 weeks. LU135252 is a novel nonpeptidic selective ET_A receptor antagonist with high oral bioavailability and a long half-life (Münter et al., 1996). This dose and regimen has been previously shown to inhibit the increased expression of lung ET-1 protein levels and myocardial ET-1 mRNA levels, and decrease right ventricular systolic pressure in the MI rat (Nguyen et al, 1998; Picard et al., 1997). Likewise, in the monocrotaline-induced model of pulmonary hypertension, the administration of 50 mg g⁻¹ per day of LU135252 by gavage ameliorated right ventricular systolic pressure and hypertrophy (Prié et al., 1997).

In the present study, the criteria used to categorize a large MI is a scar to body weight ratio > 0.2 mg/g, as previously described, and validated (Nguyen et al., 1998). The use and care of laboratory animals was according to the Canadian Council for Animal Care and approved by the Animal Care Committee of the Montreal Heart Institute.

Hemodynamic Measurements

The hemodynamic profile of each rat was examined at 4 weeks post-infarction, as previously described (Nguyen et al., 1998). Briefly, rats were anesthetized with a gas mixture containing 100% oxygen and halothane reduced from 2% to 0.5-0.8% 15 minutes before left and right heart hemodynamics were

measured by a microtip pressure transducer catheter (model SPR-407, 2F, Millar instrument, Houston Texas).

Northern Hybridization

Following hemodynamic measurements, total lung RNA was isolated by a modification of guanidine thiocyanate-phenol-chloroform extraction method, as previously described (Calderone et al., 1998). Total RNA (20 μ g) was denatured with formaldehyde and formamide, and separated by size electrophoresis on a 1.3% agarose/4% formaldehyde gel, and subsequently transferred to nylon membranes (Genescreen Plus; Dupont-NEN) by vacuum blotting (model 785;Bio-Rad Laboratories).

A 0.985-kb fragment of rat TGF- β_1 (American Type Culture Collection (ATCC); Rockville, Maryland), a 1.2-kb fragment of mouse TGF- β_3 (ATCC), a 0.6-kb fragment of rat fibronectin (courtesy of Dr. R.O. Hynes), and a 0.3-kb fragment of prepro-collagen- $\alpha 1$ (type 1;ATCC) were labeled with 32 P-dCTP (NEN) to a specific activity of $1-2 \times 10^6$ cpm/ng cDNA by the random hexamer (Pharmacia) priming method and hybridized to nylon membranes (Dupont-NEN) for 18-24 hrs at 42°C, as previously described (Calderone et al., 1998). The filters exposed to the cDNA probes were washed twice (15 minutes, room temperature) with 300 mmol/L NaCl/30 mmol/L trisodium citrate and 0.1% SDS and twice (15 minutes, 45°C) with 30 mmol/L NaCl/3 mmol/L trisodium citrate and 0.1% SDS. Nylon membranes were subsequently exposed to Kodak XAR film with an intensifying screen at -70°C, and

films were scanned with a laser densitometer (Chemilmager 4000 I v4.04 software; Alphan Innotech corporation). All levels of mRNA reported in this paper are normalized to the level of 28S rRNA.

Lung vascular morphometry

The pattern of pulmonary arterial bed remodeling was examined in a separate series of experiments. The scar/bw ratio of the MI rats + 0.9% saline was 0.31 ± 0.03 (n=7), and the MI rats + LU135252 was 0.32 ± 0.03 (n=5). The pulmonary artery was injected at 50 cm H₂O pressure with a hot barium-gelatin mixture (60°C) for 3 min, and the airways were distended with 10% formaldehyde solution at a pressure of 36 cm H₂O. The lungs were immersed in an inflated state in 10% formaldehyde solution for at least 2 days. For morphometric analysis, three sections were obtained from each rat lung (from the upper, median and lower parts), stained with hematoxylin and eosin, and microscopically assessed for medial wall thickness of pulmonary arteries. The measurements of luminal diameter and medial thickness on either side (m_1 and m_2) were made along the shortest diameter. Measurements were made at random on 10 muscular arteries (size ranges 50-100, 101-150 and >150 μm in external diameter) per lung section. For each artery, the medial wall thickness was related to the external diameter (d, luminal diameter + media on either side) and expressed as percent wall thickness (%WT) = $\{(m_1 + m_2) / 2d\} \times 100$ (Prie et al., 1997).

Data Analysis. Data are represented as the mean \pm S.E.M. Statistical analysis was performed by Student's unpaired t test (two-tailed), and by analysis of variance followed by Dunnett's test when appropriate. A value of $p < 0.05$ was considered statistically significant.

Results

Morphologic and hemodynamic alterations in the myocardium of MI Rats:

The effect of the ET_A receptor antagonist LU135252.

The ligation of the anterior descending coronary artery resulted in myocyte cell loss, as reflected by the significant decrease in left ventricular weight and scar formation in the MI group, as compared to sham (Table 1). A concomitant hypertrophic response was observed in the right ventricle, and lung wet weight was significantly increased in the MI rat group (Table 1). Left ventricular dysfunction was observed in the MI rat group, as reflected by the decrease in left ventricular systolic pressure, dP/dt index, and an increase in left ventricular end-diastolic pressure (Table 2). Moreover, PH was evident in the MI rat group, as reflected by the significant increase of right ventricular systolic pressure (Table 2). Long-term therapy of the MI rat group with the ET_A receptor antagonist LU135252 resulted in a significant reduction of right ventricular systolic pressure in the MI rats, without a concomitant change in ventricular hypertrophy, lung wet weight, scar size or left ventricular contractile function (Table 2).

Pulmonary artery remodeling in the MI Rats

Morphometric changes of the pulmonary arteries are shown in table 3. The external diameter of the caliber of arteries examined was similar in all sham and MI rats with or without LU135252 treatment. The luminal diameter of 50-100 μm pulmonary arteries was significantly decreased in the MI rats, as compared to sham. By contrast, in the 101-150, and 151-200 μm caliber arteries, a non-significant decrease in luminal diameter was observed in the MI rats, as compared to sham. The treatment with LU135252 did not reverse the decrease in luminal diameter observed in the MI rats. Medial wall thickness was significantly increased in all the caliber of arteries examined in the MI rats, as compared to sham, regardless the arterial caliber. LU135252 treatment did not reverse this pattern of remodeling.

A molecular phenotype of pulmonary fibrosis

To assess whether the MI rats were associated with the development of lung fibrosis, the steady-state mRNA levels of the extracellular matrix proteins collagen and fibronectin were assessed. In the lungs of the MI rats, the steady-state mRNA levels of prepro-collagen- $\alpha 1$ and fibronectin were increased 3.7 ± 1.0 -fold increase ($p < 0.05$ versus sham; $n=6$) and 2.9 ± 0.2 -fold increase ($p < 0.05$ versus sham; $n=6$) respectively, in the lungs of MI rats, as compared to sham rats (Figure 1). The transforming growth factor- β (TGF- β) family has been implicated as a local autocrine/paracrine factor involved in the progression and/or maintenance of fibrosis. Consistent with this premise, the increased mRNA expression of the extracellular

matrix proteins was associated with a concomitant significant increase in the steady-state mRNA levels of TGF- β_1 (3.7 ± 0.8 -fold increase; $p<0.05$ versus sham; $n=6$) and TGF- β_3 (2.7 ± 0.7 -fold increase; $p<0.05$ versus sham; $n=6$) in the lungs of the MI rats, as compared to the sham rats (Figure 1). Long-term therapy of sham rats with the ET_A receptor antagonist LU135252 did not alter the expression of these transcripts, as compared to sham (Figure 1). In the MI rat group, LU135252 treatment did not prevent the increased expression of either collagen (3.0 ± 0.8 -fold increase; $p<0.05$ versus sham+LU135252; $n=6$), fibronectin (2.4 ± 0.6 -fold increase; $p<0.05$ versus sham + LU135252; $n=6$), TGF- β_1 (4 ± 0.8 -fold increase; $p<0.05$ versus sham + LU135252; $n=6$), or TGF- β_3 (3.2 ± 0.8 -fold increase; $p<0.05$ versus sham + LU135252; $n=6$) mRNAs, as compared to untreated MI rats (Figure 1).

Discussion

The development of PH, secondary to MI in the rat, was associated with pulmonary artery remodeling, and a pattern of gene expression consistent with the presence of fibrosis. The long-term administration of the ET_A receptor antagonist LU135252 did not reverse these phenotypic events in the lungs, despite a significant reduction of right ventricular systolic pressure. Collectively, these data suggest ET-1, acting at least partially via the ET_A receptor, may in part contribute to the development of PH. However, the absence of a beneficial effect of LU135252 on either pulmonary vascular remodeling or the fibrotic pattern of gene expression in the

lungs of the MI rat, suggests ET-1 activation of the ET_A receptor was not implicated in the progression of these pathophysiological events.

Data from several studies support the concept that ET-1, acting via the ET_A receptor, is implicated in the development of PH. Evidence to support this premise includes increased expression of ET-1 in the lungs of various models of PH, and the identification of ET_A receptors on the pulmonary arterial vasculature (Soma et al., 1999; Nguyen et al., 1998; Park et al., 1997; Sakai et al., 1996b; Nakamichi et al., 1992). Consistent with this concept, the administration of structurally distinct ET_A receptor antagonists were shown to reverse the increase in pulmonary artery pressure, and the associated hypertrophic response of the right ventricle in hypoxia- and monocrotaline-induced models of PH (Prié et al., 1997; Dicarolo et al., 1995). In the lungs of the MI rat, ET-1 peptide levels were found elevated, and the long-term treatment with LU135252 completely suppressed the increased expression (Sakai et al., 1996b; Nguyen et al., 1998). These latter findings are consistent with a role of the ET_A receptor in the synthesis of endothelin-1 (Barton et al., 1998). Moreover, coincident with LU135252 treatment, a significant reduction in right ventricular systolic pressure was observed in the MI rats. Likewise, the treatment of MI rats with the structurally distinct ET_A receptor antagonist BQ-123 was found to ameliorate right ventricular systolic pressure when administered 24 hr post-infarction (Sakai 1996b). By contrast, neither LU135252 nor BQ-123 treatment ameliorated left ventricular contractile indices, or attenuated scar size in the MI rats (Sakai 1996b).

Collectively, these data suggest that ET-1 may have a pathophysiological role in the development of PH in the MI rat

Although, both LU135252 and BQ-123 ameliorated right ventricular systolic pressure in the MI, BQ-123 rather than LU135252 caused a significant decrease in right ventricular hypertrophy in the MI rats (Sakai et al., 1996b). The reason for this dichotomy between two ET_A antagonists on right ventricular hypertrophy in the MI rat remains presently unknown. An important caveat which may in part explain these latter findings is that the reduction of right ventricular pressures with BQ-123 was greater than LU135252, and in this regard, the decrease by LU135252 may not have been sufficient to have any measurable effect on the hypertrophic response. This difference may be in part explained by the pharmacological profiles of these two antagonists. It has been demonstrated BQ-123 has a greater selectivity (500-2000-fold) for the ET_A receptor versus the ET_B receptor (Battistini and Dussault, 1998). By contrast, LU135252 has a 140-fold greater selectivity for ET_A than ET_B (Battistini and Dussault, 1998). Consequently, LU135252 treatment may have elicited some antagonism of the ET_B receptor sufficient to counteract the beneficial effect of exclusively blocking ET_A receptors. The ET_B receptor is found predominantly on endothelial cells, and is coupled to the synthesis of nitric oxide and prostacyclin, two important vasodilatory substances (Love and McMurray, 1996). Thus, any antagonism of the ET_B receptor by LU135252 would diminish the beneficial vasodilatory effect, thereby partially offsetting the decrease in right ventricular pressures mediated by ET_A antagonism leading to less effective diminution of right

ventricular hypertrophy. Moreover, nitric oxide has been shown to exert an antihypertrophic action on cardiac myocyte growth (Calderone et al., 1998). Thus, the concomitant blockade of endothelial ET_B receptors in the myocardium could diminish the local growth-inhibiting action of nitric oxide, an effect less feasible with the highly selective ET_A antagonist (Battistini and Dussault, 1998). Nonetheless, despite this difference, the ability of two structurally distinct ET_A receptor antagonists (LU135252 and BQ-123) to ameliorate right ventricular systolic pressure supports the involvement of ET-1 in the development of PH in the MI rat.

It has been suggested that endothelin-1 may be involved in the development of pulmonary and systemic hypertension, and subsequent vascular bed remodeling. In the DOCA-salt rat model of hypertension, ET_A receptor blockade markedly reduced elevated blood pressure, and improved vascular remodeling (Schiffrin, 1998). Likewise, in an angiotensin II-infused experimental rat model of hypertension, the treatment with the ET_A antagonist LU135252 reduced blood pressure and attenuated vascular hypertrophy (Moreau et al., 1997). In the hypoxia-induced model of PH, BQ-123 treatment reversed the increase in pulmonary artery pressure and medial wall thickness of 50-100 μ m caliber pulmonary arteries (DiCarlo et al., 1995). Consistent with these *in vivo* findings, the exogenous administration of ET-1 to cultured vascular smooth muscles cells promoted proliferation and hypertrophy, via the recruitment of the small GTP-binding protein ras (Hafizi et al., 1999; Schieffer et al., 1997). Interestingly, in human vascular smooth muscle cells, ET-1 had no direct effect on growth, but potentiated the growth response to platelet-

derived growth factor (Yang et al., 1999). This latter effect was blocked by the ET_A receptor antagonist LU135252. In the present study, the development of PH in the MI rat was associated with the concomitant remodeling of the pulmonary arterial bed. A significant decrease in luminal diameter in the 50-100 caliber arteries was observed, whereas a similar tendency, but non-significant effect was observed in the 101-150 and 151-200 μm caliber arteries. In all groups of caliber arteries examined, medial wall thickness was significantly increased in the MI rat, as compared to the sham-operated rat. However, despite the beneficial effect on right ventricular systolic pressure, pulmonary vascular remodeling was not attenuated in the MI rat following LU135252 therapy. Likewise, in the monocrotaline-induced model of PH, LU135252 treatment improved right ventricular systolic pressure, but did not reverse pulmonary artery remodeling (Prié et al., 1997). Thus, it is possible that alternative vascular smooth muscle mitogens, such as angiotensin II, and platelet-derived growth factor may be instrumental in pulmonary artery remodeling in the MI rat model, as well as the monocrotaline rat model of PH (Yang et al., 1999; Moreau et al., 1997).

Lung fibrosis represent a common pathophysiological feature of various pulmonary diseases (Zhang and Phan, 1996; Kovacs et al., 1994), and both *in vivo* and *in vitro* studies have characterized ET-1 as a profibrotic factor. In the bleomycin-induced rat model of pulmonary fibrosis, immunoreactive ET-1 levels were increased, and the treatment with the non-selective ET receptor antagonist bosentan, reduced the extent of fibrosis (Park et al., 1997). In vascular smooth muscle cells, and fibroblasts, ET-1 administration led to the synthesis of collagen, and further

decreased collagenase activity in fibroblasts (Rizvi and Myers, 1997; Guarda et al., 1993). Lastly, in pulmonary bronchial epithelial cells, and cultured rabbit synoviocytes, ET-1 increased fibronectin gene expression via activation of the ET_A receptor (Gutierrez et al., 1996; Marini et al., 1996). In the present study, the presence of PH in the MI rat was associated with an increase in the steady-state lung mRNA levels of collagen and fibronectin. The long-term therapy with LU135252 did not reverse the increased expression of these extracellular matrix proteins. Consequently, these data are, to the best of our knowledge, the first to highlight a molecular phenotype of fibrosis in the lungs of the MI rat, which may in part contribute to the development of PH. The inability of LU135252 to block this molecular fibrotic phenotype suggests the ET_A receptor is not involved in this process, at least in the lungs of the MI rat. By contrast, it is possible that there may exist a certain degree of redundancy in this process, such that despite the blockade of the ET_A receptor, alternative local and/or hormonal factors may initiate the development of extracellular matrix remodeling.

In vitro studies have demonstrated that the exogenous administration of the transforming growth factor- β (TGF- β) isoforms to lung fibroblasts increased collagen expression, with TGF- β_3 the most potent profibrotic agent (Eickelberg et al., 1999; Coker et al., 1997). Consistent with the *in vitro* effects of TGF- β , an increased expression of TGF- β isoforms, as well as a direct role of TGF- β_1 in the development of lung fibrosis has been documented (Nakao et al., 1999; Coker et al., 1997; Sime et al., 1997). In the lungs of the MI rats, the steady-state mRNA levels of TGF- β_1 and

TGF- β_3 were increased, as compared to sham rats. The long-term therapy of MI rats with LU135252 did not prevent the increased expression of either TGF- β_1 or TGF- β_3 mRNA, thereby suggesting ET-1 activation of the ET_A receptor was not involved in their regulation. Nonetheless, the concomitant increased mRNA expression of extracellular matrix proteins and TGF- β isoforms is consistent with a role of these peptide growth factors in the progression and/or maintenance of lung fibrosis in the MI rat. The cellular origin of the increased expression of the TGF- β isoforms, and the hormonal and/or local factors implicated in their expression remain to be determined.

In conclusion, the long-term therapy of MI rats with the ET_A selective antagonist LU135252 caused a significant reduction in right ventricular systolic pressure, suggesting ET-1, acting at least partially via the ET_A receptor, contributes in part to the development of PH. However, neither pulmonary artery remodeling nor the increased expression of lung collagen and fibronectin mRNAs were prevented by long-term LU135252 treatment in the MI rat. Lastly, the profibrotic agents, TGF- β_1 and TGF- β_3 mRNAs were increased in the MI rats, and these peptide growth factors may play an instrumental role in the progression and/or maintenance of fibrosis in the lung of MI rats.

Acknowledgments

This work was supported by the Medical Research Council of Canada, Heart & Stroke Foundations of Canada and Quebec, and les Fonds de Recherche en Santé du Québec

References

Barton, M., d'Uscio L.V., Shaw, S., Meyer, P., Moreau, P., Lüscher, T.F. (1998) ET(A) receptor blockade prevents increased tissue endothelin-1, vascular hypertrophy, and endothelial dysfunction in salt-sensitive hypertension. *Hypertension* **31(1 pt 2)**:499-504

Battistini, B., Dussault, P. (1998) Blocking of the endothelin system: The development of receptor antagonists. *Pulmonary Pharmacology & Therapeutics* **11**:97-112.

Calderone, A., Takahashi, N., Thaik, C., Colucci, W.S. (1998) Atrial natriuretic peptide, nitric oxide and cGMP inhibit the growth-promoting effects of norepinephrine in cardiac myocytes and fibroblasts. *J. Clin. Invest.* **101**, 812-818.

Cody, R.J., Haas, G.J., Binkley, P.F., Capers, Q., Kelley, R. (1992) Plasma endothelin correlates with the extent of pulmonary hypertension in patients with chronic congestive heart failure. *Circulation* **85**, 504-509.

Coker, R.K., Laurent, G.J., Shahzeidi, S., Lympany, P.A., du Bois, R.M., Jeffery, P.K., McAnulty, R.J. (1997) Transforming growth factors-beta 1, -beta 2, and -beta 3 stimulate fibroblast procollagen production in vitro but are differentially expressed during bleomycin-induced lung fibrosis. *Am. J. Pathol.* **150**, 981-991.

DiCarlo, V.S., Chen, S.J., Meng, Q.C., Durand, J., Yano, M., Chen, Y.F., Oparil, S. (1995) ET_A-receptor antagonist prevents and reverses chronic hypoxia-induced pulmonary hypertension in rat. *Am. J. Physiol.* **269**, L690-L697.

Eickelberg, O., Kohler, E., Reichenberger, F., Bertschin, S., Woodtli, T., Erne, P., Perruchoud, A.P., Roth, M. (1999) Extracellular matrix deposition by primary human lung fibroblasts in response to TGF-beta1 and TGF-beta3. *Am. J. Physiol.* **276**, L814-824.

Guarda, E., Katwa, L.C., Myers, P.R., Tyagi, S.C., Weber, K.T. (1993) Effects of endothelins on collagen turnover in cardiac fibroblasts. *Cardiovasc. Res.* **27**, 2130-2134.

Gutierrez, S., Palacios, I., Egido, J., Gomez-Garre, D., Hernandez, P., Gonzalez, E., Herrero-Beaumont, G. (1996) Endothelin-1 induces loss of proteoglycans and enhances fibronectin and collagen production in cultured rabbit synovial cells. *Eur. J. Pharmacol.* **302**, 191-197.

Hafizi, S., Allen, S.P., Goodwin, A.T., Chester, A.H., Yacoub, M.H. (1999) Endothelin-1 stimulates proliferation of human coronary smooth muscle cells via the ET(A) receptor and is co-mitogenic with growth factors. *Atherosclerosis* **146**, 351-359.

Hay, D.W. (1999) Putative mediator role of endothelin-1 in asthma and other lung diseases. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* **26**, 168-171.

Kovacs, E.J., DiPietro, L.A. (1994) Fibrogenic cytokines and connective tissue production. *FASEB J.* **8**, 854-861.

Love, M.P., McMurray, J.J.V. (1996) Endothelin in chronic heart failure: current position and future prospects. *Cardiovas. Res.* **31**, 665-674.

- MacLean, M.R. (1999) Endothelin-1 and serotonin: mediators of primary and secondary pulmonary hypertension? *J. Lab. Clin. Med.* **134**, 105-114.
- Marini, M., Carpi, S., Bellini, A., Patalano, F., Mattoli, S. (1996) Endothelin-1 induces increased fibronectin expression in human bronchial epithelial cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **220**, 896-899.
- Moreau, P., d'Uscio, L.V., Shaw, S., Takase, H., Barton, M., Luscher, T.F. (1997) Angiotensin II increases tissue endothelin and induces vascular hypertrophy: reversal by ET(A)-receptor antagonist. *Circulation* **96**, 1593-1597.
- Münter, K., Hergenröder, S., Unger, L., and Kirchengast, M. (1996) Oral treatment with an ET_A-receptor antagonist inhibits neointima formation induced by endothelial injury. *Pharm. Pharmacol. Lett.* **2**, 90-92.
- Nakamichi, K., Ihara, M., Kobayashi, M., Sacki, T., Ishikawa, K., Yano, M. (1992) Different distribution of endothelin receptor subtypes in pulmonary tissues revealed by the novel selective ligand BQ-123 and (ALA^{1,3,11,15})ET-1. *Biochim. Biophys. Res. Commun.* **182**, 144-150.
- Nakao, A., Fujii, M., Matsumura, R., Kumano, K., Saito, Y., Miyazono, K., Iwamoto, I. (1999) Transient gene transfer and expression of Smad7 prevents bleomycin-induced lung fibrosis in mice. *J. Clin. Invest.* **104**, 5-11.
- Nguyen, Q.T., Cernacek, P., Calderone, A., Stewart, D.J., Picard, P., Sirois, P., White, M., Rouleau, J.L. (1998) Endothelin A receptor blockade causes adverse left ventricular remodeling but improves pulmonary artery pressure after infarction in the rat. *Circulation* **98**, 2323-2330.

Park, S.H., Saleh, D., Giaid, A., Michel, R.P. (1997) Increased endothelin-1 in bleomycin-induced pulmonary fibrosis and the effect of an endothelin receptor antagonist. *Am. J. Respir. Crit. Care. Med.* **156**, 600-608.

Picard, P., Smith, P.J.W., Monge, J.C., Rouleau, J.L., Nguyen, Q.T., Calderone, A., Stewart, D.J. (1998) Coordinated upregulation of the cardiac endothelin system in a rat model of heart failure. *J. Cardiovas. Res.* **31(Suppl. 1)**, S294-S297.

Prié, S., Leung, T.K., Cernacek, P., Ryan, J.W., Dupuis, J. (1997) The orally active ET(A) receptor antagonist (+)-(S)-2-(4,6-dimethoxy-pyrimidin-2-yloxy)-3-methoxy-3,3-diphenyl-propionic acid (LU 135252) prevents the development of pulmonary hypertension and endothelial metabolic dysfunction in monocrotaline-treated rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **282**, 1312-1318.

Rizvi, M.A., Myers, P.R. (1997) Nitric oxide modulates basal and endothelin-induced coronary artery vascular smooth muscle cell proliferation and collagen levels. *J. Mol. Cell. Cardiol.* **29**, 1779-1789.

Sakai, S., Miyauchi, T., Kobayashi, M., Yamaguchi, I., Goto, K., Sugishita, Y. (1996a) Remarkable improvement in long-term mortality and prevention of unfavourable ventricular remodeling by inhibition of the upregulated myocardial endothelin pathway in rats. *Nature* **384**, 353-355.

Sakai, S., Miyauchi, T., Sakurai, T., Yamaguchi, I., Kobayashi, M., Goto, K., Sugishita, Y. (1996b) Pulmonary hypertension caused by congestive heart failure is ameliorated by long-term application of an endothelin receptor antagonist. Increased expression of endothelin-1 messenger ribonucleic acid and endothelin-1-like immunoreactivity in the lung in congestive heart failure in rats. *J. Am. Coll. Cardiol.* **28**, 1580-1588.

Schieffer, B., Drexler, H., Ling, B.N., Marrero, M.B. (1997) G protein coupled receptors control vascular smooth muscle cell proliferation via pp60^{c-src} and p21^{ras}. *Am. J. Physiol.* **272**, C2019-C2030.

Schiffrin, E.L. (1998) Endothelin and endothelin antagonists in hypertension. *J. Hypertens.* **16**, 1891-1895.

Sime, P.J., Xing, Z., Graham, F.L., Csaky, K.G., Gauldie, J. (1997) Adenovector-mediated gene transfer of active transforming growth factor-beta1 induces prolonged severe fibrosis in rat lung. *J. Clin. Invest.* **100**, 768-776.

Soma, S., Takahashi, H., Muramatsu, M., Oka, M., Fukuchi, Y. (1999) Localization and distribution of endothelin receptor subtypes in pulmonary vasculature of normal and hypoxia-exposed rats. *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* **20**, 620-630.

Stewart, D.J. (1993) Endothelin in cardiopulmonary disease: factor paracrine vs neurohumoral. *Eur. Heart. J.* **14** (Suppl I), 48-54.

Yang, Z., Krasnici, N., Luscher, T.F. (1999) Endothelin-1 potentiates human smooth muscle cell growth to PDGF: effects of ETA and ETB receptor blockade. *Circulation* **100**, 5-8.

Zhang, K., Phan, S.H. (1996) Cytokines and pulmonary fibrosis. *Biol. Signals* **5**, 232-239.

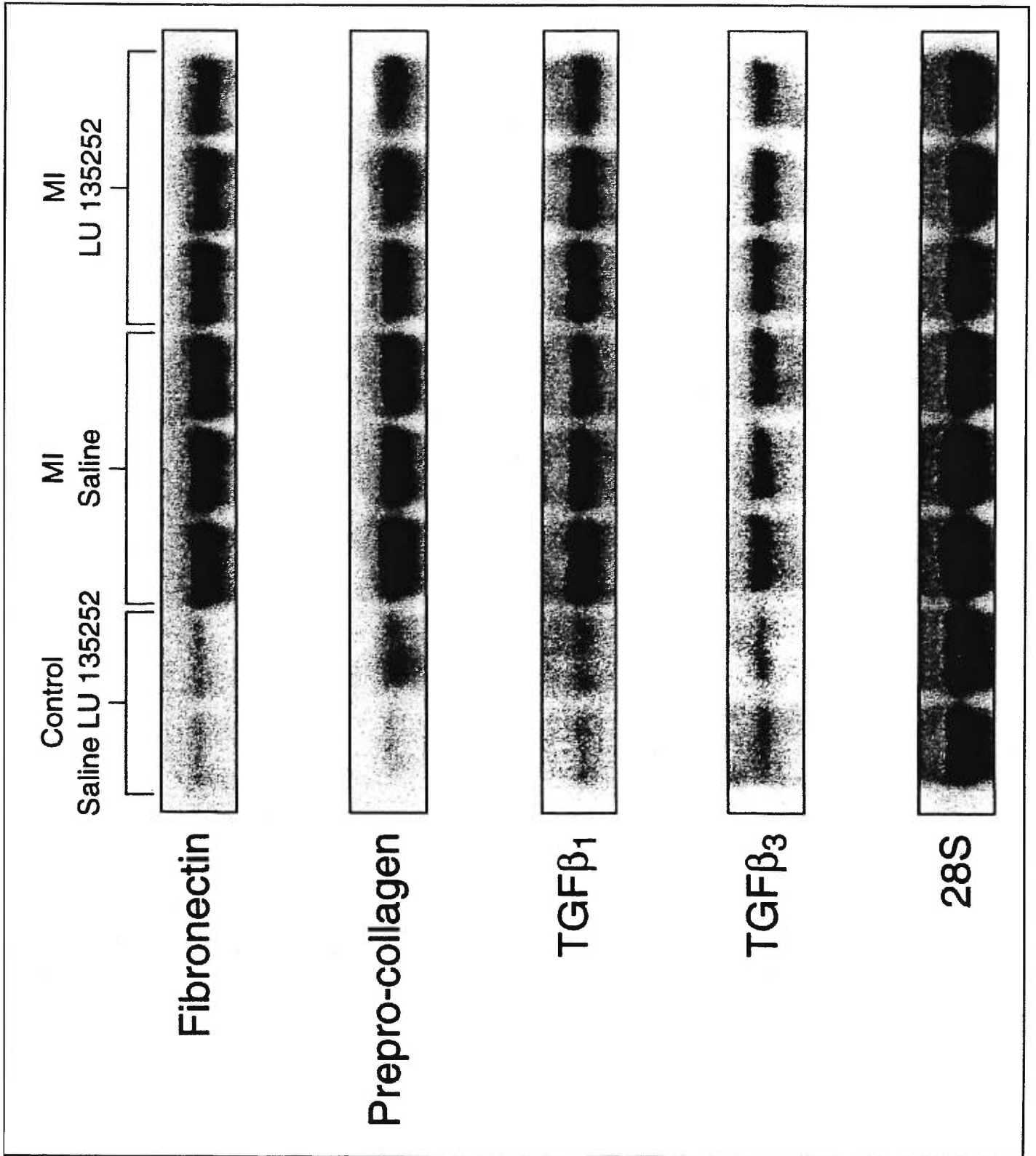


TABLE 1. Morphology Parameters of Heart of the Myocardial Infarction Rats

	Body wt, g	Scar wt, g	Scar wt/Body wt mg/g	RV wt, g	RV wt/Body wt mg/g	LV wt, g	LV wt/Body wt, mg/g	Lung wt, g	Lung wt/Body wt, mg/g
Sham + saline (n=14)	437 ± 7	-	-	0.21 ± 0.01	0.48 ± 0.03	0.85 ± 0.02	1.93 ± 0.04	1.77 ± 0.08	4.05 ± 0.24
Sham + LU 135252 (n=13)	425 ± 11	-	-	0.21 ± 0.02	0.48 ± 0.04	0.87 ± 0.02	2.05 ± 0.06	1.76 ± 0.09	3.98 ± 0.19
MI + saline (n=18)	380 ± 7*	0.13 ± 0.01*	0.34 ± 0.02*	0.40 ± 0.01*	1.05 ± 0.05*	0.74 ± 0.03*	1.94 ± 0.0	2.99 ± 0.24*	7.64 ± 1.20*
MI + LU 135252 (n=18)	361 ± 7*	0.12 ± 0.01*	0.34 ± 0.01*	0.40 ± 0.02*	1.12 ± 0.06*	0.73 ± 0.02*	2.02 ± 0.04	3.08 ± 0.16*	8.52 ± 0.44*

Body wt, body weight; LV wt/body wt, left ventricular weight/body weight; RV wt/body wt, right ventricular weight/body weight; Lung wt/body wt, lung weight/body weight; Scar wt, scar weight; Scar wt/body wt, scar weight/body weight.

Data presented are mean value ± SEM
*P<0.05 vs sham

TABLE 2. Hemodynamic Parameters 4 weeks After Infarction During Therapy

	RVSP mm Hg	RVEDP mm Hg	RV dP/dt mm Hg/s	LVSP mm Hg	LVEDP mm Hg	LV dP/dt mm Hg/s
Sham + saline (n=8)	26.8 ± 1.3	3.4 ± 0.9	1178 ± 86	108 ± 2.4	6.5 ± 0.9	4987 ± 334
Sham + LU 135252 (n=7)	26.3 ± 0.56	2.3 ± 0.9	1237 ± 91	108 ± 4.4	5.9 ± 1.3	4550 ± 488
MI + saline (n=11)	52.4 ± 3.2 *	14.7 ± 2.3 *	1394 ± 64	85 ± 3 *	26 ± 1.5 *	2625 ± 251 *
MI + LU 135252 (n=13)	43.6 ± 1.8 *#	13.4 ± 1 *	1290 ± 80	88 ± 3 *	29 ± 1.2 *	2529 ± 109 *

RVSP, right ventricular systolic pressure; RVEDP, right ventricular end diastolic pressure; RV dP/dt, right ventricular dP/dt
 LVSP, left ventricular systolic pressure; LVEDP, left ventricular end diastolic pressure; LV dP/dt, left ventricular dP/dt.

Values are means ± SEM

*P<0.05 vs sham

#P<0.05 vs MI + saline

TABLE 3. Effects of LU 135252 on Myocardial Infarction-induced morphometric changes in pulmonary arteries

	Luminal Diameter (μm)				External Diameter (μm)				Medial Wall Thickness (%)			
	50 - 100 μm	101 - 150 μm	151-200 μm	50 - 100 μm	101 - 150 μm	151-200 μm	50 - 100 μm	101 - 150 μm	151-200 μm	50 - 100 μm	101 - 150 μm	151-200 μm
Sham + saline (n=6)	60.4 \pm 1.5	99.5 \pm 2.9	160.6 \pm 10	78.5 \pm 1.5	123.1 \pm 2.3	196.1 \pm 10.5	11.8 \pm 0.5	9.7 \pm 0.9	8.9 \pm 1.6			
Sham + LU 135252 (n=6)	59.9 \pm 1.5	96.9 \pm 3.1	139.8 \pm 10	81.8 \pm 1.5	128.9 \pm 2.4	189.8 \pm 10.5	13.5 \pm 0.5	12.4 \pm 0.9	11.5 \pm 1.6			
MI + saline (n=7)	53.3 \pm 2.0**	97.1 \pm 4.5	134.3 \pm 12.5	76.0 \pm 2.0	131.7 \pm 3.5	188.1 \pm 13	15.0 \pm 0.7**	13.3 \pm 1.4*	14.7 \pm 2.0*			
MI + LU 135252 (n=5)	55.2 \pm 1.7*	88.7 \pm 2.8*	122.5 \pm 9.3*	76.6 \pm 1.6	122.9 \pm 2.1	181.9 \pm 9.7	14.2 \pm 0.6*	13.9 \pm 0.8**	16.4 \pm 1.5**			

* P < 0.05; ** P < 0.01 vs sham; Values are mean \pm SD.

Chapitre 4

I Caractérisation du modèle infarctus du myocarde chez le rat

L'infarctus du myocarde aiguë chez le rat est un des modèles le plus utilisé pour étudier les différents aspects impliqués dans la physiopathologie cardiovasculaire. Suite à l'infarctus du myocarde, de nombreux changements au niveau cardiaque et de la circulation vasculaire peuvent se produire. Ces changements peuvent impliquer la morphologie et le fonctionnement cellulaire. De plus, les changements neurohormonaux et biochimiques varient en fonction du temps du déroulement de l'infarctus. En résumé, il y a beaucoup de variables dans ce modèle lesquelles peuvent rendre difficile l'interprétation des résultats. Cette section a pour but de caractériser le modèle d'infarctus du myocarde chez le rat afin de mieux comprendre l'implication du traitement chronique de l'antagoniste de l'endothéline.

I.1 Préparation du modèle d'infarctus chez le rat

La préparation du modèle est relativement simple. Différentes approches chirurgicales et des variations du régime anesthésique ont été utilisées. Diverses espèces de rats (généralement le Sprague-Dawley) peuvent être utilisées pour ce modèle. Par contre, il faut noter qu'il est difficile et non approprié d'extrapoler des résultats de source animale d'une espèce à l'autre. La plupart des investigateurs ont utilisé des rats pesant approximativement 200 à 250 grammes. Des animaux de cette taille sont considérés comme de jeunes adultes et ont une phase de croissance relativement lente. Les rats plus âgés peuvent être utilisés si le vieillissement est

l'objectif de l'étude; cependant, les animaux âgés coûtent plus chers et pourraient avoir une mortalité chirurgicale plus élevée.

La sévérité du dysfonctionnement myocardique réalisée dans ce modèle est directement liée à la taille de l'infarctus (Pfeffer et Braunwald, 1990) et celle-ci est déterminée par le site de la ligature artérielle coronaire. Les occlusions plus proximales produisent des infarctus plus étendus et plus sévères. Malheureusement, le taux de mortalité après 24 heures est également étroitement lié à la taille de l'infarctus (Opitz et al, 1995). Si l'on veut étudier des formes d'infarctus plus graves, un taux de mortalité aiguë de 40% à 50% devrait être prévu. La mortalité à long terme est également liée à la taille de l'infarctus (Pfeffer et al, 1985).

Un certain nombre de régimes anesthésiques sont acceptables. Des agents inhalés tels que l'éther, le méthoxyflurane, l'isoflurane ou l'halothane ont été utilisés ; ils ont l'avantage d'avoir une courte durée d'action et la profondeur de l'anesthésie est mieux contrôlable pendant la chirurgie. Par contre, il est plus facile d'utiliser les agents injectables puisqu'ils ne sont pas volatils et n'exigent pas autant de surveillance de la profondeur de l'anesthésie. Des barbituriques ou la combinaison du kétamine/xylazine sont souvent injectées par voie intrapéritonéale ou intramusculaire. Ces agents peuvent induire un état chirurgical dans un délai de 5 à 10 minutes. Les barbituriques à courte action sont préférables aux drogues à longue action.

Avec une certaine pratique, le rat peut être intubé via la trachée par endotrachéotomie et mécaniquement ventilé. Ce procédé augmente considérablement

le taux de survie après 24 heures des rats opérés. Après l'intubation, le thorax est rasé et nettoyé avec une solution d'iode et d'alcool. Le cœur est exposé au niveau du sternum médian, par une incision intercostale gauche. Il est souvent difficile de visualiser l'artère coronaire antérieure descendante gauche, en raison de son petit calibre et aussi parce qu'elle n'est généralement pas située à la surface épocardique.

L'oreillette gauche est doucement rétractée et une petite suture est pratiquée autour de la partie proximale de l'artère, approximativement 1 à 2 millimètres en distal du sillon auriculo-ventriculaire. Si l'artère n'est pas clairement vue, la suture peut être placée "aveuglément" dans le sillon interventriculaire sur la surface antérieure du cœur. Une structure veineuse plus foncée est souvent parallèle à l'artère et peut être utilisée comme repère. Le serrage de la suture devrait produire le blanchissement et une dyskinésie de la région anteroapicale en une minute. Si un électrocardiogramme est pratiqué, l'élévation du segment ST sera également observée. Une fois l'opération terminée, la peau est fermée, le pneumothorax est évacué et le rat reprend souvent la respiration spontanée presque immédiatement. Avec de l'expérience, le processus entier nécessite environ 5 minutes.

Quelques investigateurs utilisent la lidocaïne prophylactique avant et/ou après une ligature coronaire. Cette pratique n'a pas été systématiquement examinée comme méthode pour réduire la mortalité périopérative. Dans une étude récente, Opitz et collaborateurs ont observé qu'il y a deux périodes arythmogéniques après la ligature coronaire chez le rat (Opitz et al, 1995). La première période se produit juste après la ligature et dure approximativement 30 minutes. La deuxième période, qui est

responsable de la majeure partie de la mortalité (total 65%), se produit entre 1,5 et 9,0 heures après la ligature. Ainsi, un agent anti-arythmique serait probablement nécessaire pour réduire les décès liés à l'arythmie. Presque tous les animaux qui survivent les 24 premières heures vivront pour au moins 6 semaines. Les antibiotiques ne sont habituellement pas nécessaires si le procédé est exécuté dans des conditions stériles, car le rat est relativement résistant à l'infection. La plupart des investigateurs n'ont pas l'habitude d'administrer des narcotiques post-opératoires en raison du souci que ces agents peuvent causer la dépression cardiaque et augmenter ainsi la mortalité attribuable à l'insuffisance cardiaque aiguë et au choc cardiogénique.

I.2 Les avantages et limitations du modèle d'infarctus du myocarde chez le rat

L'infarctus du myocarde est la principale cause clinique de l'IC systolique congestive. Le stress imposé au niveau du myocarde sain semble avoir la propriété d'une surcharge combinée de pression et de volume qui ne peut être bien simulée par les modèles de surcharge individuelle de pression ou de volume. Le rat possède plusieurs caractéristiques d'un modèle d'infarctus souhaitable. Comme chez l'humain, cette espèce présente une microcirculation collatérale relativement peu développée. Par conséquent, la ligature des artères épicaardiques importantes a comme conséquence la nécrose transmurale. La transmuralité de l'infarctus est la principale cause de remodelage cardiaque. Dans les autres espèces telle que le chien, la circulation collatérale abondante rend difficile la production d'un infarctus

transmurale (Maxwell et al, 1987). Dans la plupart des études qui utilisent des modèles canins, l'infarctus est relativement petit avec une distribution transmurale variable qui est souvent accompagné d'anomalies hémodynamiques modestes (Jugdutt et al, 1992). Un autre avantage principal d'utiliser le rat comme modèle expérimental est qu'il est relativement peu coûteux comparé aux animaux de plus grande taille. De plus, le processus global de la nécrose myocardique, de la cicatrisation, et du remodelage cardiaque est plus rapide chez le rat que chez des animaux de plus grande taille. Ceci a l'avantage évident de diminuer la période de suivi et le coût de la plupart des études chroniques. En effet, le coût des études évaluant la survie peut être prohibitif chez les animaux de grande taille. La survie moyenne d'une année pour des rats avec IM non traités s'étend de 10% à 90%, selon la taille de l'infarctus (Pfeffer et al, 1985).

L'utilisation du rat comme modèle expérimental a aussi quelques inconvénients. Le plus évident est que sa petite taille corporelle limite quelques types d'investigations. Par exemple, des quantités limitées de tissus étudiés et du sang peuvent être obtenus à partir d'un seul animal. Il y a également des contraintes sur la capacité d'exécuter des mesures hémodynamiques chez le rat. En raison de sa petite taille, les enregistrements avec une précision élevée exigent généralement l'utilisation des capteurs de pression miniatures souvent très dispendieux et une dextérité modérée de la part de l'expérimentateur. Heureusement, ce matériel est maintenant disponible et l'instrumentation peut être apprise rapidement. En dépit de sa petite taille et des fréquences cardiaques rapides (en général 300-500 battements/min),

beaucoup d'investigateurs ont réussi à exécuter des analyses hémodynamiques sophistiquées chez le rat. La mesure directe de la pression intravasculaire et intracardiaque ainsi que le débit cardiaque ont été enregistrés chez les rats anesthésiés et conscients. En outre, l'image du cœur de rat peut être projetée sur l'écran pour une analyse globale. L'utilisation des capteurs d'ultrasons à haute fréquence a permis à un certain nombre d'investigateurs d'obtenir des images échocardiographiques de bonne qualité du cœur de rat *in situ* (Litwin et al, 1994). Cette approche peut nous permettre de réaliser des études séquentielles sur chaque rat et de suivre les effets thérapeutiques des interventions pharmacologiques. L'avantage significatif de cette technique non invasive est qu'elle permet de confirmer la taille de l'infarctus et la sévérité du dysfonctionnement ventriculaire avant la randomisation du traitement.

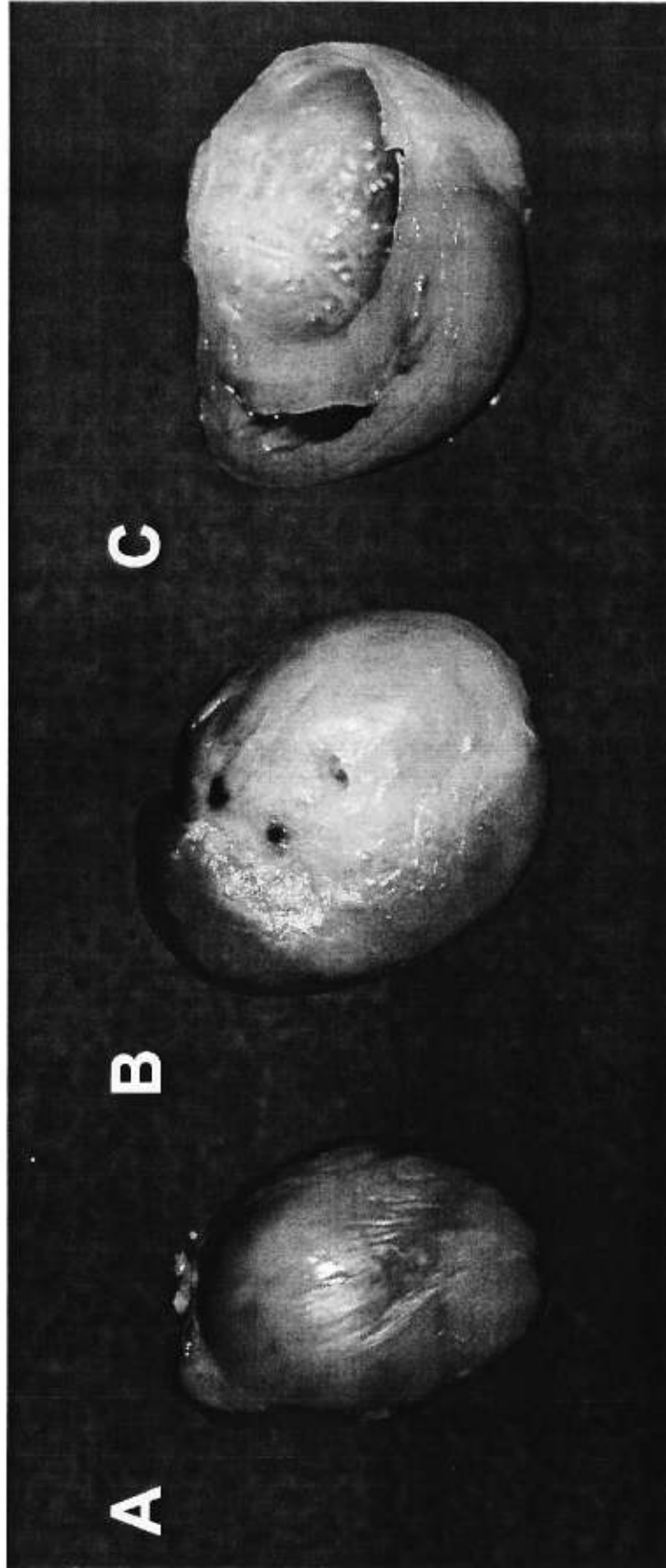
D'autres inconvénients s'associent aux différences physiologiques cellulaires du myocarde entre les rats et les humains ou d'autres animaux. D'abord chez le rat, le potentiel d'action des myocytes ventriculaires a une forme distincte comparée aux plus grands animaux. Le potentiel d'action chez le rat est relativement bref, principalement en raison d'un plateau plus court du potentiel d'action. La différence de configuration du potentiel d'action aura des effets importants sur les fonctions électriques et mécaniques du cœur. En second lieu, le cœur de rat se caractérise par une forte dépendance à l'égard du réticulum sarcoplasmique comme source de calcium pour activer les myofilaments. L'inhibition de la fonction du réticulum sarcoplasmique avec le ryanodine cause une réduction de 80% à 90% de la force

contractile myocardique chez le rat. Un traitement semblable peut avoir comme conséquence un déclin de seulement 20% à 30% de la force contractile dans le myocarde du lapin ou du cobaye (Ferrier et al, 1995). Ainsi, un petit changement de la fonction du réticulum sarcoplasmique myocardique de rat peut avoir des effets beaucoup plus grands sur le couplage d'excitation-contraction qu'un changement semblable chez une autre espèce. Finalement, le ventricule de rat contient des quantités variables des isoformes de la myosine (V1 et V3). La distribution des isoformes est modifiée avec le développement de l'hypertrophie cardiaque ou l'IC. Un réarrangement de l'isoforme à prédominance rapide V1 à l'isoforme V3 plus lente peut contribuer à certaines des anomalies contractiles et hémodynamiques chez les rats avec une surcharge cardiaque (Michel et al, 1988 ; Drexler et al, 1989). Chez la plupart des grands animaux adultes, ces variations ne sont pas observées pendant l'évolution vers l'hypertrophie cardiaque ou l'IC, car leurs ventricules se composent principalement de l'isoforme basale V3.

I.3 Le remodelage du ventricule gauche après l'infarctus du myocarde

Il y a des changements importants de la géométrie du ventricule gauche suite à une nécrose transmurale myocardique. Ces changements, collectivement désignés sous le nom de "remodelage cardiaque" ont été attribués à l'expansion de la région infarctée, le glissement et le rallongement des myocytes (Weisman et al, 1985; Olivetti et al, 1990). L'hypertrophie excentrique des myocytes sains après IM est le résultat de

l'augmentation des sarcomères en série. Le contrôle de la croissance des myocytes après IM est complexe et associé probablement aux conditions de charge et aux divers facteurs neurohormonaux et trophiques. Pour les IM impliquant moins que 20% de la circonférence du ventricule gauche, l'hypertrophie réactive du myocarde résiduel semble être adéquate pour restaurer la masse myocardique fonctionnelle et peut normaliser la contrainte pariétale imposée sur la paroi des ventricules. Les rats avec un petit infarctus présentent essentiellement des paramètres hémodynamique normaux et un remodelage minimal du ventricule gauche (Pfeffer et al, 1979). À mesure que la taille de l'infarctus augmente, l'hypertrophie n'est plus suffisante pour compenser la perte des myocytes et une dilatation du ventricule gauche s'ensuit. Ainsi, l'hypertrophie insatisfaisante du myocarde sain peut contribuer à la dysfonction ventriculaire et au remodelage cardiaque ultérieur (Figure 1).



I.4 Le dysfonctionnement du ventricule gauche

Dans ce modèle d'IC, plusieurs études sur la fonction du ventricule gauche ont été rapportées. Le travail de Pfeffer et collègues (Pfeffer et al, 1979) vers la fin des années 70 a démontré une forte corrélation entre la taille de l'infarctus et le degré du dysfonctionnement ventriculaire. Ils ont démontré, comme de nombreux investigateurs antérieurement, que les rats avec un gros infarctus antérieur ont une pression systolique du ventricule gauche diminuée, un abaissement des $+dP/dt$ et $-dP/dt$ (représentant respectivement l'indice de la contraction et de la relaxation ventriculaire) et une augmentation de la pression de remplissage ventriculaire (ou pression à la fin de diastole, LVEDP). Ils ont également démontré la présence de la dilatation du ventricule gauche caractérisée par un décalage vers la droite de la courbe de pression-volume passive du ventricule gauche (Pfeffer et al, 1979; Fletcher et al, 1981 ; Pfeffer et al, 1987). Ce décalage vers la droite est accompagné par une augmentation de la rigidité ventriculaire due à l'augmentation probable de la fibrose interstitielle.

Dans ce modèle de l'infarctus du myocarde, les gros infarctus (40-50% de la masse contractile ventriculaire gauche) démontrent des signes de décompensation de la fonction de pompe ventriculaire gauche se traduisant par une diminution de la pression artérielle en aval et par une augmentation de pression en amont de la pompe. Ces infarctus de grande taille ont un effet immédiat et prolongé sur la fonction de pompe ventriculaire gauche qui diminue ainsi le débit cardiaque. Cette diminution du débit cardiaque diminue la plénitude de la circulation artérielle. Pour compenser à la

diminution du tonus basal périphérique, les mécanismes neurohormonaux sont activés pour rétablir la fonction circulatoire artérielle adéquate. Parmi celles-ci, le système rénine-angiotensine-aldostérone, le système nerveux sympathique, l'arginine-vasopressine et les endothélines sont les facteurs vasoconstricteurs principaux activés pour augmenter la résistance vasculaire. De plus, dans les infarctus de grande taille, le pilier antérieur de la valve mitrale peut être également infarci conduisant à une insuffisance de la valve mitrale à chaque systole. Ainsi, les phénomènes de diminution de débit cardiaque et de l'insuffisance mitrale aboutissent à une augmentation sensible des pressions dans les cavités cardiaques situées en amont du ventricule gauche : l'oreillette gauche, le ventricule droit et l'oreillette droite. Cette augmentation de pression qui conduit alors à la congestion et à l'hypertension pulmonaires ainsi qu'à une hypertrophie ventriculaire droite et biauriculaire, traduit le degré d'incompétence du ventriculaire gauche.

La cinétique des changements de la taille et de la fonction du ventricule gauche après un IM a été examinée. Raya et collaborateurs ont rapporté des relations de la fonction hémodynamique et de la courbe de pression/volume du ventricule gauche à divers temps après un IM (Raya et al, 1988). Ils ont constaté que les anomalies hémodynamiques marquées se produisent dans un délai de 3 heures après la ligature coronaire. Par la suite, il y a une diminution progressive de la contraction ventriculaire ($+dP/dt$) tandis que la pression à la fin de diastole est augmentée. Au début, la relation pression-volume du ventricule gauche est décalée vers la gauche de l'axe de pression du rat témoin, mais avec le temps la dilatation devient évidente

(décalée vers la droite). À partir du 5^e jour post-MI Litwin et collègues ont pratiqué des échocardiogrammes séquentiels chez les rats après la ligature coronaire (Litwin et al, 1994). Cette technique a l'avantage de permettre des études longitudinales chez le même rat plutôt que d'extrapoler des études transversales. Une semaine après l'IM, il y a une dilatation significative du ventricule gauche, la fonction systolique globale est nettement diminuée et les conditions de remplissage diastolique sont plus élevées. À 6 semaines post-IM, il y a encore un agrandissement du ventricule gauche, une détérioration de la fonction globale du ventricule gauche et une diminution de l'épaisseur du mur postérieur de la portion saine.

Dans ce modèle de l'infarctus expérimental, il existe à la fois une augmentation de postcharge systolique liée à l'akinésie de la cicatrice fibreuse de l'infarctus et une augmentation de précharge diastolique secondaire à la dilatation ventriculaire gauche induite par l'expansion de la cicatrice de l'infarctus.

1.5 L'activation neurohormonale

L'ampleur de l'activation neurohormonale chez le rat avec IM est probablement en parallèle avec le degré de dysfonctionnement ventriculaire. Par exemple, chez les rats avec des infarctus modérés, l'activation du système rénine-angiotensine intrarénal a été mise en évidence sans augmentation de la concentration plasmatique d'AT_{II} (Schunkert et al, 1992). En revanche, les rats avec de gros infarctus et dysfonctionnement sévère du ventricule gauche ont une activité de rénine plasmatique augmentée et une élévation de la concentration circulante d'AT_{II}

(Schunkert et al, 1993). De plus, l'ARNm pour l'angiotensinogène et l'enzyme de conversion de l'angiotensine sont augmentés dans l'infarctus du myocarde (Lindpaintner et al, 1993). Les récepteurs AT₁ et AT₂ sont également augmentés (Reiss K et al, 1993; Sun Y et Weber, 1994). Essentiellement, toutes les composantes du système rénine-angiotensine semblent s'activer dans ce modèle de l'infarctus du myocarde. De même, le système endothéline est aussi activé chez les rats avec l'IC dû à l'infarctus du myocarde chronique (Sakai et al, 1996 ; Mulder et al, 1997 ; Nguyen et al, 1998). Des résultats consistants de plusieurs laboratoires ont montré que, par rapport au groupe témoin, la concentration d'endothéline-1 plasmatique est plus grande, le niveau du message ARNm de la preproendothéline-1 et le niveau du peptide d'ET-1 sont aussi nettement augmentés dans le cœur des rats avec IC, tandis que l'expression du message de l'enzyme de conversion de l'endothéline-1 n'a pas différencié entre les groupes. L'intensité d'ET-1 marquée par la méthode d'immunoréactivité dans les cardiomyocytes est nettement plus forte chez les rats avec IC que chez les rats témoins. De plus, les niveaux de messenger ARNm et de protéines des récepteurs d'ET_A et d'ET_B du cœur sont sensiblement plus élevés chez les rats avec IC (Tonnessen et al, 1997; Oie et al, 1998; Picard et al, 1998 ; Kobayashi et al, 1999).

1.6 Expression des gènes

De nombreux investigateurs ont examiné l'expression de différents gènes au niveau du cœur en défaillance avec l'infarctus du myocarde. Pour un certain nombre de gènes, l'ARN messenger est augmenté à divers temps après IM, y compris les

oncogènes c-myc, c-jun (Reiss et al, 1993), ANP (Michel et al, 1988; Drexler et al, 1989), et les grands systèmes tels que: rénine-angiotensine-aldostérone, endothéline, et adrénergique. Il est à noter que l'expression de certains gènes peut changer avec le temps après un IM. Par exemple, la diminution d'ARNm de la calcium ATPase du réticulum sarcoplasmique (SERCA-2) (Calderone et al, 1995; Gidh-Jain et al, 1998; Shao et al, 1999; Ravens et al, 2000) et l'augmentation de l'échangeur de Na^+ - Ca^+ (Yoshiyama et al, 1997; Tajima et al, 1999; Ravens et al, 2000) sont observées tôt après un IM et reviennent ensuite à la normale plusieurs semaines plus tard. Un phénomène semblable fut observé avec l'angiotensinogène, tandis que l'expression d'ARNm de l'ANP semble être constamment suractivée.

Chapitre 5

I. Discussion

L'ensemble des résultats présentés dans cette thèse de doctorat a permis de tirer deux observations générales : 1) le traitement précoce de l'antagonist ET_A de l'endothéline chez le rat post-infarctus est nuisible pour le remodelage du ventricule gauche; 2) malgré ces effets délétères, son utilisation pourrait devenir un nouveau traitement pour prévenir l'hypertension pulmonaire secondaire à l'infarctus du myocarde.

I.1 Le traitement de l'insuffisance cardiaque par les antagonistes de l'endothéline

Les myocytes cardiaques (chez l'homme et chez les animaux) ainsi que les cellules endothéliales vasculaires produisent de l'ET-1. L'ET-1 augmente considérablement la contractilité des muscles lisses vasculaires et des muscles cardiaques (Rubanyi et Polokoff, 1994). En plus de ces effets immédiats, les effets à long terme incluent l'hypertrophie myocardique et les dommages cellulaires des myocytes cardiaques. Il a été démontré que des concentrations plasmatiques d'ET-1 sont élevées chez l'homme avec une IC, dans des modèles animaux expérimentaux ainsi que chez les patients avec infarctus du myocarde aigu. Sakai et al ont rapporté que la production d'ET-1 est considérablement augmentée dans le myocarde sain des rats avec IC (Sakai et al, 1996) et que cette concentration est environ trois fois supérieures dans la partie infarctée comparée à la partie saine du ventricule gauche.

L'application aiguë de BQ123, l'antagoniste sélectif du récepteur ET_A de l'endothéline, diminue la contractilité myocardique des rats avec IM mais pas chez

les rats normaux, suggérant que l'ET-1 myocardique joue un rôle important dans le maintien de la contractilité cardiaque post IM. Par conséquent, la surexpression du système d'ET peut être salutaire en fournissant un support inotropique pour le myocarde en défaillance dans lequel la réponse β -adrénergique est fréquemment atténuée. Cependant, à long terme, il est important de déterminer si cette surexpression est adaptative ou maladaptative (salutaire ou nocive). Il semble que la stimulation prolongée du système endothéline a probablement des effets maladaptifs importants sur la fonction et la structure myocardique, menant de ce fait aux événements mortels. En fait, il semble que la surexpression du système endothéline myocardique aggrave la progression d'IC, parce que le traitement à long terme (12 semaines, où le traitement débute 10 jours post-IM) avec l'antagoniste BQ123 a considérablement amélioré le taux de survie des rats avec IC causée par l'infarctus du myocarde (Sakai et al, 1996). Cet effet bénéfique est accompagné d'une amélioration significative de la dysfonction ventriculaire gauche et de la prévention de remodelage ventriculaire défavorable (une augmentation de la masse ventriculaire saine et l'agrandissement de la cavité ventriculaire). Dans un autre modèle d'IC provoquée par la cardiomyopathie, Sakai et collaborateurs ont également démontré que la production d'ET-1 est considérablement augmentée au niveau du cœur en défaillance, et que l'antagoniste du récepteur ET_A a considérablement amélioré la survie chez les hamsters avec IC (Yamauchi-Kohno et al, 1999). Mulder et al ont rapporté que le bosentan, l'antagoniste mixte des récepteurs ET_A/ET_B (commencé le traitement 7 jours post-IM), a également amélioré le taux de survie des rats avec IC

provoquée par infarctus du myocarde (Mulder et al, 1997). Fraccarollo et autres ont également montré que le bosentan a significativement réduit le remodelage ventriculaire défavorable chez les rats avec IC (Fraccarollo et al, 1997). Ces résultats suggèrent que la surexpression chronique du système endothéline myocardique est néfaste et représente une cible importante pour les interventions thérapeutiques dans l'IC.

Par contre, il semble que les effets bénéfiques sur la fonction cardiaque, avec les antagonistes de l'ET post IM, sont valables seulement lorsque l'initiation du traitement est retardée. En effet, les traitements avec les antagonistes sélectifs (BQ 123) ou non-sélectifs (Bosentan) s'ils débutent 10 ou 7 jours respectivement post-IM causent des effets favorables. À l'opposé, l'initiation précoce (dans les premières 24 heures post-IM) du traitement avec différents antagonistes ET_A , tels le A 127722 (Pfeffer et al, 1997), le EMD 94246 (Hu et al, 1998) ou le LU 135252 (Nguyen et al, 1998), produit des effets délétères sur le remodelage et la fonction cardiaque. Il est possible que l'altération du processus de cicatrisation de la zone infarctée post-IM soit responsable de ces effets néfastes (Nguyen et al, 1998). Les mécanismes impliqués seront discutés dans la section portant sur le rôle de l'endothéline dans le processus de cicatrisation post-IM.

I.2 Les mécanismes expliquant les effets bénéfiques de l'antagoniste de l'endothéline dans l'IC

Depuis la découverte de l'endothéline par Yanagisawa (1988), de nombreuses recherches de grande valeur ont permis d'identifier son rôle important dans la physiopathologie cardiovasculaire. Plusieurs antagonistes sélectifs et non sélectifs de l'endothéline ont été synthétisés et utilisés comme outils pharmacologiques pour démontrer son rôle délétère dans l'infarctus du myocarde. Plusieurs mécanismes peuvent être considérés pour expliquer les effets bénéfiques de l'antagoniste de l'endothéline dans l'IC:

Parce que l'ET-1 a des effets cardiotoxiques directs sur les myocytes cardiaques, les concentrations exogènes de l'ET-1 stimulent l'augmentation de la créatine kinase myocardique de façon dose dépendante (Prasad, 1991). Une augmentation de la production d'ET-1 dans le cœur des rats avec IC peut mener aux dommages myocardiques et contribuer à la progression de l'IC. Ainsi, les effets bénéfiques du traitement chronique avec les antagonistes de l'endothéline peuvent être attribués à la protection contre les effets cardiotoxiques directs d'ET-1.

L'ET-1 a aussi des effets hypertrophiques sur les myocytes cardiaques (Rubanyi et Polokoff, 1994). Il est également probable qu'une surexpression du système ET au niveau cardiaque contribue à l'hypertrophie excessive du myocarde chez des rats avec IC. Les changements hypertrophiques excessifs du cœur en défaillance sont considérés comme défavorables et maladaptifs. Ainsi, un antagoniste de l'endothéline peut empêcher la progression de l'hypertrophie du myocarde.

La stimulation inotropique à long terme (contractilité myocardique accrue) par l'ET-1 chez les rats infarctés peut contribuer à la progression vers l'IC. Cette hypothèse est en accord avec des observations chez l'homme montrant que la stimulation inotropique du cœur en défaillance à long terme, par des agents cardiostimulants (inotropiques) tels que les agonistes β -adrénergiques et les inhibiteurs de phosphodiesterase, est nocive en raison de l'augmentation prolongée de l'utilisation d'énergie myocardique. De plus, l'administration chronique de ces agents augmente la mortalité à long terme chez les patients avec IC. Par conséquent, il est probable qu'une réduction de la contractilité myocardique induite par l'antagoniste de l'ET-1 peut diminuer l'utilisation d'énergie myocardique, et de ce fait améliorer le statut métabolique du myocarde.

L'hypertension artérielle pulmonaire est une manifestation clinique secondaire à l'IM. La diminution de la surcharge pulmonaire peut aider à ralentir la progression vers l'IC chronique dans ce modèle. Il a été montré que la synthèse d'ET-1 est augmentée dans le poumon des rats avec IM. De plus, le traitement avec des antagonistes ET_A , le LU 135252 (Nguyen et al, 1998) ou le BQ 123 (Sakai et al, 1996), chez les rats avec IM réduit l'hypertension artérielle pulmonaire sans significativement affecter la fonction du ventricule gauche.

Il est aussi possible que les effets bénéfiques de l'antagoniste ET_A chez les rats post-IM sont partiellement attribuables à la réduction de la précharge du ventricule gauche. L'inhibition de l'effet vasoconstricteur induit par l'ET-1 sur les artères systémiques réduirait la résistance systémique, et ainsi la surcharge au cœur.

L'insuffisance cardiaque chronique est caractérisée par un dysfonctionnement endothélial. Ceci peut amener à un déséquilibre entre les facteurs vasodilatateurs et vasoconstricteurs en faveur de ces dernières. Une diminution de la capacité vasodilatatrice dépendante de l'endothélium peut contribuer à diminuer la perfusion myocardique, à augmenter la résistance vasculaire périphérique et à l'augmentation de charge de travail cardiaque chez les patients avec l'IC (Drexler, 1999). Dans ce modèle d'IC induit par l'infarctus du myocarde, il a été démontré que les traitements chroniques avec les antagonistes de l'ET augmentent la relaxation et améliorent la fonction endothéliale des artères de conduction (Bauersachs et al, 2000; Thorin et al, 2000). Les mécanismes possibles expliquant ces effets bénéfiques incluent les actions salutaires directes sur le système vasculaire en diminuant la production des radicaux libres ou par les effets indirects secondaires à une amélioration du remodelage ventriculaire gauche. La fonction ventriculaire gauche améliorée augmenterait l'écoulement sanguin et la force de cisaillement sur la surface endothéliale des artères ayant pour résultat l'amélioration de la fonction endothéliale.

L'IC est caractérisée par l'activation de plusieurs systèmes neurohormonaux tels que l'insuline, les catécholamines, l'angiotensine, l'endothéline, les composantes de cascade fibrinolytique ainsi que les cytokines. Il est très probable qu'il existe une interaction complexe entre ces facteurs qui peuvent activer différentes voies de signalisation. Par conséquent, il est important de prendre en considération ce phénomène au moment de l'interprétation des résultats des études in vivo. Par exemple, plusieurs évidences expérimentales et cliniques ont démontré qu'il y a une

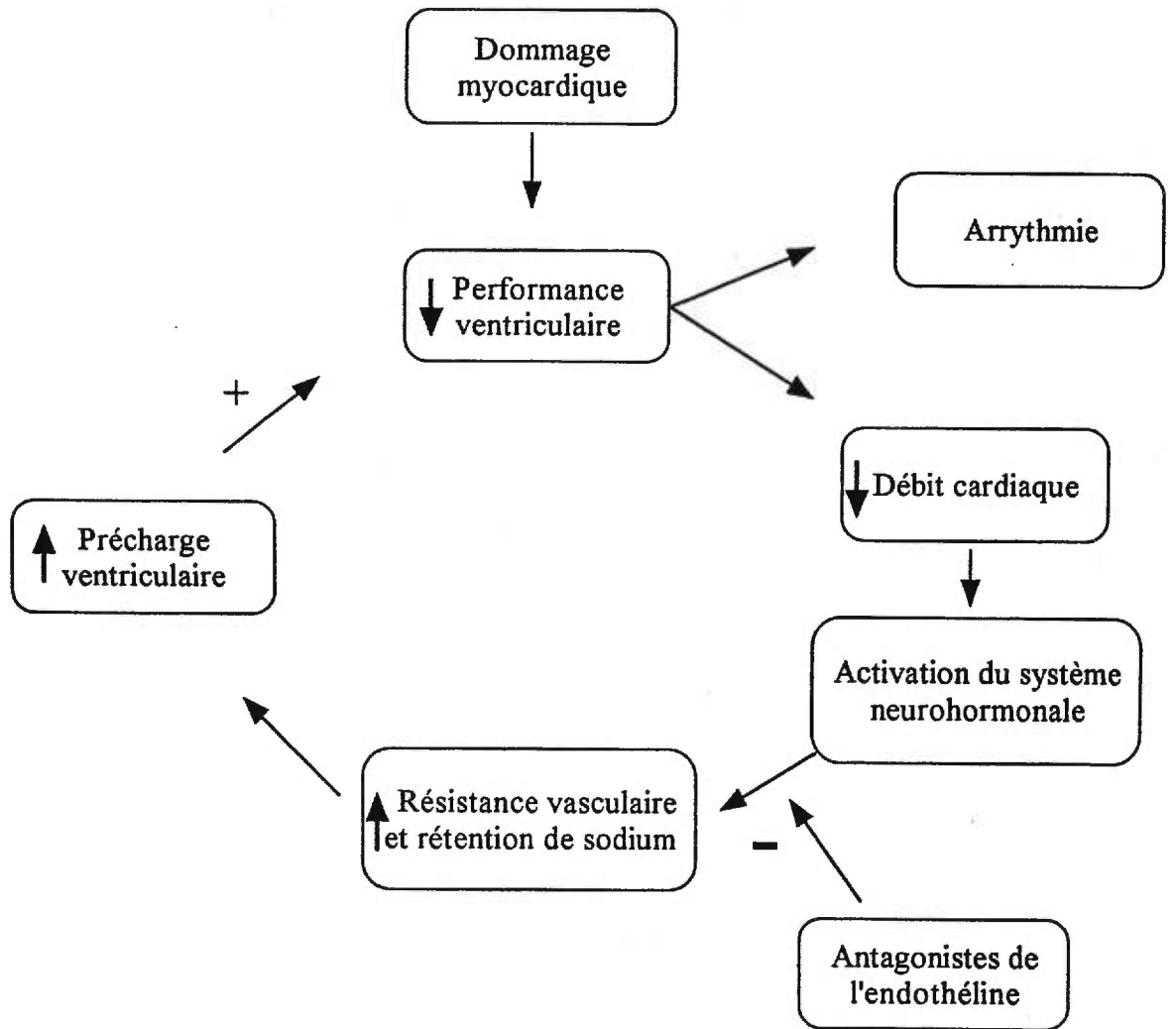
interaction entre les deux plus puissants vasoconstricteurs connus, soit l'AT_{II} et l'ET-1.

L'identification de l'élément c-jun, une séquence consensus de la régulation de l'expression des gènes, dans la région de la régulation du gène de preproendothelin-1 (ppET-1) et de l'enzyme de conversion de l'endothéline a été rapportée (Rossi et al, 1999). De plus, la possibilité de sa régulation au niveau transcriptionnel par l'AT_{II} a été soulevée (Rossi et al, 1999). Cette hypothèse est confirmée par la constatation que la stimulation avec l'AT_{II} sur les cellules vasculaires du muscle lisse en culture (VSMCs) et les cellules endothéliales (ECs) induit l'expression du gène ppET-1 et de la synthèse d'ET-1.

De plus, l'ET-1 endogène produit par la stimulation exogène de l'AT_{II} s'est avérée à contribuer à la réponse hypertrophique des cardiomyocytes et de ce fait à l'hypertrophie cardiaque. En outre, l'ET-1 exerce des effets multiples sur le système RAAS tel que l'inhibition dose dépendante de la synthèse de rénine, et la stimulation de la sécrétion d'aldostérone. Le traitement chronique avec le captopril, l'inhibiteur de l'enzyme de conversion, réduit l'expression et la concentration plasmatique de l'endothéline chez les rats avec IM (Spinale et al, 1997; Krombach et al, 1998).

Par conséquent, un blocage chronique du système de l'endothéline dans le modèle d'IC pourrait ainsi diminuer l'activation en parallèle du système RAAS. Cette hypothèse est documentée par le récent rapport de Sakai et collaborateurs démontrant que le BQ 123, en plus de réduire l'expression myocardique de préproET-1 en améliorant les paramètres hémodynamiques et la survie, ce produit diminue

également la surexpression des composantes du système RAAS telles que l'enzyme de conversion de l'angiotensine et le récepteur AT_1 de l' AT_{II} (Sakai et al, 2000) (Figure 1).



I.3 Processus de cicatrisation après l'infarctus du myocarde

Contrairement aux observations montrant l'effet bénéfique d'un blocage chronique avec l'antagoniste de l'endothéline chez le rat post IM, nous avons démontré que le traitement précoce avec l'antagoniste ET_A de l'endothéline dans ce modèle réduit l'épaisseur de la cicatrice et augmente l'expansion de la zone infarctée, dont les effets délétères interfèrent avec le bon fonctionnement cardiaque. Il existe un paradoxe entre nos résultats et ceux de Sakai et al (1996) et Mulder et al (1998). Une analyse plus en profondeur nous a permis d'identifier une différence importante entre notre stratégie de traitement et celles utilisées par d'autres groupes. Cette différence de stratégie de traitement se trouve au niveau de la préservation ou de la non-préservation du processus de cicatrisation post IM. Pour élucider les mécanismes impliqués, il est important de comprendre le déroulement du processus de cicatrisation post IM.

En général, le processus de cicatrisation suite à l'infarctus du myocarde imite les processus de cicatrisation observés dans d'autres tissus, comme la peau. Cependant, le processus de cicatrisation cardiaque a quelques dispositifs uniques. Un de ces dispositifs est que les myocytes adultes sont des cellules terminalement différenciées qui ont perdu, au moins en grande partie, la capacité de se diviser et de se régénérer (Soonpaa et al, 1995). Une cicatrisation cardiaque adéquate est donc principalement déterminée par les facteurs qui contrôlent la formation du tissu de granulation. Les facteurs qui déterminent la régénération des myocytes ou la division cellulaire semblent être d'une importance mineure. La deuxième caractéristique est la

contraction rythmique du myocarde sain (région non-infarctée) qui impose un chargement continu sur la zone infarctée. Les changements architecturaux étroitement régulés qui s'adaptent à la dysfonction cardiaque après l'infarctus du myocarde constituent le troisième dispositif.

En général, quatre phases peuvent être distinguées pendant le processus de cicatrisation cardiaque. La première phase se caractérise par la mort des myocytes. Le relargage de protéines de liaison des acides gras (FABP, fatty acid binding protein), la troponine T, la créatine kinase, et l'enzyme oxaloacétique glutamique transaminase (SGOT) plasmatique sont de puissants marqueurs de la mort des myocytes (Cleutjens et al, 1999). Des niveaux élevés plasmatiques de ces composantes peuvent être utilisés ainsi pour une détection précoce de la mort de cellules myocytaires. La mort des myocytes, après l'occlusion d'une artère coronaire, peut se produire par deux voies, probablement interdépendantes, qui sont la nécrose des myocytes, caractérisée par le gonflement des cellules, et l'apoptose des myocytes, caractérisée par un rétrécissement des cellules. Le pic de l'apoptose des myocytes a été enregistré 6 à 8 heures après un infarctus chez l'homme et le rat. L'apoptose est une source importante de perte des myocytes après infarctus chez l'animal (Haunstetter et Izumo, 1998) et l'homme (Olivetti et al, 1997). Du fait que l'apoptose est un processus étroitement régulé, il est donc possible de mener des interventions précoces pour limiter la perte des myocytes après un événement ischémique. Un exemple de telles interventions chez les rats est l'utilisation des inhibiteurs des caspases, enzymes protéolytiques impliquées dans la voie d'apoptose (Yaoita et al,

1998). Les inhibiteurs de caspases peuvent réduire ainsi la mort apoptotique des cellules après un infarctus et donc limiter les dommages ischémiques au coeur. Récemment, l'ET-1 a été démontré comme facteur protecteur contre l'apoptose cardiaque relayée par l'isoprotérénole (un agoniste bêta adrénergique). De plus, le récepteur ET_A semble impliqué dans ce phénomène puisque l'antagoniste sélectif ET_A (FR 139317) et non l'antagoniste sélectif ET_B (BQ 788) bloque l'effet protecteur de l'apoptose de l'endothéline-1 (Araki et al, 2000). Il est possible que le traitement précoce avec le LU 135252 (antagoniste sélectif d'ET_A) dans notre modèle IM aggrave l'apoptose myocardique produisant une plus grande perte des myocytes.

La majorité des cellules apoptotiques après l'infarctus ne peuvent pas être phagocytées par les cellules voisines et la nécrose secondaire se produit de 12 heures à 4 jours après l'infarctus (Haunstetter et Izumo, 1998). Ce type de mort des myocytes évoque une première réponse inflammatoire, laquelle correspond à la deuxième phase du processus de cicatrisation cardiaque. Un des premiers dispositifs de cette réponse inflammatoire est l'activation du système de compléments et le relargage de plusieurs cytokines, comme les interleukines IL-6 et IL-8, qui se produisent à moins de 12 à 16 heures après le début de l'ischémie chez l'homme (Sturk et al, 1992; Lagrand et al, 1997; Matsumori et al, 1997). Après la mort des myocytes, l'activation du système de compléments et le relargage précoce des cytokines ont été suggérés comme marqueurs précoces de la mort des myocytes et peuvent être utilisés comme cibles potentielles pour les interventions thérapeutiques afin de limiter la perte des myocytes.

Moins de 6 à 8 heures après le début de l'infarctus, les cellules polymorphonucléaires (PMN) comprenant surtout des neutrophiles passent dans la zone atteinte de l'infarctus. On observe un nombre maximal des granulocytes à moins de 24-48 heures après infarctus. Une des fonctions de ces granulocytes est de retirer les myocytes morts de la zone infarctée. L'infiltration des granulocytes est suivie par l'assaut de d'autres cellules inflammatoires, comme les lymphocytes, les cellules plasmatiques et les macrophages.

Deux à trois jours après un infarctus, de nouvelles protéines de la matrice extracellulaire sont déposées, d'abord dans la zone péri-infarctie, et plus tard dans la zone centrale du tissu infarcté. Ceci marque le début de la troisième phase du processus de la cicatrisation cardiaque. La formation du tissu de granulation augmente la résistance intrinsèque de la zone infarctée et empêche la rupture cardiaque.

Le dépôt de fibrine est suivi du dépôt de d'autres protéines de la matrice extracellulaire, comme la fibronectine et le tenascin chez les rats (Willems et al, 1996; Ulrich et al, 1997). Quelques jours après un infarctus, les myofibroblastes entourent la zone infarctée. Ces myofibroblastes produisent des collagènes interstitiels, et, chez les rats, des quantités élevées de collagène du type III peuvent être trouvées dans les 2 ou 3 jours après ligature de l'artère coronaire gauche. Le pic de la production de collagène du type III est suivi par le développement d'un autre pic plus lent et plus faible en intensité de collagène du type I. Le collagène de type I apporte la résistance intrinsèque à la zone infarctée, seulement si ces fibres sont bien

orientées (Cleutjens et al, 1995). La rotation de collagène d'un cœur normal d'adulte peut prendre approximativement 120 jours; elle se produit beaucoup plus rapidement lors de la phase précoce du processus de cicatrisation cardiaque (Bishop et al, 1995).

Concomitant avec l'activation de la synthèse de collagène, la dégradation de collagène est activée. On peut observer des signes d'ultrastructure de la dégradation des fibrilles de collagène 40 minutes après l'occlusion coronaire dans un modèle de porc (Cleutjens, 1996). L'activité collagénolytique représentée par l'activation des métalloproteinases spécifiques de la matrice extracellulaire qui clivent les collagènes interstitiels, est augmentée en première semaine après l'infarctus chez le rat (Cleutjens JP et al, 1995; Tyagi et al, 1996). L'activité collagénolytique accrue peut avoir comme conséquence la perte de support structural de la zone infarctée, la déformation architecturale des tissus, la réduction de rigidité cardiaque, l'amincissement de la paroi ventriculaire et la rupture même du myocarde.

Le tissu de granulation se caractérise également par la présence de plusieurs vaisseaux sanguins. Quelques jours après l'infarctus, de nouveaux vaisseaux sanguins commencent à apparaître dans la zone infarctée. Ces nouveaux vaisseaux sanguins sont dérivés des vaisseaux sanguins pré-existants ou des cellules endothéliales qui passent de la zone péri-infarctée vers la zone infarctée. Ce processus de néovascularization est très efficace. Chez les rats, dans un délai de 1 semaine après un infarctus, le flux coronaire basal est presque normalisé, alors que le flux coronaire

à la dilatation maximale est presque normalisé à 35 jours après infarctus dans le ventricule gauche en entier chez le rat (Nelissen-Vrancken et al, 1996).

Le tissu de granulation de 2-3 semaines dans la zone infarctée est caractérisé comme un tissu riche en macrophages, en vaisseaux sanguins, et fibroblastes, contenant les collagènes interstitiels croisés. Ultérieurement, ces cellules, excepté la majorité des myofibroblastes (Willems et al, 1994) commencent à disparaître de la zone infarctée, qui est la caractéristique principale de la quatrième période du processus de cicatrisation cardiaque, la période de la formation du tissu de la cicatrice. Dans cette période, les cellules disparaissent probablement par l'apoptose (Desmouliere et al, 1995), et les collagènes deviennent presque totalement bien orientés. Le tissu ainsi formé de cicatrice a une nature permanente en raison du manque de régénération des myocytes. Le processus de cicatrisation cardiaque après infarctus décrit ci-dessus est aussi valable pour les humains. Le processus de cicatrisation cardiaque est accéléré chez les plus petits animaux comme les rats et les souris comparés à l'homme.

I.4 Rôle de l'endothéline dans le processus de cicatrisation post infarctus

Dans notre étude, nous avons démontré que l'antagonisme sélectif du récepteur ET_A de l'endothéline (LU 135252) commencé dans un délai de 24 heures après infarctus du myocarde altère la formation de la cicatrice et contribue ainsi à la dilatation et au dysfonctionnement ventriculaire excessif. Cependant, parce que la cicatrice ne semble pas se modifier quand le blocage est commencé une fois que la cicatrice est

bien établie (Sakai et al, 1996), ce problème semble se produire seulement durant la phase aiguë durant le processus de cicatrisation post IM, possiblement pendant la première semaine après l'induction de l'infarctus où l'expansion de la zone infarctée est à son paroxysme.

Après l'infarctus du myocarde, la réparation tissulaire incluant l'exsudation, l'inflammation et la fibrogénèse se produisent dans la zone infarctée. Pendant ce processus de réparation, le dépôt de collagène dans la zone infarctée augmente la résistance à la distorsion et réduit l'expansion de la zone infarctée (Cleutjens et al, 1995), limitant ainsi des changements topographiques du ventricule. Dans la présente étude, nous avons démontré qu'un blocage précoce du récepteur ET_A de l'endothéline pendant la phase aiguë de l'infarctus produit une cicatrice plus mince qui est associée à une plus grande expansion de la zone infarctée. Puisque Fishbein et collaborateurs avaient démontré que l'infiltration des fibroblastes et le dépôt de collagène ne sont pas observés jusqu'au troisième jour après l'infarctus (Fishbein et al, 1980), suggère qu'il y a une période où la zone infarctée est particulièrement vulnérable à la force de distorsion ainsi qu'à l'amincissement et à l'expansion de la cicatrice. En conséquence, il y a au moins deux possibilités pour expliquer les effets observés dans la présente étude : 1) le blocage précoce du récepteur ET_A pourrait diminuer ou affaiblir la phase aiguë de l'inflammation, limitant ainsi l'activité des cellules inflammatoires et l'infiltration des fibroblastes, favorisant de ce fait l'expansion précoce du myocarde fraîchement nécrosé avant que le dépôt de collagène commence; 2) le blocage d'ET_A peut retarder le dépôt de collagène pendant la phase

fibrogénique de la réparation tissulaire et ainsi prolonger la phase aiguë vulnérable à la déformation ventriculaire.

I.4.1 L'inflammation aiguë post IM

L'ischémie myocardique stimule la réponse inflammatoire aiguë dans laquelle le développement de l'œdème et l'infiltration des cellules inflammatoires ultérieures est une composante importante de la réparation tissulaire normale (Reimer et al, 1993). L'intervention pharmacologique pendant la phase aiguë de l'infarctus, avec des glucocorticostéroïdes (Kloner et al, 1978; Hammerman et al, 1983) et des agents anti-inflammatoires non stéroïdiens tels que l'antagoniste du récepteur B₂ de la bradykinine (Frimm et al, 1996) et l'inhibiteur de la cyclooxygénase (Hammerman et al, 1983), a été associée à la réduction de la formation de collagène dans la zone infarctée et à une cicatrice plus mince. Il est donc possible qu'une réduction de l'œdème tissulaire et l'infiltration diminuée des cellules inflammatoires dans la zone infarctée puissent être le résultat d'un blocage précoce d'ET_A, contribuant donc à l'amincissement et à une plus grande expansion de la cicatrice et de ce fait à une dilatation ventriculaire accrue avant que le dépôt de collagène ne commence. En conformité avec cette hypothèse, on a précédemment démontré que l'ET-1 joue un rôle chemotactile pour les neutrophiles humains (Elferink et al, 1994; Wright et al, 1994) et peut stimuler les leucocytes polymorphonucléaires chez le lapin (Hart-Favaloro et al, 1998). En outre, l'induction de l'expression de ppET-1 dans la zone infarctée est significativement augmentée dès le premier jour suivant l'infarctus du myocarde (Oie et al, 1997). Cette augmentation est suivie par l'infiltration

significative des fibroblastes et du dépôt de collagène dans la zone infarctée.

Récemment, il a été montré que le LU 135252 (antagoniste sélectif ET_A) donné dans un modèle d'ischémie et de réperfusion chez les porcs a réduit l'accumulation des neutrophiles dans cette zone ischémique (Gonon et al, 1998).

Durant les premières heures après un IM, pendant que la lyse des myocytes nécrosés s'est produite, la structure squelettique en collagène ne serait pas immédiatement affectée par l'ischémie et peut fournir une résistance à l'expansion de la zone infarctée. De plus, dans l'infarctus du myocarde, la matrice métalloproteinase (MMP) myocardique a été démontrée pour jouer un rôle important dans la régulation de la géométrie ventriculaire et l'alignement des myocytes (Celentano et Frishman, 1997). Une dégradation de collagène myocardique peut se produire avec l'augmentation de l'activité collagénolytique et peut donc avoir des conséquences défavorables sur l'architecture et la fonction du myocarde. L'équilibre entre MMP et TIMP (inhibiteurs tissulaires des métalloproteinases) semble jouer un rôle important en contrôlant l'homéostasie de la matrice extracellulaire (Celentano et Frishman, 1997).

Dans le ventricule gauche infarcté, Cleutjens et collaborateurs ont constaté que le message ARNm codant pour le TIMP est augmenté 6 heures après l'infarctus et atteint un plateau au deuxième jour (Cleutjens et al, 1995). D'ailleurs, on a précédemment signalé que le LU 135252 a diminué l'expression d'ARNm de TIMP hépatique chez les rats avec une fibrose biliaire (Cho et al, 2000) et le FR 139317, un autre antagoniste sélectif du récepteur ET_A, a atténué les augmentations de

l'expression au niveau glomérulaire de MMP-2 et TIMP-1 (Ebihara et al, 1997).

Ces résultats suggèrent que l'ET-1 endogène peut ralentir la dégradation fibrillaire de collagène par son action sur l'équilibre entre MMP et TIMP. Par conséquent, il est possible qu'un blocage précoce avec l'antagoniste ET_A chez les rats post IM peut détruire l'équilibre précaire entre le MMP et le TIMP en favorisant l'augmentation de l'activité collagénolytique. Ce déséquilibre a comme conséquence une dégradation accrue des fibres de collagène et ceci peut mener à la perte d'intégrité structurale du myocarde infarcté, y compris le phénomène de glissement des myocytes et l'amincissement de la cicatrice.

I.4.2 La phase fibrogénique de la réparation tissulaire.

Les évidences de plusieurs laboratoires suggèrent que le dépôt de collagène après infarctus est important pour la structure et la fonction ventriculaire (Weber et Brilla, 1991). La cadence et la quantité de dépôt de collagène dans la zone infarctée pendant la réparation tissulaire pourraient influencer le remodelage ventriculaire (Cleutjens et al, 1995). Chez le rat avec IM, le collagène dans la zone infarctée est augmenté trois fois durant la première semaine et cette augmentation atteint un plateau entre 7 et 14 jours (Cleutjens et al, 1995). De plus, plusieurs évidences expérimentales convergent sur le rôle potentiel de l'ET-1 comme médiateur principal dans le processus de cicatrisation après infarctus. La concentration tissulaire de l'ET-1 est augmentée et est plus grande dans la zone infarctée par rapport à la zone saine (Oie et al, 1997; Nguyen et al, 1998). La présence du grand nombre des récepteurs ET_A et ET_B de l'ET-1 et la localisation par immunoréactivité de l'ET-1 dans les fibroblastes

cardiaques ont été montrées pendant la formation de la cicatrice après IM (Oie et al, 1997; Tonnessen et al, 1997). D'ailleurs, l'ET-1 a été montrée pour être mitogénique. Elle stimule la prolifération des fibroblastes et la synthèse de collagène, et peut exercer des propriétés proinflammatoires in vitro. Vu ces derniers effets, il n'est pas surprenant qu'un blocage précoce de l'ET_A puisse retarder le dépôt de collagène pendant la phase fibrogénique de la réparation dans la zone d'infarctus.

À part du dépôt de collagène qui augmente la force de résistance à l'expansion de la zone infarctée, cette résistance pourrait également être augmentée davantage par la conversion des fibroblastes en myofibroblastes cardiaques qui peuvent se contracter et limiter ainsi l'expansion de l'infarctus. Dans une étude préliminaire, Martin et collaborateurs ont étudié l'effet d'un inhibiteur hautement sélectif de l'enzyme de conversion de l'endothéline-1 (FR 901533) sur le remodelage cardiaque chez les rats suivant l'infarctus du myocarde (Martin et al, 1999). Ces chercheurs ont démontré que l'alpha actine du muscle lisse, un repère de l'activation des myofibroblastes a été diminué dans la zone infarctée chez les rats traités avec l'inhibiteur de l'ECE-1 par rapport au contrôle. Ceci suggère que l'ET-1 est essentiel pour l'activation des myofibroblastes. Ainsi, le blocage précoce avec l'antagoniste ET_A pourrait diminuer l'activité des myofibroblastes et retarder le dépôt de collagène dans la zone infarctée.

Wexler (1979), en utilisant un autre modèle d'infarctus du myocarde induit par l'isoprénaline, a démontré que le traitement chronique avec le spironolactone (antagoniste de l'aldostérone) retarde le processus de cicatrisation durant la phase de réparation tissulaire (jours 7 et 8). De plus, les rats traités au spironolactone ont une

mortalité plus élevée comparée au contrôle. En outre, Silvestre et collaborateurs ont récemment démontré que l'infarctus du myocarde est associé à une augmentation locale de la production d'aldostérone myocardique (Silvestre et al, 1999). Ces résultats suggèrent que l'aldostérone myocardique peut stimuler le dépôt de collagène et favoriser le processus de cicatrisation cardiaque. L'ET-1 a été directement impliquée dans la production d'aldostérone dans la zone adrénocorticale glomérulaire (Rebuffat et al, 1999 ; Rossi et al, 1999). Par conséquent, de concert avec le système RAAS, l'ET-1 pourrait jouer un rôle de médiateur dans le processus de cicatrisation cardiaque chez les rats post IM.

Le processus de cicatrisation myocardique post IM est un événement multifactoriel qui exige la participation ou l'activation de divers types de cellules. La formation du tissu de cicatrice, lequel doit être formé pour renforcer la zone infarctée, ne pourrait exister sans la formation d'une néovascularisation nécessaire à son développement. Par conséquent, l'apport de sang dans la zone infarctée doit être également restaurée par le phénomène de l'angiogenèse vasculaire myocardique. Une hypothèse intéressante est que le développement de nouveaux vaisseaux par l'angiogenèse ou le remodelage des vaisseaux collatéraux préexistants pourrait compenser l'occlusion d'une artère coronaire épicaudique, améliorant le remodelage cardiaque après l'IM aiguë. Théoriquement, le développement vasculaire dans la région myocardique nécrosée peut être salutaire pour plusieurs raisons. D'abord, quand les vaisseaux collatéraux abondants sont présents dans la région nécrosée immédiatement après l'occlusion totale de l'artère coronaire épicaudique, une

réduction substantielle ou même une prévention de la nécrose myocardique pourrait être salutaire (Schaper et al, 1971). En second lieu, le développement des vaisseaux collatéraux dans la zone péri-infarctée peut améliorer la perfusion locale et augmente donc la fonction du myocarde sain. Ceci peut améliorer la fonction et le remodelage ventriculaire gauche, les deux causes déterminantes principales du pronostic. Troisièmement, le processus de cicatrisation de la zone nécrotique ne peut pas être adéquat si les fibroblastes ne reçoivent pas un support métabolique suffisant. Si le processus de cicatrisation est amélioré, une réduction de remodelage cardiaque, de formation d'anévrisme et de rupture ventriculaire gauche peut être prévue. Ces changements peuvent améliorer le pronostic à court et à long termes.

L'angiogénèse correspond à l'extension de l'arbre vasculaire. C'est le processus qui est responsable de la formation de nouveaux vaisseaux par bourgeonnement à partir de vaisseaux préexistants. Au niveau cellulaire, ce processus est caractérisé tout d'abord par une migration des cellules endothéliales à travers la membrane basale fragmentée, puis, dans un second temps, par une multiplication locale de ces cellules pour former de nouveaux tubes endothéliaux branchés sur les vaisseaux préexistants. L'angiogénèse s'accompagne du recrutement de cellules mésenchymateuses avoisinantes et de leur différenciation en péricytes et/ou cellules musculaires afin d'achever la formation de la structure vasculaire.

Plusieurs facteurs de croissance tels que les facteurs de croissance des fibroblastes (FGFs), facteur de croissance des cellules endothéliales vasculaires (VEGF), facteur de croissance de la transformation (TGF), facteurs de croissance

d'insuline (IGFs) et facteurs dérivés des plaquettes (PDGF) ont des propriétés angiogéniques (Goncalves, 2000). Récemment, un certain nombre d'études expérimentales ont démontré la surexpression au niveau de protéines et de récepteurs de ces facteurs de croissance dans l'IM. De plus, le traitement avec ces facteurs angiogéniques peut favoriser le développement des vaisseaux collatéraux au tissu ischémique dans les modèles de l'occlusion coronaire progressive, et l'IM aiguë (Goncalves, 2000). Les facteurs de croissance angiogénique peuvent réduire la taille de l'infarctus et améliorer la fraction d'éjection ventriculaire gauche dans différents modèles IM chez le chien et le rat (Yanagisawa-Miwa et al, 1992; Meng et al, 1999). La réduction de la taille de l'infarctus a été associée à la vascularité accrue (Meng et al, 1999), suggérant qu'un mécanisme angiogénique ait été opérant.

En plus de leurs effets sur l'angiogenèse et la cicatrisation myocardique, les facteurs de croissance ont d'autres propriétés (vasodilatateurs NO-dépendent, neuroprotectifs et myoprotectifs) qui peuvent avoir des effets importants dans le remodelage cardiaque post IM. Ainsi, ces facteurs de croissance ont pu d'une manière primordiale affecter l'évolution, la cicatrisation et le remodelage de l'IM par leurs effets sur l'hémodynamique systémique, les conditions de charge, la protection des cardiomyocytes, l'angiogenèse, le développement collatéral, et/ou le processus de cicatrisation.

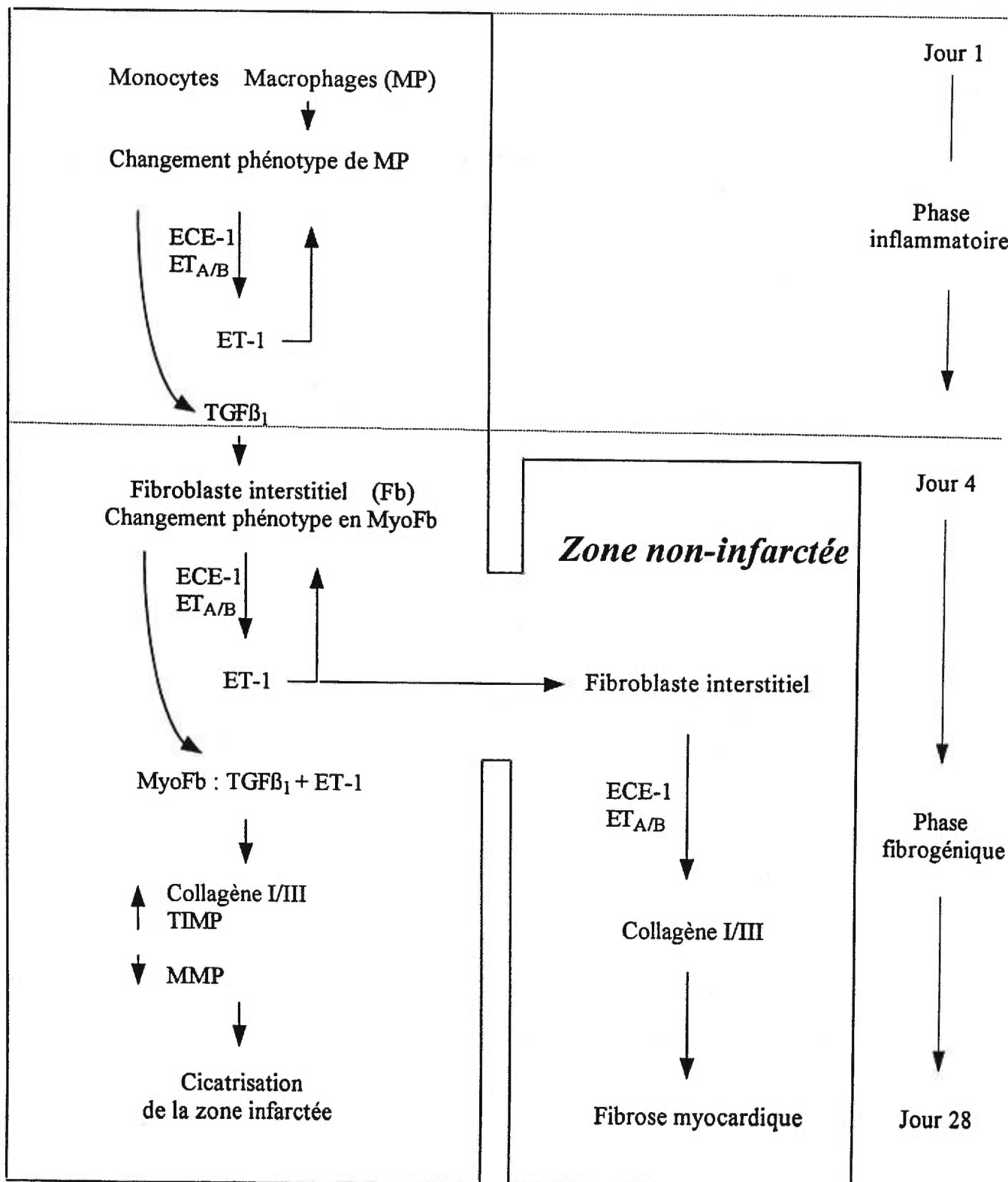
Il a été démontré que le VEGF augmente l'expression d'ARNm de la préproET-1 et de sa sécrétion par les cellules endothéliales aortiques bovines (Matsuura et al, 1997). De même, dans les cellules vasculaires du muscle lisse de rat (Matsuura et al,

1998) et d'ostéoblastes (Kozawa et al, 2000), l'ET-1 augmente l'expression et stimule la sécrétion de VEGF. De plus l'augmentation de la sécrétion de VEGF induite par l'ET-1 est supprimée par l'antagoniste sélectif du récepteur ET_A, BQ-485, et non par l'antagoniste sélectif ET_B, BQ 788. Dans le modèle d'IM, l'augmentation précoce de l'expression de VEGF a été rapportée (Li et al, 1996) et elle peut servir de signal à l'angiogenèse compensatoire pour augmenter la perméabilité des tissus myocardiques et ainsi améliorer les effets de l'hypertrophie post IM. Il est possible qu'un blocage précoce d'ET_A puisse diminuer la formation de VEGF et ainsi altérer l'angiogenèse myocardique post IM.

Indépendamment des changements du nombre de cellules ou de la différenciation cellulaire, l'angiogenèse et la formation de cicatrice exigent également la migration et l'orientation correcte des cellules inflammatoires pour préserver une fonction cardiaque optimale. Récemment, il a été démontré que les gènes de polarité de tissu (frizzled 2, fz2) peuvent être des régulateurs du contrôle architectural lors du processus de cicatrisation cardiaque. L'hybridation *in situ* a indiqué que le gène fz2 est fortement exprimé dans les myofibroblastes pendant leur migration vers la zone infarctée (Blankestijn et al, 1997). Quand ces cellules deviennent stationnaires et bien alignées dans la cicatrice nouvellement formée, l'expression du gène fz2 est diminuée. Les propriétés contractiles de ces myofibroblastes peuvent aider à empêcher la dilatation de la zone infarctée. D'ailleurs, le gène "dishevelled 1" (dvl1), connu pour fonctionner comme molécule de transduction de signal des récepteurs de frizzled, montre une configuration semblable d'expression comme pour

le gène fz2 (Blankesteyn et al, 1997). Par conséquent, les mutations du gène fz2 peuvent altérer l'alignement des myofibroblastes dans la zone infarctée, et de ce fait conduisent à la dilatation et l'anévrisme ventriculaire après l'infarctus. Le rôle de l'endothéline est à déterminer dans ce phénomène (Figure 2).

Zone infarctée



I.5 Blocage sélectif ET_A versus non-sélectif ET_A/ET_B post IM : résultats préliminaires

Considérant les résultats avec le BQ 123 de Sakai (1996) et ceux avec le bosentan (antagoniste ET_A/ET_B) lesquels démontrent des effets bénéfiques moins spectaculaires que le BQ 123, mais néanmoins une réduction significative de la dilatation ventriculaire et une amélioration de la fonction ventriculaire lorsque le traitement a débuté à 3 heures (Fraccarollo et al, 1997) ou une semaine (Mulder et al, 1997) post IM. Considérant que l'utilisation précoce (3 heures–20 heures) de l'antagoniste ET_A de l'endothéline provoque une plus grande dilatation ventriculaire (Hu et al, 1998; Nguyen et al, 1998) avec aucun changement ou détérioration de la fonction ventriculaire dus à l'altération de la formation de la cicatrice et à l'expansion marquée de la cicatrice (Nguyen et al, 1998). L'ensemble des résultats soulève les possibilités suivantes: 1) l'antagonisme ET_B pourrait procurer une certaine protection contre l'expansion de la zone infarctée durant la phase précoce de l'IM, 2) les effets néfastes de l'utilisation précoce (<24 heures) d'antagonistes de l'ET-1 post IM sont limités aux antagonistes sélectifs du récepteur ET_A et; 3) le blocage plus équilibré des récepteurs ET_A et ET_B aurait comme conséquence des effets encore plus bénéfiques que ceux avec le bosentan, qui a toutefois une sélectivité plus grande pour le récepteur ET_A (43 : 1).

Dans le but de vérifier cette hypothèse, nous avons entamé une étude chronique de 100 jours chez les rats avec infarctus du myocarde. Le protocole de cette étude compare l'effet d'un blocage précoce (commencé le traitement <24 heures post IM) versus un blocage plus tardif (10 jours post IM) avec un antagoniste mixte, le LU

420627, sur les paramètres hémodynamiques, le remodelage cicatricielle et ventriculaire ainsi que la survie.

Nos résultats démontrent que l'utilisation précoce de l'antagoniste mixte ET_A/ET_B mène à une altération à la fois dans la zone infarctée caractérisée par l'amincissement et l'expansion de la cicatrice, et aussi dans la zone saine du myocarde caractérisée par une plus grande dilatation ventriculaire. Par contre, avec l'utilisation plus tardive, lorsque le processus de cicatrisation est sur le point d'être bien établie, l'antagoniste non-sélectif mène seulement à la modification du remodelage des myocytes sains induisant une plus grande dilatation ventriculaire. Parce que le taux de mortalité des rats traités avec l'antagoniste non sélectif est élevé, indépendamment du temps d'initiation du traitement, il semble donc que le blocage non sélectif est néfaste dans ce modèle d'IC.

L'ensemble de nos résultats démontre que l'altération du processus de cicatrisation n'est pas seulement limitée au blocage du récepteur ET_A . Il n'est pas évident de réconcilier les résultats de nos études avec ceux de Fraccarollo (1997). Dans leur étude, ils ont trouvé que le bosentan commencé 3 heures post IM, a eu des effets bénéfiques modestes sur le remodelage ventriculaire après 8 semaines de traitement. Parce que le bosentan a une affinité très inférieure sur le récepteur ET_B par rapport au LU 420627 ($K_i = 343$ nM et 6 nM respectivement), il est possible que l'antagonisme partiel du récepteur ET_B soit protecteur en raison des effets différentiels sur divers types de cellules, alors qu'un antagonisme plus complet est

nuisible. Alternativement, ces différences peuvent être le résultat des différences subtiles mais importantes dans les protocoles.

Il a été démontré dans deux préparations de cellules endothéliales différentes, dérivées du rat et de l'humain, qu'une accélération de la mobilité de ces cellules endothéliales est possible en réponse à la stimulation de l'ET-1 (Noiri et al, 1997). Par l'application des agonistes et des antagonistes spécifiques des récepteurs de l'endothéline, il a été possible d'impliquer le récepteur ET_B dans la réponse observée (Goligorsky et al, 1999). Par contre, l'effet sur la mobilité de l'ET-1 est relayée par la production endogène de NO. En effet, le L-NAME bloqueur non sélectif de la synthèse de NO, a empêché la migration des cellules endothéliales induite par l'application exogène de l'ET-1. De plus, l'application de l'antisens de l'isoforme eNOS sur les cellules endothéliales supprime le rôle migrateur produit par l'ET-1 (Goligorsky et al, 1999). Par conséquent, le NO et l'endothéline par l'intermédiaire du récepteur ET_B semblent jouer un rôle important dans la motilité des cellules endothéliales et ainsi dans l'angiogénèse. Il est possible que l'altération du processus de cicatrisation post IM, observée dans notre étude avec l'antagoniste mixte (LU 420627), soit le résultat d'un blocage complet du récepteur ET_B, diminuant ainsi la formation de NO et l'angiogénèse vasculaire myocardique.

De plus, notre étude chronique chez les rats IC avec l'antagoniste mixte, LU 420627, montre une plus grande augmentation de la concentration myocardique du collagène α_1 comparé au contrôle. Cet effet est associé à une détérioration du remodelage ventriculaire et une chute dramatique du taux de survie des rats IM. A

l'opposé, il a été démontré que l'antagoniste sélectif ET_A réduit significativement la fibrose cardiaque et améliore le taux de survie dans ce même modèle (Mulder et al, 1998; Sakai et al, 1996). Ces observations suggèrent que l'augmentation de la fibrose observée dans notre étude pourrait être liée à la diminution de la formation ou de la biodisponibilité de NO par le blocage chronique et complet du récepteur ET_B. Plusieurs études expérimentales démontrent que le NO joue un rôle modulateur important dans la genèse de fibrose cardiaque. L'inhibition chronique de la formation de NO par l'inhibiteur de NO synthase est associée à l'augmentation tissulaire de TGF- β 1 et la fibrose cardiaque (Tomita et al, 1998a). Une étude préliminaire a démontré que l'inhibition chronique de NO induit l'infiltration des monocytes et la formation des myofibroblastes dans le cœur de rat (Tomita et al, 1998b). De plus, il a été démontré que le NO réduit l'expression de molécules d'adhésions et les cytokines proinflammatoires des cellules endothéliales (Moncada, 1997).

L'augmentation de l'activité du facteur EDHF a été rapportée dans les artères mésentériques chez le rat avec IM (Malmsjo et al, 1999). Il a été suggéré que cette augmentation représente un mécanisme compensatoire à la diminution de l'activité du NO pour préserver la fonction endothéliale et la perfusion tissulaire dans ce modèle d'IM (Malmsjo et al, 1999). De plus, l'endothéline provoque des hyperpolarisations des cellules des artères mésentériques de rat et le récepteur ET_B semble être responsable de ce phénomène (Nakashima et al, 1993). Un blocage du récepteur ET_B avec le LU 420 627 chez nos rats avec IM éliminerait le facteur

compensatoire d'EDHF et expliquerait les effets délétères observés dans notre étude avec les rats de 100 jours.

Le problème est actuellement de savoir s'il faut bloquer les deux récepteurs ET_A et ET_B par un antagoniste mixte ou s'il faut bloquer seulement le récepteur ET_A par un antagoniste sélectif du récepteur ET_A dans le traitement de l'insuffisance cardiaque. Pour l'instant, nous savons que le récepteur ET_A joue un rôle important dans le développement et la progression de l'IC. Par contre, nous ne savons pas quel est le rôle exact du récepteur ET_B . Nos résultats préliminaires avec le LU 420627 semblent en faveur au blocage tardif et sélectif du récepteur ET_A .

I.5 Les précisions sur l'étude de remodelage ventriculaire avec le LU 135252

Plusieurs études chez l'animale et chez l'homme ont démontré que le LU 135252 est un antagoniste sélectif pour le récepteur ET_A de l'endothéline (d'Uscio et al, 1997; Barton et al, 1998; Spieker et al, 2000; Berger et al, 2001). La majorité de ces études chroniques ont utilisé les doses variant entre 50 à 60 mg/kg/jour de LU 135252. Par contre, ce composé à de fortes concentrations peut aussi bloquer le récepteur ET_B (Mulder et al, 1998). Le récepteur ET_B est connu pour sa fonctionne de clairance de l'endothéline-1 (Dupuis et al, 1998). Un blocage de ce récepteur avec l'antagoniste sélectif d' ET_B (BQ 788) augmente la concentration plasmatique de l'ET-1 (Dupuis et al, 1998). Dans notre étude sur le remodelage cardiaque, la concentration plasmatique de l'ET-1 dans le groupe sham et mineur infarcté traité au LU 135252 n'est pas différente par rapport au groupe contrôle. Ceci représente une preuve indirecte que la dose utilisée dans la présente étude n'affecte pas les

récepteurs ET_B. De plus, plusieurs laboratoires confirment nos résultats utilisant différents antagonistes sélectifs ET_A (Hu et al, 1998; Pfeffer et al, 2000). Le LU 135252 utilisé à une plus faible dose (30 mg/kg/jour) chez les rats avec IM produisait aussi des effets similaires sur l'épaisseur de la cicatrice et sur l'expansion de la zone infarctée (Galuppo et al, 1999) comme nous avons démontré dans notre étude. L'ensemble de ces observations suggère que le récepteur ET_A pourrait jouer un rôle dominant sur les effets adverses observés post IM.

Pour des raisons pratiques, nous avons jumelé les valeurs hémodynamiques, morphologiques ainsi que biochimiques du groupe sham et mineur infarcté ensemble car aucun de ces paramètres présente des différences significatives entre les deux groupes.

Dans les premiers douze jours suivant l'induction de l'infarctus du myocarde, le taux de survie des rats avec gros infarctus traités au LU 135252 semble être meilleur mais non significatif comparé au groupe contrôle. Il est possible que le LU 135252 possède un effet cardio-protecteur sur la fonction hémodynamique altérée suite à l'infarctus du myocarde. Une production élevée d'ET-1 post IM pourrait exercer une vasoconstriction des artères coronariennes induisant la mort subite. Un blocage d'ET_A avec le LU 127043, l'énantiomère actif du LU 135252, réduisait le taux de mort subite causée par l'injection intraveineuse d'ET-1 chez le rat (Raschack et al, 1995).

Chapitre 6

Conclusions générales

L'insuffisance cardiaque représente un poids économique important. C'est la première cause d'hospitalisation chez les patients de plus de 65 ans. Nos conceptions physiopathologiques de la maladie ont été bouleversées ces dernières années grâce aux progrès majeurs de la recherche. Alors qu'auparavant l'insuffisance cardiaque était considérée comme une condition statique, à déterminants hémodynamiques purs, essentiellement cardiaques, on sait aujourd'hui que c'est un processus dynamique, résultant d'interactions complexes et multiples, notamment neuro-hormonales, touchant tous les organes. Les processus, autrefois appelés compensateurs, ne le sont en fait qu'au début de la maladie, et deviennent ensuite des mécanismes délétères, créant un véritable cercle vicieux. L'insuffisance cardiaque et sa progression sont essentiellement liées à une réorganisation continue du cœur, structurale et fonctionnelle, en réponse à des stimuli hémodynamiques (augmentation des contraintes) et neuro-hormonaux, endocriniens, paracriniens et autocriniens (système rénine angiotensine, système nerveux sympathique, arginine vasopressine, endothéline, facteurs de croissance et cytokines). Les éléments qui conduisent au remodelage macrostructural (modification de l'épaisseur pariétale, modification de forme cavitaire, dilatation ventriculaire) se situent au niveau cellulaire et moléculaire, de toutes les cellules myocytaires et non myocytaires.

L'essentiel des efforts de recherche réalisés dans le cadre de cette thèse a été dirigé vers le développement et l'application d'un modèle expérimental d'infarctus du myocarde chez le rat, reproductible et sensible, capable de caractériser le rôle de l'endothéline dans l'insuffisance cardiaque chronique et, conséquemment, d'apporter

une meilleure compréhension sur le traitement de cette maladie. Les principaux résultats obtenus à l'aide de cette approche expérimentale démontrent que 1) l'utilisation précoce de l'antagoniste du récepteur ET_A de l'endothéline chez le rat post-infarctus mène à l'altération de la formation de la cicatrice, à l'expansion de la zone infarctée, à la dilatation du ventricule gauche et au dysfonctionnement ventriculaire, 2) le remodelage vasculaire pulmonaire et la plus grande expression des protéines de la matrice extracellulaires représentent les mécanismes fondamentaux impliqués dans le développement de l'hypertension pulmonaire secondaire à l'infarctus du myocarde, 3) le blocage du récepteur ET_A est insuffisant pour renverser le remodelage vasculaire pulmonaire, ou le développement de la fibrose pulmonaire dans ce modèle expérimental.

Les travaux réalisés dans le cadre de cette thèse, en combinaison avec de nombreuses observations de la littérature, ont contribué à l'avancement des connaissances sur la physiopathologie de l'insuffisance cardiaque. Ces contributions sont de deux ordres. D'une part, l'endothéline semble jouer un rôle bénéfique à court terme dans la zone infarctée ; l'antagoniste de l'endothéline augmente l'expansion de la cicatrice. D'autre part, le blocage mixte (ET_A/ET_B) a un effet délétère à long terme sur le myocarde non infarci ; l'antagoniste mixte augmente la dilatation ventriculaire et l'hypertrophie et diminue le taux de survie des rats infarctés. Il est donc préférable dans le traitement de l'infarctus du myocarde de commencer la thérapie avec l'antagoniste sélectif ET_A de l'endothéline plus tardivement lorsque la zone infarctée est cicatrisée.

L'endothéline joue un rôle important dans l'insuffisance cardiaque bien qu'il reste beaucoup à découvrir quant au mode d'action du système des endothélines dans cette maladie et aux interactions avec les autres systèmes neurohormonaux et cytokines activées. Antagoniser les effets de l'endothéline semble prometteur avec des effets hémodynamiques favorables et probablement avec un effet bénéfique sur le pronostic. Cependant, de nombreuses questions restent en suspens : ses effets hémodynamiques se maintiennent-ils à long terme ? Retrouve-t-on chez l'homme un effet favorable sur le pronostic ? Quel type de récepteurs de l'endothéline faudrait-il cibler ? Y-a t-il une propriété angiogénique possible de l'endothéline dans la zone infarctée post-infarctus ? Enfin, ces traitements devront se positionner par rapport aux inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine et aux bêta bloquants, leurs effets conjoints lors d'un traitement à long terme nécessite une évaluation.

Bibliographie

- Agati L. Microvascular integrity after reperfusion therapy. *Am Heart J.* 1999 Aug;138(2 Pt 2):76-8.
- Ameli S, Kaul S, Castro L, Arora C, Mirea A, Shah PK. Effect of percutaneous transluminal coronary angioplasty on circulating endothelin levels. *Am J Cardiol.* 1993 Dec 15;72(18):1352-6.
- Anversa P, Beghi C, Kikkawa Y, Olivetti G. Myocardial infarction in rats. Infarct size, myocyte hypertrophy, and capillary growth. *Circ Res.* 1986 Jan;58(1):26-37.
- Anversa P, Kajstura J, Olivetti G. Myocyte death in heart failure. *Curr Opin Cardiol.* 1996 May;11(3):245-51.
- Araki M, Hasegawa K, Iwai-Kanai E, Fujita M, Sawamura T, Kakita T, Wada H, Morimoto T, Sasayama S. Endothelin-1 as a protective factor against beta-adrenergic agonist-induced apoptosis in cardiac myocytes. *J Am Coll Cardiol.* 2000 Oct;36(4):1411-8.
- Assayag P, Carre F, Chevalier B, Delcayre C, Mansier P, Swynghedauw B. Compensated cardiac hypertrophy: arrhythmogenicity and the new myocardial phenotype. I. Fibrosis. *Cardiovasc Res.* 1997 Jun;34(3):439-44.
- Atherton JJ, Moore TD, Lele SS, Thomson HL, Galbraith AJ, Belenkie I, Tyberg JV, Frenneaux MP. Diastolic ventricular interaction in chronic heart failure. *Lancet.* 1997 Jun 14;349(9067):1720-4.
- Azzawi M, Hasleton PS, Hutchinson IV. TNF-alpha in acute cardiac transplant rejection. *Cytokines Cell Mol Ther.* 1999 Mar;5(1):41-9.
- Basu S, Senior R, Raval U, van der Does R, Bruckner T, Lahiri A. Beneficial effects of intravenous and oral carvedilol treatment in acute myocardial infarction. A placebo-controlled, randomized trial. *Circulation.* 1997 Jul 1;96(1):183-91.
- Battegay EJ. Angiogenesis: mechanistic insights, neovascular diseases, and therapeutic prospects. *J Mol Med.* 1995 Jul;73(7):333-46.
- Bauersachs J, Fraccarollo D, Galuppo P, Widder J, Ertl G. Endothelin-receptor blockade improves endothelial vasomotor dysfunction in heart failure. *Cardiovasc Res.* 2000 Jul;47(1):142-9.
- Berrazueta JR, Bhagat K, Vallance P, MacAllister RJ. Dose- and time-dependency of the dilator effects of the endothelin antagonist, BQ-123, in the human forearm. *Br J Clin Pharmacol.* 1997 Dec;44(6):569-71.
- BI, Basualdo CA. Myocardial infarct expansion during indomethacin or ibuprofen therapy for symptomatic post infarction pericarditis. Influence of other pharmacologic agents during early remodelling. *Can J Cardiol.* 1989 May;5(4):211-21.

- Bishop JE, Laurent GJ. Collagen turnover and its regulation in the normal and hypertrophying heart. *Eur Heart J*. 1995 May;16 Suppl C:38-44.
- Blankesteyn WM, Essers-Janssen YP, Verluyten MJ, Daemen MJ, Smits JF. A homologue of *Drosophila* tissue polarity gene *frizzled* is expressed in migrating myofibroblasts in the infarcted rat heart. *Nat Med*. 1997 May;3(5):541-4.
- Bolognese L, Cerisano G. Early predictors of left ventricular remodeling after acute myocardial infarction. *Am Heart J*. 1999 Aug;138(2 Pt 2):79-83.
- Bonow RO. New insights into the cardiac natriuretic peptides. *Circulation*. 1996 Jun 1;93(11):1946-50.
- Booz GW, Baker KM. Molecular signalling mechanisms controlling growth and function of cardiac fibroblasts. *Cardiovasc Res*. 1995 Oct;30(4):537-43.
- Borow KM, Lang RM, Neumann A, Carroll JD, Rajfer SI. Physiologic mechanisms governing hemodynamic responses to positive inotropic therapy in patients with dilated cardiomyopathy. *Circulation*. 1988 Mar;77(3):625-37.
- Boyle MP, Weisman HF. Limitation of infarct expansion and ventricular remodeling by late reperfusion. Study of time course and mechanism in a rat model. *Circulation*. 1993 Dec;88(6):2872-83.
- Bozkurt B, Kribbs SB, Clubb FJ Jr, Michael LH, Didenko VV, Hornsby PJ, Seta Y, Oral H, Spinale FG, Mann DL. Pathophysiologically relevant concentrations of tumor necrosis factor- α promote progressive left ventricular dysfunction and remodeling in rats. *Circulation*. 1998 Apr 14;97(14):1382-91.
- Brandes RP, Schmitz-Winnenthal FH, Feletou M, Godecke A, Huang PL, Vanhoutte PM, Fleming I, Busse R. An endothelium-derived hyperpolarizing factor distinct from NO and prostacyclin is a major endothelium-dependent vasodilator in resistance vessels of wild-type and endothelial NO synthase knockout mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000 Aug 15;97(17):9747-52.
- Braun LT. Physiologic versus pathologic hypertrophy: endurance exercise and chronic pressure overload. *J Cardiovasc Nurs*. 1994 Jul;8(4):39-56.
- Braunwald E, Pfeffer MA. Ventricular enlargement and remodeling following acute myocardial infarction: mechanisms and management. *Am J Cardiol*. 1991 Nov 18;68(14):1D-6D.
- Braunwald E. Heart failure: pathophysiology and treatment. *Am Heart J*. 1981 Sep;102(3 Pt 2):486-90.
- Braunwald E. Mechanism of action of calcium-channel-blocking agents. *N Engl J Med*. 1982 Dec 23;307(26):1618-27.
- Breithardt G, Borggrefe M, Martinez-Rubio A, Budde T. Pathophysiological mechanisms of ventricular tachyarrhythmias. *Eur Heart J*. 1989 Sep;10 Suppl E:9-18.

- Bristow MR. Beta-adrenergic receptor blockade in chronic heart failure. *Circulation*. 2000 Feb 8;101(5):558-69.
- Bristow MR. Mechanisms of development of heart failure in the hypertensive patient. *Cardiology*. 1999;92 Suppl 1:3-6; discussion 7-9, 20-1.
- Bristow MR. Why does the myocardium fail? Insights from basic science. *Lancet*. 1998 Aug;352 Suppl 1:SI8-14.
- Brooks WW, Bing OH, Boluyt MO, Malhotra A, Morgan JP, Satoh N, Colucci WS, Conrad CH. Altered inotropic responsiveness and gene expression of hypertrophied myocardium with captopril. *Hypertension*. 2000 Jun;35(6):1203-9.
- Brown EJ Jr, Kloner RA, Schoen FJ, Hammerman H, Hale S, Braunwald E. Scar thinning due to ibuprofen administration after experimental myocardial infarction. *Am J Cardiol*. 1983 Mar 1;51(5):877-83.
- Brunner HR. Endothelin inhibition as a biologic target for treating hypertension. *Am J Hypertens*. 1998 Apr;11(4 Pt 3):103S-109S.
- Bryant D, Becker L, Richardson J, Shelton J, Franco F, Peshock R, Thompson M, Giroir B. Cardiac failure in transgenic mice with myocardial expression of tumor necrosis factor-alpha. *Circulation*. 1998 Apr 14;97(14):1375-81.
- Buckberg GD. Commonality of ischemic and dilated cardiomyopathy: laplace and ventricular restoration. *J Card Surg*. 1999 Jan-Feb;14(1):53-9.
- Burnett JC Jr. Vasopeptidase inhibition: a new concept in blood pressure management. *J Hypertens Suppl*. 1999 Feb;17(1):S37-43.
- Calderone A, Takahashi N, Izzo NJ Jr, Thaik CM, Colucci WS. Pressure- and volume-induced left ventricular hypertrophies are associated with distinct myocyte phenotypes and differential induction of peptide growth factor mRNAs. *Circulation*. 1995 Nov 1;92(9):2385-90.
- Calderone A, Thaik CM, Takahashi N, Chang DLF, Colucci WS. Nitric oxide, atrial natriuretic peptide, and cyclic GMP inhibit the growth-promoting effects of norepinephrine in cardiac myocytes and fibroblasts. *J Clin Invest*. 1998 Feb 15;101(4):812-8.
- Campbell WB, Gebremedhin D, Pratt PF, Harder DR. Identification of epoxyeicosatrienoic acids as endothelium-derived hyperpolarizing factors. *Circ Res*. 1996 Mar;78(3):415-23.
- Cannon RO 3d, Rodriguez ER, Speir E, Yamaguchi M, Butany J, McManus BM, Bolli R, Ferrans VJ. Effect of ibuprofen on the healing phase of experimental myocardial infarction in the rat. *Am J Cardiol*. 1985 Jun 1;55(13 Pt 1):1609-13.

- Carlstedt F, Lind L, Lindahl B. Proinflammatory cytokines, measured in a mixed population on arrival in the emergency department, are related to mortality and severity of disease. *J Intern Med.* 1997 Nov;242(5):361-5.
- Carmeliet P, Collen D. Molecular basis of angiogenesis. Role of VEGF and VE-cadherin. *Ann N Y Acad Sci.* 2000 May;902:249-62; discussion 262-4.
- Celentano DC, Frishman WH. Matrix metalloproteinases and coronary artery disease: a novel therapeutic target. *J Clin Pharmacol.* 1997 Nov;37(11):991-1000.
- Chand N, Diamantis W, Sofia RD. Pharmacologic modulation of endothelin-induced contraction in isolated rat tracheal segments. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol.* 1990 Nov;70(2):173-81.
- Charles CJ, Lainchbury JG, Lewis LK, Rademaker MT, Richards AM, Yandle TG, Nicholls MG. The role of adrenomedullin. *Am J Hypertens.* 1999 Feb;12(2 Pt 1):166-73.
- Chen HH, Burnett JC Jr. The natriuretic peptides in heart failure: diagnostic and therapeutic potentials. *Proc Assoc Am Physicians.* 1999 Sep-Oct;111(5):406-16.
- Chen HH, Schirger JA, Chau WL, Jougasaki M, Lisy O, Redfield MM, Barclay PT, Burnett JC Jr. Renal response to acute neutral endopeptidase inhibition in mild and severe experimental heart failure. *Circulation.* 1999 Dec 14;100(24):2443-8.
- Chin MH, Goldman L. Factors contributing to the hospitalization of patients with congestive heart failure. *Am J Public Health.* 1997 Apr;87(4):643-8.
- Cho JJ, Hoher B, Herbst H, Jia JD, Ruehl M, Hahn EG, Riecken EO, Schuppan D. An oral endothelin-A receptor antagonist blocks collagen synthesis and deposition in advanced rat liver fibrosis. *Gastroenterology.* 2000 Jun;118(6):1169-78.
- Christman BW, McPherson CD, Newman JH, King GA, Bernard GR, Groves BM, Loyd JE. An imbalance between the excretion of thromboxane and prostacyclin metabolites in pulmonary hypertension. *N Engl J Med.* 1992 Jul 9;327(2):70-5.
- Clavell AL, Stingo AJ, Margulies KB, Brandt RR, Burnett JC Jr. Role of endothelin receptor subtypes in the in vivo regulation of renal function. *Am J Physiol.* 1995 Mar;268(3 Pt 2):F455-60.
- Cleland JG. Progression from hypertension to heart failure. Mechanisms and management. *Cardiology.* 1999;92 Suppl 1:10-9.
- Clerk A, Sugden PH. Regulation of phospholipases C and D in rat ventricular myocytes: stimulation by endothelin-1, bradykinin and phenylephrine. *J Mol Cell Cardiol.* 1997 Jun;29(6):1593-604.
- Cleutjens JP, Blankesteyn WM, Daemen MJ, Smits JF. The infarcted myocardium: simply dead tissue, or a lively target for therapeutic interventions. *Cardiovasc Res.* 1999 Nov;44(2):232-41.

- Cleutjens JP, Kandala JC, Guarda E, Guntaka RV, Weber KT. Regulation of collagen degradation in the rat myocardium after infarction. *J Mol Cell Cardiol.* 1995 Jun;27(6):1281-92.
- Cleutjens JP, Kandala JC, Guarda E, Guntaka RV, Weber KT. Regulation of collagen degradation in the rat myocardium after infarction. *J Mol Cell Cardiol.* 1995 Jun;27(6):1281-92.
- Cleutjens JP, Verluyten MJ, Smiths JF, Daemen MJ. Collagen remodeling after myocardial infarction in the rat heart. *Am J Pathol.* 1995 Aug;147(2):325-38.
- Cleutjens JP, Verluyten MJ, Smiths JF, Daemen MJ. Collagen remodeling after myocardial infarction in the rat heart. *Am J Pathol.* 1995 Aug;147(2):325-38.
- Cleutjens JP. The role of matrix metalloproteinases in heart disease. *Cardiovasc Res.* 1996 Nov;32(5):816-21.
- Cody RJ, Haas GJ, Binkley PF, Capers Q, Kelley R. Plasma endothelin correlates with the extent of pulmonary hypertension in patients with chronic congestive heart failure. *Circulation.* 1992 Feb;85(2):504-9.
- Cohen RA, Vanhoutte PM. Endothelium-dependent hyperpolarization. Beyond nitric oxide and cyclic GMP. *Circulation.* 1995 Dec 1;92(11):3337-49.
- Cohn JN, Levine TB, Olivari MT, Garberg V, Lura D, Francis GS, Simon AB, Rector T. Plasma norepinephrine as a guide to prognosis in patients with chronic congestive heart failure. *N Engl J Med.* 1984 Sep 27;311(13):819-23.
- Coker RK, Laurent GJ. Pulmonary fibrosis: cytokines in the balance. *Eur Respir J.* 1998 Jun;11(6):1218-21
- Colan SD. Mechanics of left ventricular systolic and diastolic function in physiologic hypertrophy of the athlete's heart. *Cardiol Clin.* 1997 Aug;15(3):355-72.
- Colucci WS, Sawyer DB, Singh K, Communal C. Adrenergic overload and apoptosis in heart failure: implications for therapy. *J Card Fail.* 2000 Jun;6(2 Suppl 1):1-7.
- Colucci WS. Molecular and cellular mechanisms of myocardial failure. *Am J Cardiol.* 1997 Dec 4;80(11A):15L-25L
- Conway MA, Bottomley PA, Ouwerkerk R, Radda GK, Rajagopalan B. Mitral regurgitation: impaired systolic function, eccentric hypertrophy, and increased severity are linked to lower phosphocreatine/ATP ratios in humans. *Circulation.* 1998 May 5;97(17):1716-23.
- Corin WJ, Monrad ES, Murakami T, Nonogi H, Hess OM, Krayenbuehl HP. The relationship of afterload to ejection performance in chronic mitral regurgitation. *Circulation.* 1987 Jul;76(1):59-67.

Dagassan PH, Breu V, Clozel M, Kunzli A, Vogt P, Turina M, Kiowski W, Clozel JP. Up-regulation of endothelin-B receptors in atherosclerotic human coronary arteries. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1996 Jan;27(1):147-53.

Damron DS, Van Wagoner DR, Moravec CS, Bond M. Arachidonic acid and endothelin potentiate Ca^{2+} transients in rat cardiac myocytes via inhibition of distinct K^{+} channels. *J Biol Chem*. 1993 Dec 25;268(36):27335-44.

Denault JB, Claing A, D'Orleans-Juste P, Sawamura T, Kido T, Masaki T, Leduc R. Processing of proendothelin-1 by human furin convertase. *FEBS Lett*. 1995 Apr 10;362(3):276-80.

Desmouliere A, Redard M, Darby I, Gabbiani G. Apoptosis mediates the decrease in cellularity during the transition between granulation tissue and scar. *Am J Pathol*. 1995 Jan;146(1):56-66.

Desmouliere A. Factors influencing myofibroblast differentiation during wound healing and fibrosis. *Cell Biol Int*. 1995 May;19(5):471-6.

Dinh-Xuan AT, Higenbottam TW, Clelland CA, Pepke-Zaba J, Cremona G, Butt AY, Large SR, Wells FC, Wallwork J. Impairment of endothelium-dependent pulmonary-artery relaxation in chronic obstructive lung disease. *N Engl J Med*. 1991 May 30;324(22):1539-47.

Dinh-Xuan AT. Endothelial modulation of pulmonary vascular tone. *Eur Respir J*. 1992 Jun;5(6):757-62.

Donckier JE, Hanet C, Berbinschi A, Galanti L, Robert A, Van Mechelen H, Pouleur H, Ketelslegers JM. Cardiovascular and endocrine effects of endothelin-1 at pathophysiological and pharmacological plasma concentrations in conscious dogs. *Circulation*. 1991 Dec;84(6):2476-84.

Donckier JE, Massart PE, Hodeige D, Van Mechelen H, Clozel JP, Laloux O, Ketelslegers JM, Charlier AA, Heyndrickx GR. Additional hypotensive effect of endothelin-1 receptor antagonism in hypertensive dogs under angiotensin-converting enzyme inhibition. *Circulation*. 1997 Aug 19;96(4):1250-6.

Drexler H, Hanze J, Finckh M, Lu W, Just H, Lang RE. Atrial natriuretic peptide in a rat model of cardiac failure. Atrial and ventricular mRNA, atrial content, plasma levels, and effect of volume loading. *Circulation*. 1989 Mar;79(3):620-33.

Drexler H. Nitric oxide and coronary endothelial dysfunction in humans. *Cardiovasc Res*. 1999 Aug 15;43(3):572-9.

Driss AB, Devaux C, Henrion D, Duriez M, Thuillez C, Levy BI, Michel JB. Hemodynamic stresses induce endothelial dysfunction and remodeling of pulmonary artery in experimental compensated heart failure. *Circulation*. 2000 Jun 13;101(23):2764-70.

- Druml W, Steltzer H, Waldhausl W, Lenz K, Hammerle A, Vierhapper H, Gasic S, Wagner OF. Endothelin-1 in adult respiratory distress syndrome. *Am Rev Respir Dis.* 1993 Nov;148(5):1169-73.
- Duncan AM, James GM, Anastasopoulos F, Kladis A, Briscoe TA, Campbell DJ. Interaction between neutral endopeptidase and angiotensin converting enzyme inhibition in rats with myocardial infarction: effects on cardiac hypertrophy and angiotensin and bradykinin peptide levels. *J Pharmacol Exp Ther.* 1999 Apr;289(1):295-303.
- Dupuis J, Rouleau JL, Cernacek P. Reduced pulmonary clearance of endothelin-1 contributes to the increase of circulating levels in heart failure secondary to myocardial infarction. *Circulation.* 1998 Oct 20;98(16):1684-7.
- Dupuis J, Stewart DJ, Cernacek P, Gosselin G. Human pulmonary circulation is an important site for both clearance and production of endothelin-1. *Circulation.* 1996 Oct 1;94(7):1578-84.
- Ebihara I, Nakamura T, Tomino Y, Koide H. Effect of a specific endothelin receptor A antagonist and an angiotensin-converting enzyme inhibitor on glomerular mRNA levels for extracellular matrix components, metalloproteinases (MMP) and a tissue inhibitor of MMP in aminonucleoside nephrosis. *Nephrol Dial Transplant.* 1997 May;12(5):1001-6.
- Eddahibi S, Raffestin B, Clozel M, Levame M, Adnot S. Protection from pulmonary hypertension with an orally active endothelin receptor antagonist in hypoxic rats. *Am J Physiol.* 1995 Feb;268(2 Pt 2):H828-35.
- Eddahibi S, Springall D, Mannan M, Carville C, Chabrier PE, Levame M, Raffestin B, Polak J, Adnot S. Dilator effect of endothelins in pulmonary circulation: changes associated with chronic hypoxia. *Am J Physiol.* 1993 Dec;265(6 Pt 1):L571-80.
- Elferink JG, de Koster BM. Endothelin-induced activation of neutrophil migration. *Biochem Pharmacol.* 1994 Aug 30;48(5):865-71.
- Enhanced acetylcholine and P2Y-receptor stimulated vascular EDHF-dilatation in congestive heart failure. *Cardiovasc Res.* 1999 Jul; 43(1):200-9.
- Eskildsen-Helmond YE, Van Heugten HA, Lamers JM. Regulation and functional significance of phospholipase D in myocardium. *Mol Cell Biochem.* 1996 Apr 12-26;157(1-2):39-48.
- Feletou M, Vanhoutte PM. The alternative: EDHF. *J Mol Cell Cardiol.* 1999 Jan;31(1):15-22.
- Feletou M, Vanhoutte PM. The third pathway: endothelium-dependent hyperpolarization. *J Physiol Pharmacol.* 1999 Dec;50(4):525-34

- Ferrier GR, Howlett SE. Contractions in guinea-pig ventricular myocytes triggered by a calcium-release mechanism separate from Na⁺ and L-currents. *J Physiol*. 1995 Apr 1;484 (Pt 1):107-22.
- Fishbein MC, Y-Rit J, Lando U, Kanmatsuse K, Mercier JC, Ganz W. The relationship of vascular injury and myocardial hemorrhage to necrosis after reperfusion. *Circulation*. 1980 Dec;62(6):1274-9.
- Fletcher PJ, Pfeffer JM, Pfeffer MA, Braunwald E. Left ventricular diastolic pressure-volume relations in rats with healed myocardial infarction. Effects on systolic function. *Circ Res*. 1981 Sep;49(3):618-26.
- Fletcher PJ, Pfeffer JM, Pfeffer MA, Braunwald E. Left ventricular diastolic pressure-volume relations in rats with healed myocardial infarction. Effects on systolic function. *Circ Res*. 1981 Sep;49(3):618-26.
- Florijn KW, Derkx FH, Visser W, Hofman JA, Rosmalen FM, Wallenburg HC, Schalekamp MA. Plasma immunoreactive endothelin-1 in pregnant women with and without pre-eclampsia. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1991;17 Suppl 7:S446-8.
- Fraccarollo D, Hu K, Galuppo P, Gaudron P, Ertl G. Chronic endothelin receptor blockade attenuates progressive ventricular dilation and improves cardiac function in rats with myocardial infarction: possible involvement of myocardial endothelin system in ventricular remodeling. *Circulation*. 1997 Dec 2;96(11):3963-73.
- Franco F, Thomas GD, Giroir B, Bryant D, Bullock MC, Chwialkowski MC, Victor RG, Peshock RM. Magnetic resonance imaging and invasive evaluation of development of heart failure in transgenic mice with myocardial expression of tumor necrosis factor-alpha. *Circulation*. 1999 Jan 26;99(3):448-54.
- Frank S, Madlener M, Werner S. Transforming growth factors beta1, beta2, and beta3 and their receptors are differentially regulated during normal and impaired wound healing. *J Biol Chem*. 1996 Apr 26;271(17):10188-93.
- Frey B, Pacher R, Locker G, Bojic A, Hartter E, Woloszczuk W, Stanek B. Prognostic value of hemodynamic vs big endothelin measurements during long-term IV therapy in advanced heart failure patients. *Chest*. 2000 Jun;117(6):1713-9.
- Frimm C de C, Sun Y, Weber KT. Wound healing following myocardial infarction in the rat: role for bradykinin and prostaglandins. *J Mol Cell Cardiol*. 1996 Jun;28(6):1279-85.
- Fujita H, Yoshiyama M, Takeuchi K, Omura T, Yamagishi H, Iwao H, Miura K, Yoshikawa J. The effect of vasopressin V1- and V2-receptor antagonists on hemodynamics in early and late phase after myocardial infarction in rats. *Jpn J Pharmacol*. 1998 Oct;78(2):229-32.

- Galuppo P, Fraccarollo D, Gaudron P, Bauersachs J. Endothelin A receptor blockade after infarction promotes early infarct expansion. *Circulation*. 1999 Nov 2; 100(18): I-562 (abstract).
- Gambassi G, Cocchi A, Bernabei R, Carbonin P. Congestive heart failure in older adults. *J Am Geriatr Soc*. 1998 Aug;46(8):1053-4.
- Garipey CE, Ohuchi T, Williams SC, Richardson JA, Yanagisawa M. Salt-sensitive hypertension in endothelin-B receptor-deficient rats. *J Clin Invest*. 2000 Apr;105(7):925-33.
- Garratt KN, Holmes DR Jr, Molina-Viamonte V, Reeder GS, Hodge DO, Bailey KR, Lobl JK, Laudon DA, Gibbons RJ. Intravenous adenosine and lidocaine in patients with acute myocardial infarction. *Am Heart J*. 1998 Aug;136(2):196-204.
- Gebremedhin D, Harder DR, Pratt PF, Campbell WB. Bioassay of an endothelium-derived hyperpolarizing factor from bovine coronary arteries: role of a cytochrome P450 metabolite. *J Vasc Res*. 1998 Jul-Aug;35(4):274-84.
- Giaid A, Yanagisawa M, Langleben D, Michel RP, Levy R, Shennib H, Kimura S, Masaki T, Duguid WP, Stewart DJ. Expression of endothelin-1 in the lungs of patients with pulmonary hypertension. *N Engl J Med*. 1993 Jun 17;328(24):1732-9.
- Gidh-Jain M, Huang B, Jain P, Gick G, El-Sherif N. Alterations in cardiac gene expression during ventricular remodeling following experimental myocardial infarction. *J Mol Cell Cardiol*. 1998 Mar;30(3):627-37.
- Gidh-Jain M, Huang B, Jain P, Gick G, El-Sherif N. Alterations in cardiac gene expression during ventricular remodeling following experimental myocardial infarction. *J Mol Cell Cardiol*. 1998 Mar;30(3):627-37.
- Givertz MM, Colucci WS. New targets for heart-failure therapy: endothelin, inflammatory cytokines, and oxidative stress. *Lancet*. 1998 Aug;352 Suppl 1:SI34-8.
- Goligorsky MS, Budzikowski AS, Tsukahara H, Noiri E. Co-operation between endothelin and nitric oxide in promoting endothelial cell migration and angiogenesis. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 1999 Mar;26(3):269-71.
- Goncalves LM. Angiogenic growth factors: potential new treatment for acute myocardial infarction? *Cardiovasc Res*. 2000 Jan 14;45(2):294-302.
- Gonon AT, Wang QD, Pernow J. The endothelin A receptor antagonist LU 135252 protects the myocardium from neutrophil injury during ischaemia/reperfusion. *Cardiovasc Res*. 1998 Sep;39(3):674-82.
- Greenhalgh DG. The role of apoptosis in wound healing. *Int J Biochem Cell Biol*. 1998 Sep;30(9):1019-30.
- Grossman W. Diastolic dysfunction in congestive heart failure. *N Engl J Med*. 1991 Nov 28;325(22):1557-64.

- Grover GJ, Dzwonczyk S, Parham CS. The endothelin-1 receptor antagonist BQ-123 reduces infarct size in a canine model of coronary occlusion and reperfusion. *Cardiovasc Res.* 1993 Sep;27(9):1613-8.
- Hajjar RJ, Schwinger RH, Schmidt U, Kim CS, Lebeche D, Doye AA, Gwathmey JK. Cardiac unloading alters contractility and calcium homeostasis in ventricular myocytes. *J Mol Cell Cardiol.* 2000 Apr;32(4):577-84.
- Hall SA, Cigarroa CG, Marcoux L, Risser RC, Grayburn PA, Eichhorn EJ. Time course of improvement in left ventricular function, mass and geometry in patients with congestive heart failure treated with beta-adrenergic blockade. *J Am Coll Cardiol.* 1995 Apr;25(5):1154-61.
- Hammerman H, Kloner RA, Hale S, Schoen FJ, Braunwald E. Dose-dependent effects of short-term methylprednisolone on myocardial infarct extent, scar formation, and ventricular function. *Circulation.* 1983 Aug;68(2):446-52.
- Hammerman H, Kloner RA, Schoen FJ, Brown EJ Jr, Hale S, Braunwald E. Indomethacin-induced scar thinning after experimental myocardial infarction. *Circulation.* 1983 Jun;67(6):1290-5.
- Hammerman H, Schoen FJ, Braunwald E, Kloner RA. Drug-induced expansion of infarct: morphologic and functional correlations. *Circulation.* 1984 Mar;69(3):611-7.
- Harizi RC, Bianco JA, Alpert JS. Diastolic function of the heart in clinical cardiology. *Arch Intern Med.* 1988 Jan;148(1):99-109.
- Harrison VJ, Barnes K, Turner AJ, Wood E, Corder R, Vane JR. Identification of endothelin 1 and big endothelin 1 in secretory vesicles isolated from bovine aortic endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1995 Jul 3;92(14):6344-8.
- Hart-Favaloro JL, Woodman OL. Rabbit polymorphonuclear leukocytes release a factor that causes constriction of the coronary vasculature. *Am J Physiol.* 1998 Oct;275(4 Pt 2):H1322-8.
- Haunstetter A, Izumo S. Apoptosis: basic mechanisms and implications for cardiovascular disease. *Circ Res.* 1998 Jun 15;82(11):1111-29.
- Haynes WG, Ferro CJ, O'Kane KP, Somerville D, Lomax CC, Webb DJ. Systemic endothelin receptor blockade decreases peripheral vascular resistance and blood pressure in humans. *Circulation.* 1996 May 15;93(10):1860-70.
- Haynes WG, Webb DJ. Contribution of endogenous generation of endothelin-1 to basal vascular tone. *Lancet.* 1994 Sep 24;344(8926):852-4.
- Hickey KA, Rubanyi G, Paul RJ, Highsmith RF. Characterization of a coronary vasoconstrictor produced by cultured endothelial cells. *Am J Physiol.* 1985 May;248(5 Pt 1):C550-6.

- Hilal-Dandan R, Kanter JR, Brunton LL. Characterization of G-protein signaling in ventricular myocytes from the adult mouse heart: differences from the rat. *J Mol Cell Cardiol.* 2000 Jul;32(7):1211-21.
- Hocher B, Schwarz A, Fagan KA, Thone-Reineke C, El-Hag K, Kusserow H, Elitok S, Bauer C, Neumayer HH, Rodman DM, Theuring F. Pulmonary fibrosis and chronic lung inflammation in ET-1 transgenic mice. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2000 Jul;23(1):19-26.
- Hocher B, Zart R, Diekmann F, Gross P, Distler A, Bauer C. Renal endothelin system in rats with liver cirrhosis. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1995;26 Suppl 3:S434-5.
- Hochman JS, Bulkley BH. Expansion of acute myocardial infarction: an experimental study. *Circulation.* 1982 Jun; 65(7): 1446-50.
- Hochman JS, Choo H. Limitation of myocardial infarct expansion by reperfusion independent of myocardial salvage. *Circulation.* 1987 Jan;75(1):299-306.
- Holmes JW, Nunez JA, Covell JW. Functional implications of myocardial scar structure. *Am J Physiol.* 1997 May;272(5 Pt 2):H2123-30.
- Horgan MJ, Pinheiro JM, Malik AB. Mechanism of endothelin-1-induced pulmonary vasoconstriction. *Circ Res.* 1991 Jul;69(1):157-64.
- Hornig B, Maier V, Drexler H. Physical training improves endothelial function in patients with chronic heart failure. *Circulation.* 1996 Jan 15;93(2):210-4.
- Hosoda K, Nakao K, Hiroshi-Arai, Suga S, Ogawa Y, Mukoyama M, Shirakami G, Saito Y, Nakanishi S, Imura H. Cloning and expression of human endothelin-1 receptor cDNA. *FEBS Lett.* 1991 Aug 5;287(1-2):23-6.
- Hu K, Gaudron P, Anders HJ, Weidemann F, Turschner O, Nahrendorf M, Ertl G. Chronic effects of early started angiotensin converting enzyme inhibition and angiotensin AT1-receptor subtype blockade in rats with myocardial infarction: role of bradykinin. *Cardiovasc Res.* 1998 Aug;39(2):401-12.
- Hu K, Gaudron P, Schmidt TJ, Hoffmann KD, Ertl G. Aggravation of left ventricular remodeling by a novel specific endothelin ET(A) antagonist EMD94246 in rats with experimental myocardial infarction. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1998 Sep;32(3):505-8.
- Hutchins GM, Bulkley BH. Infarct expansion versus extension: two different complications of acute myocardial infarction. *Am J Cardiol.* 1978 Jun;41(7):1127-32.
- Inoue A, Yanagisawa M, Kimura S, Kasuya Y, Miyauchi T, Goto K, Masaki T. The human endothelin family: three structurally and pharmacologically distinct isopeptides predicted by three separate genes. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1989 Apr;86(8):2863-7.
- Jackson G, Gibbs CR, Davies MK, Lip GY. ABC of heart failure. *Pathophysiology.* *BMJ.* 2000 Jan 15;320(7228):167-70.

- Jacobs M, Staufenberger S, Gergs U, Meuter K, Brandstatter K, Hafner M, Ertl G, Schorb W. Tumor necrosis factor-alpha at acute myocardial infarction in rats and effects on cardiac fibroblasts. *J Mol Cell Cardiol.* 1999 Nov;31(11):1949-59.
- Jugdutt BI, Hutchins GM, Bulkley BH, Pitt B, Becker LC. Effect of indomethacin on collateral blood flow and infarct size in the conscious dog. *Circulation.* 1979 Apr;59(4):734-43.
- Jugdutt BI, Khan MI, Jugdutt SJ, Blinston GE. Effect of prolonged inotropic stimulation on ventricular remodeling during healing after myocardial infarction in the dog: mechanistic insights. *J Am Coll Cardiol.* 1996 Jun;27(7):1787-95.
- Jugdutt BI, Michorowski BL. Role of infarct expansion in rupture of the ventricular septum after acute myocardial infarction: a two-dimensional echocardiographic study. *Clin Cardiol.* 1987 Nov;10(11):641-52.
- Jugdutt BI, Schwarz-Michorowski BL, Khan MI. Effect of long-term captopril therapy on left ventricular remodeling and function during healing of canine myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol.* 1992 Mar 1;19(3):713-21.
- Jugdutt BI. Prevention of ventricular remodelling post myocardial infarction: timing and duration of therapy. *Can J Cardiol.* 1993 Jan-Feb; 9(1): 103-14.
- Kaneko K, Kanda T, Yokoyama T, Nakazato Y, Iwasaki T, Kobayashi I, Nagai R. Expression of interleukin-6 in the ventricles and coronary arteries of patients with myocardial infarction. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol.* 1997 Jul;97(1):3-12.
- Kentsch M, Otter W. Novel neurohormonal modulators in cardiovascular disorders. The therapeutic potential of endopeptidase inhibitors. *Drugs R D.* 1999 Apr;1(4):331-8.
- Kilpatrick EV, Cocks TM. Evidence for differential roles of nitric oxide (NO) and hyperpolarization in endothelium-dependent relaxation of pig isolated coronary artery. *Br J Pharmacol.* 1994 Jun;112(2):557-65.
- Kimura S, Kasuya Y, Sawamura T, Shinimi O, Sugita Y, Yanagisawa M, Goto K, Masaki T. Conversion of big endothelin-1 to 21-residue endothelin-1 is essential for expression of full vasoconstrictor activity: structure-activity relationships of big endothelin-1. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1989;13 Suppl 5:S5-7; discussion S18.
- Kimura S, Kasuya Y, Sawamura T, Shinimi O, Sugita Y, Yanagisawa M, Goto K, Masaki T. Conversion of big endothelin-1 to 21-residue endothelin-1 is essential for expression of full vasoconstrictor activity: structure-activity relationships of big endothelin-1. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1989;13 Suppl 5:S5-7; discussion S18.
- Kiowski W, Sutsch G, Hunziker P, Muller P, Kim J, Oechslin E, Schmitt R, Jones R, Bertel O. Evidence for endothelin-1-mediated vasoconstriction in severe chronic heart failure. *Lancet.* 1995 Sep 16;346(8977):732-6.

- Kloner RA, Braunwald E. Observations on experimental myocardial ischaemia. *Cardiovasc Res.* 1980 Jul;14(7):371-95.
- Kloner RA, Fishbein MC, Lew H, Maroko PR, Braunwald E. Mummification of the infarcted myocardium by high dose corticosteroids. *Circulation.* 1978 Jan;57(1):56-63.
- Kobayashi S, Nakaya H, Takizawa T, Hara Y, Kimura S, Saito T, Masuda Y. Endothelin-1 partially inhibits ATP-sensitive K⁺ current in guinea pig ventricular cells. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1996 Jan;27(1):12-9.
- Kobayashi T, Miyauchi T, Sakai S, Kobayashi M, Yamaguchi I, Goto K, Sugishita Y. Expression of endothelin-1, ETA and ETB receptors, and ECE and distribution of endothelin-1 in failing rat heart. *Am J Physiol.* 1999 Apr;276(4 Pt 2):H1197-206.
- Kozawa O, Kawamura H, Hatakeyama D, Matsuno H, Uematsu T. Endothelin-1 induces vascular endothelial growth factor synthesis in osteoblasts Involvement of p38 mitogen-activated protein kinase. *Cell Signal.* 2000 Jun 1;12(6):375-380.
- Kramer BK, Nishida M, Kelly RA, Smith TW. Endothelins. Myocardial actions of a new class of cytokines. *Circulation.* 1992 Jan;85(1):350-6
- Krombach RS, Clair MJ, Hendrick JW, Houck WV, Zellner JL, Kribbs SB, Whitebread S, Mukherjee R, de Gasparo M, Spinale FG. Angiotensin converting enzyme inhibition, AT1 receptor inhibition, and combination therapy with pacing induced heart failure: effects on left ventricular performance and regional blood flow patterns. *Cardiovasc Res.* 1998 Jun;38(3):631-45.
- Krum H, Goldsmith R, Wilshire-Clement M, Miller M, Packer M. Role of endothelin in the exercise intolerance of chronic heart failure. *Am J Cardiol.* 1995 Jun 15;75(17):1282-3.
- Krum H, Viskoper RJ, Lacourciere Y, Budde M, Charlon V. The effect of an endothelin-receptor antagonist, bosentan, on blood pressure in patients with essential hypertension. *Bosentan Hypertension Investigators. N Engl J Med.* 1998 Mar 19;338(12):784-90.
- Kurihara Y, Kurihara H, Oda H, Maemura K, Nagai R, Ishikawa T, Yazaki Y. Aortic arch malformations and ventricular septal defect in mice deficient in endothelin-1. *J Clin Invest.* 1995 Jul;96(1):293-300.
- Kurrelmeyer KM, Michael LH, Baumgarten G, Taffet GE, Peschon JJ, Sivasubramanian N, Entman ML, Mann DL. Endogenous tumor necrosis factor protects the adult cardiac myocyte against ischemic-induced apoptosis in a murine model of acute myocardial infarction. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2000 May 9;97(10):5456-61.

Lagrand WK, Niessen HW, Wolbink GJ, Jaspars LH, Visser CA, Verheugt FW, Meijer CJ, Hack CE. C-reactive protein colocalizes with complement in human hearts during acute myocardial infarction. *Circulation*. 1997 Jan 7;95(1):97-103.

Lamas GA, Pfeffer MA, Braunwald E. Patency of the infarct-related coronary artery and ventricular geometry. *Am J Cardiol*. 1991 Nov 18;68(14):41D-51D.

Langleben D, DeMarchie M, Laporta D, Spanier AH, Schlesinger RD, Stewart DJ. Endothelin-1 in acute lung injury and the adult respiratory distress syndrome. *Am Rev Respir Dis*. 1993 Dec;148(6 Pt 1):1646-50.

Latini R, Bianchi M, Correale E, Dinarello CA, Fantuzzi G, Fresco C, Maggioni AP, Mengozzi M, Romano S, Shapiro L, et al. Cytokines in acute myocardial infarction: selective increase in circulating tumor necrosis factor, its soluble receptor, and interleukin-1 receptor antagonist. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1994 Jan;23(1):1-6.

Leclercq F, Messner-Pellenc P, Descours Q, Daures JP, Pasquie JL, Hager FX, Davy JM, Grolleau-Raoux R. Combined assessment of reflow and collateral blood flow by myocardial contrast echocardiography after acute reperfused myocardial infarction. *Heart*. 1999 Jul;82(1):62-7.

Lee TC, Zhao YD, Courtman DW, Stewart DJ. Abnormal aortic valve development in mice lacking endothelial nitric oxide synthase. *Circulation*. 2000 May 23;101(20):2345-8.

Li J, Brown LF, Hibberd MG, Grossman JD, Morgan JP, Simons M. VEGF, flk-1, andflt-1 expression in a rat myocardial infarction model of angiogenesis. *Am J Physiol*. 1996 May;270(5 Pt 2):H1803-11.

Lindpaintner K, Lu W, Neidermayer N, Schieffer B, Just H, Ganten D, Drexler H. Selective activation of cardiac angiotensinogen gene expression in post-infarction ventricular remodeling in the rat. *J Mol Cell Cardiol*. 1993 Feb;25(2):133-43.

Lisy O, Burnett JC Jr. Potential future therapies: natriuretic peptides. *Coron Artery Dis*. 1999 Sep;10(6):389-94.

Little WC, Downes TR. Clinical evaluation of left ventricular diastolic performance. *Prog Cardiovasc Dis*. 1990 Jan-Feb;32(4):273-90.

Litwin SE, Katz SE, Morgan JP, Douglas PS. Serial echocardiographic assessment of left ventricular geometry and function after large myocardial infarction in the rat. *Circulation*. 1994 Jan;89(1):345-54.

Litwin SE, Raya TE, Anderson PG, Litwin CM, Bressler R, Goldman S. Induction of myocardial hypertrophy after coronary ligation in rats decreases ventricular dilatation and improves systolic function. *Circulation*. 1991 Oct;84(4):1819-27.

Lopez Farre A, Riesco A, Moliz M, Egido J, Casado S, Hernando L, Caramelo C. Inhibition by L-arginine of the endothelin-mediated increase in cytosolic calcium in human neutrophils. *Biochem Biophys Res Commun*. 1991 Aug 15;178(3):884-91.

Love MP, Ferro CJ, Haynes WG, Plumpton C, Davenport AP, Webb DJ, McMurray JJ. Endothelin receptor antagonism in patients with chronic heart failure. *Cardiovasc Res*. 2000 Jul;47(1):166-72.

Love MP, Haynes WG, Gray GA, Webb DJ, McMurray JJ. Vasodilator effects of endothelin-converting enzyme inhibition and endothelin ETA receptor blockade in chronic heart failure patients treated with ACE inhibitors. *Circulation*. 1996 Nov 1;94(9):2131-7.

Mahaffy HW. Valvular heart disease. Astute evaluation to surgical success. *JAAPA*. 1999 Oct;12(10):64-6, 69-70, 73-6

Mair J, Friedl W, Thomas S, Puschendorf B. Natriuretic peptides in assessment of left-ventricular dysfunction. *Scand J Clin Lab Invest Suppl*. 1999;230:132-42.

Malmsjo M, Bergdahl A, Zhao XH, Sun XY, Hedner T, Edvinsson L, Erlinge D.

Mandinov L, Eberli FR, Seiler C, Hess OM. Diastolic heart failure. *Cardiovasc Res*. 2000 Mar;45(4):813-25.

Manolio TA, Baughman KL, Rodeheffer R, Pearson TA, Bristow JD, Michels VV, Abelmann WH, Harlan WR. Prevalence and etiology of idiopathic dilated cardiomyopathy (summary of a National Heart, Lung, and Blood Institute workshop. *Am J Cardiol*. 1992 Jun 1;69(17):1458-66.

Marie C, Mossiat C, Gros C, Schwartz JC, Lecomte JM, Bralet J. Effect of long-term therapy with fasidotril, a mixed inhibitor of neprilysin and angiotensin-converting enzyme (ACE), on survival of rats after myocardial infarction. *Cardiovasc Res*. 1999 Mar;41(3):544-53.

Markis JE, Malagold M, Parker JA, Silverman KJ, Barry WH, Als AV, Paulin S, Grossman W, Braunwald E. Myocardial salvage after intracoronary thrombolysis with streptokinase in acute myocardial infarction. *N Engl J Med*. 1981 Oct 1;305(14):777-82.

Marroquin OC, Lamas GA. Beneficial effects of an open artery on left ventricular remodeling after myocardial infarction. *Prog Cardiovasc Dis*. 2000 May-Jun;42(6):471-83.

Martinet Y, Menard O, Vaillant P, Vignaud JM, Martinet N. Cytokines in human lung fibrosis. *Arch Toxicol Suppl*. 1996;18:127-39.

Matsumori A, Furukawa Y, Hashimoto T, Yoshida A, Ono K, Shioi T, Okada M, Iwasaki A, Nishio R, Matsushima K, Sasayama S. Plasma levels of the monocyte chemotactic and activating factor/monocyte chemoattractant protein-1 are elevated in patients with acute myocardial infarction. *J Mol Cell Cardiol*. 1997 Jan;29(1):419-23.

Matsumori A, Yamada T, Suzuki H, Matoba Y, Sasayama S. Increased circulating cytokines in patients with myocarditis and cardiomyopathy. *Br Heart J*. 1994 Dec;72(6):561-6.

Matsuura A, Kawashima S, Yamochi W, Hirata K, Yamaguchi T, Emoto N, Yokoyama M. Vascular endothelial growth factor increases endothelin-converting enzyme expression in vascular endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 1997 Jun 27;235(3):713-6.

Matsuura A, Yamochi W, Hirata K, Kawashima S, Yokoyama M. Stimulatory interaction between vascular endothelial growth factor and endothelin-1 on each gene expression. *Hypertension.* 1998 Jul;32(1):89-95.

Maxwell MP, Hearse DJ, Yellon DM. Species variation in the coronary collateral circulation during regional myocardial ischaemia: a critical determinant of the rate of evolution and extent of myocardial infarction. *Cardiovasc Res.* 1987 Oct;21(10):737-46.

Mayer, N. J., and S. A. Rubin. The molecular and cellular biology of heart failure. *Curr. Opin. Cardiol.* 10: 238-245, 1995.

McCullough PA, O'Neill WW, Graham M, Stomel RJ, Rogers F, David S, Farhat A, Kazlauskaitė R, Al-Zagoum M, Grines CL. A prospective randomized trial of triage angiography in acute coronary syndromes ineligible for thrombolytic therapy. Results of the medicine versus angiography in thrombolytic exclusion (MATE) trial. *J Am Coll Cardiol.* 1998 Sep;32(3):596-605.

McKay RG, Pfeffer MA, Pasternak RC, Markis JE, Come PC, Nakao S, Alderman JD, Ferguson JJ, Safian RD, Grossman W. Left ventricular remodeling after myocardial infarction: a corollary to infarct expansion. *Circulation.* 1986 Oct;74(4):693-702.

McKee PA, Castelli WP, McNamara PM, Kannel WB. The natural history of congestive heart failure: the Framingham study. *N Engl J Med.* 1971 Dec 23;285(26):1441-6.

Meerson FZ, Pshennikova MG. The mechanism of hypertrophy and wear of the myocardium. *Acta Cardiol.* 1965;20(5):381-91.

Meng X, Brown JM, Ao L, Shames BD, Banerjee A, Harken AH. Reduction of infarct size in the rat heart by LPS preconditioning is associated with expression of angiogenic growth factors and increased capillary density. *Shock.* 1999 Jul;12(1):25-31.

Michael JR, Markewitz BA. Endothelins and the lung. *Am J Respir Crit Care Med.* 1996 Sep;154(3 Pt 1):555-81.

Michel JB, Lattion AL, Salzmann JL, Cerol ML, Philippe M, Camilleri JP, Corvol P. Hormonal and cardiac effects of converting enzyme inhibition in rat myocardial infarction. *Circ Res.* 1988 Apr;62(4):641-50.

Mitchell GF, Lamas GA, Vaughan DE, Pfeffer MA. Left ventricular remodeling in the year after first anterior myocardial infarction: a quantitative analysis of

- contractile segment lengths and ventricular shape. *J Am Coll Cardiol*. 1992 May; 19(6):1136-44.
- Miyauchi T, Masaki T. Pathophysiology of endothelin in the cardiovascular system. *Annu Rev Physiol*. 1999;61:391-415.
- Molstad P, Abdelnoor M. Digitoxin-associated mortality in acute myocardial infarction. *Eur Heart J*. 1991 Jan;12(1):65-9.
- Moncada S. Nitric oxide in the vasculature: physiology and pathophysiology. *Ann N Y Acad Sci*. 1997 Apr 15;811:60-7; discussion 67-9.
- Moreau P. Endothelin in hypertension: a role for receptor antagonists? *Cardiovasc Res*. 1998 Sep;39(3):534-42.
- Mulder P, Boujedaini H, Richard V, Derumeaux G, Henry JP, Renet S, Wessale J, Opgenorth T, Thuillez C. Selective endothelin-A versus combined endothelin-A/endothelin-B receptor blockade in rat chronic heart failure. *Circulation*. 2000 Aug 1;102(5):491-3.
- Mulder P, Richard V, Bouchart F, Derumeaux G, Munter K, Thuillez C. Selective ETA receptor blockade prevents left ventricular remodeling and deterioration of cardiac function in experimental heart failure. *Cardiovasc Res*. 1998 Sep;39(3):600-8.
- Mulder P, Richard V, Derumeaux G, Hogie M, Henry JP, Lallemand F, Compagnon P, Mace B, Comoy E, Letac B, Thuillez C. Role of endogenous endothelin in chronic heart failure: effect of long-term treatment with an endothelin antagonist on survival, hemodynamics, and cardiac remodeling. *Circulation*. 1997 Sep 16;96(6):1976-82.
- Mylona P, Cleland JG. Update of REACH-1 and MERIT-HF clinical trials in heart failure. *Cardio.net Editorial Team. Eur J Heart Fail*. 1999 Jun;1(2):197-200.
- Nakashima M, Vanhoutte PM. Endothelin-1 and -3 cause endothelium-dependent hyperpolarization in the rat mesenteric artery. *Am J Physiol*. 1993 Dec;265(6 Pt 2):H2137-41.
- Nelissen-Vrancken HJ, Debets JJ, Snoeckx LH, Daemen MJ, Smits JF. Time-related normalization of maximal coronary flow in isolated perfused hearts of rats with myocardial infarction. *Circulation*. 1996 Jan 15;93(2):349-55.
- Neutel JM, Smith DH. Hypertension control: multifactorial contributions. *Am J Hypertens*. 1999 Dec;12(12 Pt 1-2):164S-169S.
- Nguyen QT, Cernacek P, Calderone A, Stewart DJ, Picard P, Sirois P, White M, Rouleau JL. Endothelin A receptor blockade causes adverse left ventricular remodeling but improves pulmonary artery pressure after infarction in the rat. *Circulation*. 1998 Nov 24;98(21):2323-30.

Nguyen QT, Colombo F, Rouleau JL, Dupuis J, Calderone A. LU135252, an endothelin (A) receptor antagonist did not prevent pulmonary vascular remodelling or lung fibrosis in a rat model of myocardial infarction. *Br J Pharmacol*. 2000 Aug 7;130(7):1525-1530.

Nguyen T, El Salibi E, Rouleau JL. Postinfarction survival and inducibility of ventricular arrhythmias in the spontaneously hypertensive rat : effects of ramipril and hydralazine. *Circulation*. 1998 Nov 10;98(19):2074-80.

Nicholls MG, Richards AM, Crozier IG, Espiner EA, Ikram H. Cardiac natriuretic peptides in heart failure. *Ann Med*. 1993 Dec;25(6):503-5.

Nicod LP. Recognition and treatment of idiopathic pulmonary fibrosis. *Drugs*. 1998 Apr;55(4):555-62.

Noiri E, Hu Y, Bahou WF, Keese CR, Giaever I, Goligorsky MS. Permissive role of nitric oxide in endothelin-induced migration of endothelial cells. *J Biol Chem*. 1997 Jan 17;272(3):1747-52.

Northridge DB, Newby DE, Rooney E, Norrie J, Dargie HJ. Comparison of the short-term effects of candoxatril, an orally active neutral endopeptidase inhibitor, and frusemide in the treatment of patients with chronic heart failure. *Am Heart J*. 1999 Dec;138(6 Pt 1):1149-57.

Ohlin H, Pavlidis N, Ohlin AK. Effect of intravenous nitroglycerin on lipid peroxidation after thrombolytic therapy for acute myocardial infarction. *Am J Cardiol*. 1998 Dec 15;82(12):1463-7.

Ohuchi T, Yanagisawa M, Garipey CE. Renal tubular effects of endothelin-B receptor signaling: its role in cardiovascular homeostasis and extracellular volume regulation. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2000 Jul;9(4):435-9.

Oie E, Vinge LE, Tonnessen T, Groggaard HK, Kjekshus H, Christensen G, Smiseth OA, Attramadal H. Transient, isopeptide-specific induction of myocardial endothelin-1 mRNA in congestive heart failure in rats. *Am J Physiol*. 1997 Oct;273(4 Pt 2):H1727-36.

Olivetti G, Abbi R, Quaini F, Kajstura J, Cheng W, Nitahara JA, Quaini E, Di Loreto C, Beltrami CA, Krajewski S, Reed JC, Anversa P. Apoptosis in the failing human heart. *N Engl J Med*. 1997 Apr 17;336(16):1131-41.

Olivetti G, Capasso JM, Sonnenblick EH, Anversa P. Side-to-side slippage of myocytes participates in ventricular wall remodeling acutely after myocardial infarction in rats. *Circ Res*. 1990 Jul;67(1):23-34.

Omland T, Aakvaag A, Bonarjee VV, Caidahl K, Lie RT, Nilsen DW, Sundsfjord JA, Dickstein K. Plasma brain natriuretic peptide as an indicator of left ventricular systolic function and long-term survival after acute myocardial infarction.

Comparison with plasma atrial natriuretic peptide and N-terminal proatrial natriuretic peptide. *Circulation*. 1996 Jun 1;93(11):1963-9.

Omland T, Lie RT, Aakvaag A, Aarsland T, Dickstein K. Plasma endothelin determination as a prognostic indicator of 1-year mortality after acute myocardial infarction. *Circulation*. 1994 Apr;89(4):1573-9.

Ono K, Matsumori A, Shioi T, Furukawa Y, Sasayama S. Cytokine gene expression after myocardial infarction in rat hearts: possible implication in left ventricular remodeling. *Circulation*. 1998 Jul 14;98(2):149-56.

Opitz CF, Mitchell GF, Pfeffer MA, Pfeffer JM. Arrhythmias and death after coronary artery occlusion in the rat. Continuous telemetric ECG monitoring in conscious, untethered rats. *Circulation*. 1995 Jul 15;92(2):253-61.

Orus J, Roig E, Perez-Villa F, Pare C, Azqueta M, Filella X, Heras M, Sanz G. Prognostic value of serum cytokines in patients with congestive heart failure. *J Heart Lung Transplant*. 2000 May;19(5):419-25.

Pacher R, Stanek B, Hulsmann M, Koller-Strametz J, Berger R, Schuller M, Hartter E, Ogris E, Frey B, Heinz G, Maurer G. Impact of big endothelin-1 plasma concentrations compared with invasive hemodynamic evaluation in severe heart failure. *J Am Coll Cardiol*. 1996 Mar 1;27(3):633-41.

Packer M. The neurohormonal hypothesis: a theory to explain the mechanism of disease progression in heart failure. *J Am Coll Cardiol*. 1992 Jul;20(1):248-54.

Park SH, Saleh D, Giaid A, Michel RP. Increased endothelin-1 in bleomycin-induced pulmonary fibrosis and the effect of an endothelin receptor antagonist. *Am J Respir Crit Care Med*. 1997 Aug;156(2 Pt 1):600-8.

Parmley WW. Cost-effectiveness of reperfusion strategies. *Am Heart J*. 1999 Aug;138(2 Pt 2):142-52.

Pelliccia A, Culasso F, Di Paolo FM, Maron BJ. Physiologic left ventricular cavity dilatation in elite athletes. *Ann Intern Med*. 1999 Jan 5;130(1):23-31.

Pernow J, Kaijser L, Lundberg JM, Ahlberg G. Comparable potent coronary constrictor effects of endothelin-1 and big endothelin-1 in humans. *Circulation*. 1996 Nov 1;94(9):2077-82.

Pfeffer JM, Finn PV, Pfeffer MA. Endothelin-A receptor antagonism in rats with myocardial infarction and failure. *J Am Coll Cardiol*. 1997;29(suppl. A):399A.

Pfeffer JM, Finn PV, Zornoff L, Pfeffer MA. Endothelin-A receptor antagonism during acute myocardial infarction in rats. *Cardiovascular Drugs and Therapy*. 2000; 14: 577-85.

Pfeffer JM, Pfeffer MA, Fletcher PJ, Braunwald E. Ventricular performance in rats with myocardial infarction and failure. *Am J Med*. 1984 May 31; 76(5B):99-103.

Pfeffer JM, Pfeffer MA. Angiotensin converting enzyme inhibition and ventricular remodeling in heart failure. *Am J Med.* 1988 Mar 11;84(3A):37-44.

Pfeffer MA, Braunwald E, Moye LA, Basta L, Brown EJ Jr, Cuddy TE, Davis BR, Geltman EM, Goldman S, Flaker GC, et al. Effect of captopril on mortality and morbidity in patients with left ventricular dysfunction after myocardial infarction. Results of the survival and ventricular enlargement trial. The SAVE Investigators. *N Engl J Med.* 1992 Sep 3;327(10):669-77.

Pfeffer MA, Braunwald E. Ventricular remodeling after myocardial infarction. Experimental observations and clinical implications. *Circulation.* 1990 Apr;81(4):1161-72.

Pfeffer MA, Greaves SC, Arnold JM, Glynn RJ, LaMotte FS, Lee RT, Menapace FJ Jr, Rapaport E, Ridker PM, Rouleau JL, Solomon SD, Hennekens CH. Early versus delayed angiotensin-converting enzyme inhibition therapy in acute myocardial infarction. The healing and early afterload reducing therapy trial. *Circulation.* 1997 Jun 17;95(12):2643-51.

Pfeffer MA, Pfeffer JM, Steinberg C, Finn P. Survival after an experimental myocardial infarction: beneficial effects of long-term therapy with captopril. *Circulation.* 1985 Aug;72(2):406-12.

Pfeffer MA. Left ventricular remodeling after acute myocardial infarction. *Annu Rev Med.* 1995;46:455-66.

Picard MH, Wilkins GT, Ray PA, Weyman AE. Natural history of left ventricular size and function after acute myocardial infarction. Assessment and prediction by echocardiographic endocardial surface mapping. *Circulation.* 1990 Aug;82(2):484-94.

Picard P, Smith PJ, Monge JC, Rouleau JL, Nguyen QT, Calderone A, Stewart DJ. Coordinated upregulation of the cardiac endothelin system in a rat model of heart failure. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1998;31 Suppl 1:S294-7.

Pirollo JS, Hutchins GM, Moore GW. Infarct expansion: pathologic analysis of 204 patients with a single myocardial infarct. *J Am Coll Cardiol.* 1986 Feb;7(2):349-54.

Pitt B, Segal R, Martinez FA, Meurers G, Cowley AJ, Thomas I, Deedwania PC, Ney DE, Snively DB, Chang PI. Randomised trial of losartan versus captopril in patients over 65 with heart failure. *Lancet.* 1997 Mar 15;349(9054):747-52.

Pitt B, Zannad F, Remme WJ, Cody R, Castaigne A, Perez A, Palensky J, Wittes J. The effect of spironolactone on morbidity and mortality in patients with severe heart failure. Randomized Aldactone Evaluation Study Investigators. *N Engl J Med.* 1999 Sep 2;341(10):709-17.

- Pitt B. Importance of angiotensin-converting enzyme inhibitors in myocardial infarction and congestive heart failure: implications for clinical practice. *Cardiology*. 1995;86 Suppl 1:41-5.
- Ponick K, Vogelsang M, Heinroth M, Becker K, Zolk O, Bohm M, Zerkowski HR, Brodde OE. Endothelin receptors in the failing and nonfailing human heart. *Circulation*. 1998 Mar 3;97(8):744-51.
- Poulat P, Couture R. Increased pulmonary vascular permeability and oedema induced by intrathecally injected endothelins in rat. *Eur J Pharmacol*. 1998 Mar 5;344(2-3):251-9.
- Prabhu SD, Chandrasekar B, Murray DR, Freeman GL. beta-adrenergic blockade in developing heart failure: effects on myocardial inflammatory cytokines, nitric oxide, and remodeling. *Circulation*. 2000 May 2;101(17):2103-9.
- Prasad MR. Endothelin stimulates degradation of phospholipids in isolated rat hearts. *Biochem Biophys Res Commun*. 1991 Jan 31;174(2):952-7.
- Prie S, Stewart DJ, Dupuis J. EndothelinA receptor blockade improves nitric oxide-mediated vasodilation in monocrotaline-induced pulmonary hypertension. *Circulation*. 1998 Jun 2;97(21):2169-74.
- Raschack M, Unger L, Riechers H, Klinge D. Receptor selectivity of endothelin antagonists and prevention of vasoconstriction and endothelin-induced sudden death. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1995;26 Suppl 3:S397-9.
- Rasmussen TE, Jougasaki M, Supaporn T, Hallett JW Jr, Brooks DP, Burnett JC Jr. Cardiovascular actions of ET-B activation in vivo and modulation by receptor antagonism. *Am J Physiol*. 1998 Jan;274(1 Pt 2):R131-8.
- Raut R, Rouleau JL, Blais C Jr, Gosselin H, Molinaro G, Sirois MG, Lepage Y, Crine P, Adam A. Bradykinin metabolism in the postinfarcted rat heart: role of ACE and neutral endopeptidase 24.11. *Am J Physiol*. 1999 May;276(5 Pt 2):H1769-79.
- Ravens U, Dobrev D. Regulation of sarcoplasmic reticulum Ca(2+)-ATPase and phospholamban in the failing and nonfailing heart. *Cardiovasc Res*. 2000 Jan 1;45(1):245-52.
- Ray SG, McMurray JJ, Morton JJ, Dargie HJ. Circulating endothelin in acute ischaemic syndromes. *Br Heart J*. 1992 May;67(5):383-6.
- Raya TE, Gay RG, Lancaster L, Aguirre M, Moffett C, Goldman S. Serial changes in left ventricular relaxation and chamber stiffness after large myocardial infarction in rats. *Circulation*. 1988 Jun;77(6):1424-31.
- Rebuffat P, Mazzocchi G, Macchi C, Malendowicz LK, Gottardo G, Nussdorfer GG. Mechanisms and receptor subtypes involved in the stimulatory action of endothelin-1 on rat adrenal zona glomerulosa. *Int J Mol Med*. 1999 Mar;3(3):307-310.

- Rector TS, Cohn JN. Prognosis in congestive heart failure. *Annu Rev Med* 1994;45:341-50.
- Rector TS, Olivari MT, Levine TB, Francis GS, Cohn JN. Predicting survival for an individual with congestive heart failure using the plasma norepinephrine concentration. *Am Heart J*. 1987 Jul;114(1 Pt 1):148-52.
- Reimer KA, Vander Heide RS, Richard VJ. Reperfusion in acute myocardial infarction: effect of timing and modulating factors in experimental models. *Am J Cardiol*. 1993 Dec 16;72(19):13G-21G.
- Reiss K, Capasso JM, Huang HE, Meggs LG, Li P, Anversa P. ANG II receptors, c-myc, and c-jun in myocytes after myocardial infarction and ventricular failure. *Am J Physiol*. 1993 Mar;264(3 Pt 2):H760-9.
- Richard V, Murry CE, Reimer KA. Healing of myocardial infarcts in dogs. Effects of late reperfusion. *Circulation*. 1995 Oct 1;92(7):1891-901.
- Ridker PM, Rifai N, Pfeffer M, Sacks F, Lepage S, Braunwald E. Elevation of tumor necrosis factor-alpha and increased risk of recurrent coronary events after myocardial infarction. *Circulation*. 2000 May 9;101(18):2149-53.
- Ridker PM, Rifai N, Stampfer MJ, Hennekens CH. Plasma concentration of interleukin-6 and the risk of future myocardial infarction among apparently healthy men. *Circulation*. 2000 Apr 18;101(15):1767-72.
- Rodeheffer RJ, Lerman A, Heublein DM, Burnett JC Jr. Increased plasma concentrations of endothelin in congestive heart failure in humans. *Mayo Clin Proc*. 1992 Aug;67(8):719-24.
- Rohde LE, Aikawa M, Cheng GC, Sukhova G, Solomon SD, Libby P, Pfeffer J, Pfeffer MA, Lee RT. Echocardiography-derived left ventricular end-systolic regional wall stress and matrix remodeling after experimental myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*. 1999 Mar;33(3):835-42.
- Roivainen M, Viik-Kajander M, Palosuo T, Toivanen P, Leinonen M, Saikku P, Tenkanen L, Manninen V, Hovi T, Manttari M. Infections, inflammation, and the risk of coronary heart disease. *Circulation*. 2000 Jan 25;101(3):252-7.
- Romas E, Martin TJ. Cytokines in the pathogenesis of osteoporosis. *Osteoporos Int*. 1997;7 Suppl 3:S47-53.
- Ross AM, Coyne KS, Reiner JS, Greenhouse SW, Fink C, Frey A, Moreyra E, Traboulsi M, Racine N, Riba AL, Thompson MA, Rohrbeck S, Lundergan CF. A randomized trial comparing primary angioplasty with a strategy of short-acting thrombolysis and immediate planned rescue angioplasty in acute myocardial infarction: the PACT trial. PACT investigators. Plasminogen-activator Angioplasty Compatibility Trial. *J Am Coll Cardiol*. 1999 Dec;34(7):1954-62.

- Ross AM. Thrombolytic therapy for acute myocardial infarction. *Cardiovasc Clin.* 1989;20(1):209-18.
- Rossi GP, Sacchetto A, Cesari M, Pessina AC. Interactions between endothelin-1 and the renin-angiotensin-aldosterone system. *Cardiovasc Res.* 1999 Aug 1;43(2):300-7.
- Rouleau JL, Packer M, Moye L, de Champlain J, Bichet D, Klein M, Rouleau JR, Sussex B, Arnold JM, Sestier F, et al. Prognostic value of neurohumoral activation in patients with an acute myocardial infarction: effect of captopril. *J Am Coll Cardiol.* 1994 Sep;24(3):583-91.
- Rouleau JL, Talajic M, Sussex B, Potvin L, Warnica W, Davies RF, Gardner M, Stewart D, Plante S, Dupuis R, Lauzon C, Ferguson J, Mikes E, Balnozan V, Savard P. Myocardial infarction patients in the 1990s--their risk factors, stratification and survival in Canada: the Canadian Assessment of Myocardial Infarction (CAMI) Study. *J Am Coll Cardiol.* 1996 Apr;27(5):1119-27.
- Rubanyi GM, Polokoff MA. Endothelins: molecular biology, biochemistry, pharmacology, physiology, and pathophysiology. *Pharmacol Rev.* 1994 Sep;46(3):325-415.
- Rush JE, Rajfer SI. Theoretical basis for the use of angiotensin II antagonists in the treatment of heart failure. *J Hypertens Suppl.* 1993 Apr;11(3):S69-71.
- Russell FD, Davenport AP. Secretory pathways in endothelin synthesis. *Br J Pharmacol.* 1999 Jan;126(2):391-8.
- Rutherford JD, Pfeffer MA, Moye LA, Davis BR, Flaker GC, Kowey PR, Lamas GA, Miller HS, Packer M, Rouleau JL, et al. Effects of captopril on ischemic events after myocardial infarction. Results of the Survival and Ventricular Enlargement trial. SAVE Investigators. *Circulation.* 1994 Oct;90(4):1731-8.
- Sadanandan S, Hochman JS. Early reperfusion, late reperfusion, and the open artery hypothesis: an overview. *Prog Cardiovasc Dis.* 2000 May-Jun;42(6):397-404.
- Sadoshima J. Cytokine actions of angiotensin II. *Circ Res.* 2000 Jun 23;86(12):1187-9.
- Sakai S, Miyauchi T, Kobayashi M, Yamaguchi I, Goto K, Sugishita Y. Inhibition of myocardial endothelin pathway improves long-term survival in heart failure. *Nature.* 1996 Nov 28;384(6607):353-5.
- Sakai S, Miyauchi T, Sakurai T, Yamaguchi I, Kobayashi M, Goto K, Sugishita Y. Pulmonary hypertension caused by congestive heart failure is ameliorated by long-term application of an endothelin receptor antagonist. Increased expression of endothelin-1 messenger ribonucleic acid and endothelin-1-like immunoreactivity in the lung in congestive heart failure in rats. *J Am Coll Cardiol.* 1996 Nov 15;28(6):1580-8.

- Sakai S, Miyauchi T, Yamaguchi I. Long-term endothelin receptor antagonist administration improves alterations in expression of various cardiac genes in failing myocardium of rats with heart failure. *Circulation*. 2000 Jun 20;101(24):2849-53.
- Schaer DH, Leiboff RH, Katz RJ, Wasserman AG, Bren GB, Varghese PJ, Ross AM. Recurrent early ischemic events after thrombolysis for acute myocardial infarction. *Am J Cardiol*. 1987 Apr 1;59(8):788-92.
- Schaper W, De Brabander M, Lewi P. DNA synthesis and mitoses in coronary collateral vessels of the dog. *Circ Res*. 1971 Jun;28(6):671-9.
- Schieffer B, Wirger A, Meybrunn M, Seitz S, Holtz J, Riede UN, Drexler H. Comparative effects of chronic angiotensin-converting enzyme inhibition and angiotensin II type 1 receptor blockade on cardiac remodeling after myocardial infarction in the rat. *Circulation*. 1994 May;89(5):2273-82.
- Schiffrin EL. Endothelin and endothelin antagonists in hypertension. *J Hypertens*. 1998 Dec;16(12 Pt 2):1891-5.
- Schnee JM, Hsueh WA. Angiotensin II, adhesion, and cardiac fibrosis. *Cardiovasc Res*. 2000 May;46(2):264-8.
- Schrier RW, Abdallah JG, Weinberger HH, Abraham WT. Therapy of heart failure. *Kidney Int*. 2000 Apr;57(4):1418-25.
- Schroder R, Neuhaus KL, Linderer T, Bruggemann T, Tebbe U, Wegscheider K. Impact of late coronary artery reperfusion on left ventricular function one month after acute myocardial infarction (results from the ISAM study). *Am J Cardiol*. 1989 Oct 15;64(14):878-84.
- Schunkert H, Ingelfinger JR, Hirsch AT, Tang SS, Litwin SE, Talsness CE, Dzau VJ. Evidence for tissue-specific activation of renal angiotensinogen mRNA expression in chronic stable experimental heart failure. *J Clin Invest*. 1992 Oct;90(4):1523-9.
- Schunkert H, Tang SS, Litwin SE, Diamant D, Riegger G, Dzau VJ, Ingelfinger JR. Regulation of intrarenal and circulating renin-angiotensin systems in severe heart failure in the rat. *Cardiovasc Res*. 1993 May;27(5):731-5.
- Schuster EH, Bulkley BH. Expansion of transmural myocardial infarction: a pathophysiologic factor in cardiac rupture. *Circulation*. 1979 Dec;60(7):1532-8.
- Shah M, Foreman DM, Ferguson MW. Neutralisation of TGF-beta 1 and TGF-beta 2 or exogenous addition of TGF-beta 3 to cutaneous rat wounds reduces scarring. *J Biol Chem* 1999 Feb 12;274(7):4213-9.
- Shah M, Revis D, Herrick S, Baillie R, Thorgeirson S, Ferguson M, Roberts A. Role of elevated plasma transforming growth factor-beta1 levels in wound healing. *Am J Pathol*. 1999 Apr;154(4):1115-24.

- Shao Q, Ren B, Zarain-Herzberg A, Ganguly PK, Dhalla NS. Captopril treatment improves the sarcoplasmic reticular Ca(2+) transport in heart failure due to myocardial infarction. *J Mol Cell Cardiol.* 1999 Sep;31(9):1663-72.
- Shichiri M, Hirata Y, Ando K, Emori T, Ohta K, Kimoto S, Ogura M, Inoue A, Marumo F. Plasma endothelin levels in hypertension and chronic renal failure. *Hypertension.* 1990 May;15(5):493-6.
- Shimada K, Takahashi M, Ikeda M, Tanzawa K. Identification and characterization of two isoforms of an endothelin-converting enzyme-1. *FEBS Lett.* 1995 Sep 4;371(2):140-4.
- Sigurdsson A, Swedberg K. The role of neurohormonal activation in chronic heart failure and postmyocardial infarction. *Am Heart J.* 1996 Jul;132(1 Pt 2 Su):229-34.
- Silvestre JS, Heymes C, Oubenaissa A, Robert V, Aupetit-Faisant B, Carayon A, Swynghedauw B, Delcayre C. Activation of cardiac aldosterone production in rat myocardial infarction: effect of angiotensin II receptor blockade and role in cardiac fibrosis. *Circulation.* 1999 May 25;99(20):2694-701.
- Sime PJ, Xing Z, Graham FL, Csaky KG, Gaultie J. Adenovector-mediated gene transfer of active transforming growth factor-beta1 induces prolonged severe fibrosis in rat lung. *J Clin Invest.* 1997 Aug 15;100(4):768-76.
- Siwik DA, Chang DL, Colucci WS. Interleukin-1beta and tumor necrosis factor-alpha decrease collagen synthesis and increase matrix metalloproteinase activity in cardiac fibroblasts in vitro. *Circ Res.* 2000 Jun 23;86(12):1259-65.
- Sokolovsky M. Endothelin receptor subtypes and their role in transmembrane signaling mechanisms. *Pharmacol Ther.* 1995;68(3):435-71.
- Song JC, White CM. Pharmacologic, pharmacokinetic, and therapeutic differences among angiotensin II receptor antagonists. *Pharmacotherapy.* 2000 Feb;20(2):130-9.
- Soonpaa MH, Daud AI, Koh GY, Klug MG, Kim KK, Wang H, Field LJ. Potential approaches for myocardial regeneration. *Ann N Y Acad Sci.* 1995 Mar 27;752:446-54.
- Spinale FG, de Gasparo M, Whitebread S, Hebbard L, Clair MJ, Melton DM, Krombach RS, Mukherjee R, Iannini JP, O SJ. Modulation of the renin-angiotensin pathway through enzyme inhibition and specific receptor blockade in pacing-induced heart failure: I. Effects on left ventricular performance and neurohormonal systems. *Circulation.* 1997 Oct 7;96(7):2385-96.
- Spinale FG, Walker JD, Mukherjee R, Iannini JP, Keever AT, Gallagher KP. Concomitant endothelin receptor subtype-A blockade during the progression of pacing-induced congestive heart failure in rabbits. Beneficial effects on left ventricular and myocyte function. *Circulation.* 1997 Apr 1;95(7):1918-29.

- Spinar J, Vitovec J, Spinarova L, Pluhacek L, Fischerova B, Toman J. A comparison of intervention with losartan or captopril in acute myocardial infarction. *Eur J Heart Fail.* 2000 Mar;2(1):91-100.
- Spirito P, Pelliccia A, Proschan MA, Granata M, Spataro A, Bellone P, Caselli G, Biffi A, Vecchio C, Maron BJ. Morphology of the "athlete's heart" assessed by echocardiography in 947 elite athletes representing 27 sports. *Am J Cardiol.* 1994 Oct 15;74(8):802-6.
- St John Sutton M, Pfeffer MA, Moye L, Plappert T, Rouleau JL, Lamas G, Rouleau J, Parker JO, Arnold MO, Sussex B, Braunwald E. Cardiovascular death and left ventricular remodeling two years after myocardial infarction: baseline predictors and impact of long-term use of captopril: information from the Survival and Ventricular Enlargement (SAVE) trial. *Circulation.* 1997 Nov 18; 96(10):3294-9.
- Stanimirovic DB, Nikodijevic B, Nikodijevic-Kedeva D, McCarron RM, Spatz M. Signal transduction and Ca²⁺ uptake activated by endothelins in rat brain endothelial cells. *Eur J Pharmacol.* 1994 Dec 15;288(1):1-8.
- Steg PG, Laperche T, Golmard JL, Juliard JM, Benamer H, Himbert D, Aubry P. Efficacy of streptokinase, but not tissue-type plasminogen activator, in achieving 90-minute patency after thrombolysis for acute myocardial infarction decreases with time to treatment. PERM Study Group. Prospective Evaluation of Reperfusion Markers. *J Am Coll Cardiol.* 1998 Mar 15;31(4):776-9.
- Steurer G, Yang P, Rao V, Mohl W, Glogar D, Smetana R. Acute myocardial infarction, reperfusion injury, and intravenous magnesium therapy: basic concepts and clinical implications. *Am Heart J.* 1996 Aug;132(2 Pt 2 Su):478-82.
- Stewart DJ, Kubac G, Costello KB, Cernacek P. Increased plasma endothelin-1 in the early hours of acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol.* 1991 Jul;18(1):38-43.
- Stewart DJ, Levy RD, Cernacek P, Langleben D. Increased plasma endothelin-1 in pulmonary hypertension: marker or mediator of disease? *Ann Intern Med.* 1991 Mar 15;114(6):464-9.
- Stone GW, Brodie BR, Griffin JJ, Grines L, Boura J, O'Neill WW, Grines CL. Clinical and angiographic outcomes in patients with previous coronary artery bypass graft surgery treated with primary balloon angioplasty for acute myocardial infarction. Second Primary Angioplasty in Myocardial Infarction Trial (PAMI-2) Investigators. *J Am Coll Cardiol.* 2000 Mar ;35(3):605-11.
- Strachan FE, Spratt JC, Wilkinson IB, Johnston NR, Gray GA, Webb DJ. Systemic blockade of the endothelin-B receptor increases peripheral vascular resistance in healthy men. *Hypertension.* 1999 Jan;33(1 Pt 2):581-5.
- Stump GL, Wallace AA, Gilberto DB, Gehret JR, Lynch JJ Jr. Arrhythmogenic potential of positive inotropic agents. *Basic Res Cardiol.* 2000 Jun;95(3):186-98.

- Sturk A, Hack CE, Aarden LA, Brouwer M, Koster RR, Sanders GT. Interleukin-6 release and the acute-phase reaction in patients with acute myocardial infarction: a pilot study. *J Lab Clin Med.* 1992 May;119(5):574-9.
- Sun Y, Weber KT. Infarct scar: a dynamic tissue. *Cardiovasc Res.* 2000 May;46(2):250-6.
- Sun Y, Zhang JQ, Zhang J, Lamparter S. Cardiac remodeling by fibrous tissue after infarction in rats. *J Lab Clin Med.* 2000 Apr;135(4):316-23.
- Sutsch G, Kiowski W, Yan XW, Hunziker P, Christen S, Strobel W, Kim JH, Rickenbacher P, Bertel O. Short-term oral endothelin-receptor antagonist therapy in conventionally treated patients with symptomatic severe chronic heart failure. *Circulation.* 1998 Nov 24;98(21):2262-8.
- Sutton MG, Sharpe N. Left ventricular remodeling after myocardial infarction: pathophysiology and therapy. *Circulation.* 2000 Jun 27;101(25):2981-8.
- Swynghedauw B. Molecular mechanisms of myocardial remodeling. *Physiol Rev.* 1999 Jan;79(1):215-62.
- Tajima M, Weinberg EO, Bartunek J, Jin H, Yang R, Paoni NF, Lorell BH. Treatment with growth hormone enhances contractile reserve and intracellular calcium transients in myocytes from rats with postinfarction heart failure. *Circulation.* 1999 Jan 5-12;99(1):127-34.
- Takuwa N, Takuwa Y, Yanagisawa M, Yamashita K, Masaki T. A novel vasoactive peptide endothelin stimulates mitogenesis through inositol lipid turnover in Swiss 3T3 fibroblasts. *J Biol Chem.* 1989 May 15;264(14):7856-61.
- Tardif JC, Rouleau JL. Diastolic dysfunction. *Can J Cardiol.* 1996 Apr;12(4):389-98.
- Taylor SG, Weston AH. Endothelium-derived hyperpolarizing factor: a new endogenous inhibitor from the vascular endothelium. *Trends Pharmacol Sci.* 1988 Aug;9(8):272-4.
- Theroux P, Ross J Jr, Franklin D, Kemper WS, Sasayama S. Coronary arterial reperfusion. III. Early and late effects on regional myocardial function and dimensions in conscious dogs. *Am J Cardiol.* 1976 NOV 4;38(5):599-606.
- Theroux P. Myocardial cell protection : a challenging time for action and a challenging time for clinical research. *Circulation.* 2000 Jun 27;101(25):2874-6.
- Thorin E, Lucas M, Cernacek P, Dupuis J. Role of ET(A) receptors in the regulation of vascular reactivity in rats with congestive heart failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2000 Aug;279(2):H844-51.
- Tomita H, Egashira K, Kubo-Inoue M, Usui M, Koyanagi M, Shimokawa H, Takeya M, Yoshimura T, Takeshita A. Inhibition of NO synthesis induces inflammatory

changes and monocyte chemoattractant protein-1 expression in rat hearts and vessels. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1998b Sep;18(9):1456-64.

Tomita H, Egashira K, Ohara Y, Takemoto M, Koyanagi M, Katoh M, Yamamoto H, Tamaki K, Shimokawa H, Takeshita A. Early induction of transforming growth factor-beta via angiotensin II type 1 receptors contributes to cardiac fibrosis induced by long-term blockade of nitric oxide synthesis in rats. *Hypertension.* 1998a Aug;32(2):273-9.

Tonnessen T, Christensen G, Oie E, Holt E, Kjekshus H, Smiseth OA, Sejersted OM, Attramadal H. Increased cardiac expression of endothelin-1 mRNA in ischemic heart failure in rats. *Cardiovasc Res.* 1997 Mar;33(3):601-10.

Tonnessen T, Lunde PK, Giaid A, Sejersted OM, Christensen G. Pulmonary and cardiac expression of preproendothelin-1 mRNA are increased in heart failure after myocardial infarction in rats. Localization of preproendothelin-1 mRNA and endothelin peptide. *Cardiovasc Res.* 1998 Sep;39(3):633-43.

Torre-Amione G, Bozkurt B, Deswal A, Mann DL. An overview of tumor necrosis factor alpha and the failing human heart. *Curr Opin Cardiol.* 1999 May;14(3):206-10.

Torre-Amione G, Kapadia S, Benedict C, Oral H, Young JB, Mann DL. Proinflammatory cytokine levels in patients with depressed left ventricular ejection fraction: a report from the Studies of Left Ventricular Dysfunction (SOLVD). *J Am Coll Cardiol.* 1996 Apr;27(5):1201-6.

Trippodo NC, Fox M, Monticello TM, Panchal BC, Asaad MM. Vasopeptidase inhibition with omapatrilat improves cardiac geometry and survival in cardiomyopathic hamsters more than does ACE inhibition with captopril. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1999 Dec;34(6):782-90.

Trippodo NC, Fox M, Natarajan V, Panchal BC, Dorso CR, Asaad MM. Combined inhibition of neutral endopeptidase and angiotensin converting enzyme in cardiomyopathic hamsters with compensated heart failure. *J Pharmacol Exp Ther.* 1993 Oct;267(1):108-16.

Tschope C, Koch M, Spillmann F, Heringer-Walther S, Mochmann HC, Stauss H, Bader M, Unger T, Schultheiss HP, Walther T. Upregulation of the cardiac bradykinin B2 receptors after myocardial infarction. *Immunopharmacology.* 1999 Oct 15;44(1-2):111-7.

Tyagi SC, Campbell SE, Reddy HK, Tjahja E, Voelker DJ. Matrix metalloproteinase activity expression in infarcted, noninfarcted and dilated cardiomyopathic human hearts. *Mol Cell Biochem.* 1996 Feb 9;155(1):13-21.

Ulrich MM, Janssen AM, Daemen MJ, Rappaport L, Samuel JL, Contard F, Smits JF, Cleutjens JP. Increased expression of fibronectin isoforms after myocardial infarction in rats. *J Mol Cell Cardiol.* 1997 Sep;29(9):2533-43.

- Urakami-Harasawa L, Shimokawa H, Nakashima M, Egashira K, Takeshita A. Importance of endothelium-derived hyperpolarizing factor in human arteries. *J Clin Invest*. 1997 Dec 1;100(11):2793-9.
- Vaccarino V, Holford TR, Krumholz HM. Pulse pressure and risk for myocardial infarction and heart failure in the elderly. *J Am Coll Cardiol*. 2000 Jul;36(1):130-8.
- Vapaatalo H, Mervaala E, Nurminen ML. Role of endothelium and nitric oxide in experimental hypertension. *Physiol Res*. 2000;49(1):1-10.
- Vaughan DE, Pfeffer MA. Post-myocardial infarction ventricular remodeling: animal and human studies. *Cardiovasc Drugs Ther*. 1994 Jun;8(3):453-60.
- Verhaar MC, Strachan FE, Newby DE, Cruden NL, Koomans HA, Rabelink TJ, Webb DJ. Endothelin-A receptor antagonist-mediated vasodilatation is attenuated by inhibition of nitric oxide synthesis and by endothelin-B receptor blockade. *Circulation*. 1998 Mar 3;97(8):752-6.
- Verhaar MC, Strachan FE, Newby DE, Cruden NL, Koomans HA, Rabelink TJ, Webb DJ. Endothelin-A receptor antagonist-mediated vasodilatation is attenuated by inhibition of nitric oxide synthesis and by endothelin-B receptor blockade. *Circulation*. 1998 Mar 3;97(8):752-6.
- Veyssier-Belot C, Cacoub P. Role of endothelial and smooth muscle cells in the physiopathology and treatment management of pulmonary hypertension. *Cardiovasc Res*. 1999 Nov;44(2):274-82.
- Vigne P, Ladoux A, Frelin C. Endothelins activate Na⁺/H⁺ exchange in brain capillary endothelial cells via a high affinity endothelin-3 receptor that is not coupled to phospholipase C. *J Biol Chem*. 1991 Mar 25;266(9):5925-8.
- von Geldern TW, Tasker AS, Sorensen BK, Winn M, Szczepankiewicz BG, Dixon DB, Chiou WJ, Wang L, Wessale JL, Adler A, Marsh KC, Nguyen B, Opgenorth TJ. Pyrrolidine-3-carboxylic acids as endothelin antagonists. 4. Side chain conformational restriction leads to ET(B) selectivity. *J Med Chem*. 1999 Sep 9;42(18):3668-78.
- Wagner OF, Christ G, Wojta J, Vierhapper H, Parzer S, Nowotny PJ, Schneider B, Waldhausl W, Binder BR. Polar secretion of endothelin-1 by cultured endothelial cells. *J Biol Chem*. 1992 Aug 15;267(23):16066-8.
- Waller BF, Gering LE, Branyas NA, Slack JD. Anatomy, histology, and pathology of the cardiac conduction system--Part V. *Clin Cardiol*. 1993 Jul;16(7):565-9. Review. PMID: 8348766; UI: 93351413
- Wang Q, Wang Y, Hyde DM, Gotwals PJ, Kotliansky VE, Ryan ST, Giri SN. Reduction of bleomycin induced lung fibrosis by transforming growth factor beta soluble receptor in hamsters. *Thorax*. 1999 Sep;54(9):805-12.

- Warren SE, Royal HD, Markis JE, Grossman W, McKay RG. Time course of left ventricular dilation after myocardial infarction: influence of infarct-related artery and success of coronary thrombolysis. *J Am Coll Cardiol.* 1988 Jan;11(1):12-9.
- Watanuki M, Horie M, Tsuchiya K, Obayashi K, Sasayama S. Endothelin-1 inhibition of cardiac ATP-sensitive K⁺ channels via pertussis-toxin-sensitive G-proteins. *Cardiovasc Res.* 1997 Jan;33(1):123-30.
- Weber KT, and Brilla CG. Pathological hypertrophy and cardiac interstitium. *Circulation* 83: 1849-1865, 1991.
- Weber KT, Brilla CG, Campbell SE, Zhou G, Matsubara L, Guarda E. Pathologic hypertrophy with fibrosis: the structural basis for myocardial failure. *Blood Press.* 1992 Aug;1(2):75-85.
- Weber KT, Brilla CG. Structural basis for pathologic left ventricular hypertrophy. *Clin Cardiol.* 1993 May;16(5 Suppl 2):II10-4.
- Weber KT. Extracellular matrix remodeling in heart failure: a role for de novo angiotensin II generation. *Circulation.* 1997 Dec 2;96(11):4065-82.
- Weber, K. T, Y. Sun, SC. Tyagi, and J. P. M. Cleutjens. Collagen network of the myocardium: Function, structural remodeling and regulation mechanism. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 26: 279-292, 1994.
- Wei CM, Lerman A, Rodeheffer RJ, McGregor CG, Brandt RR, Wright S, Heublein DM, Kao PC, Edwards WD, Burnett JC Jr. Endothelin in human congestive heart failure. *Circulation.* 1994 Apr;89(4):1580-6.
- Weisman HF, Bush DE, Mannisi JA, Bulkley BH. Global cardiac remodeling after acute myocardial infarction: a study in the rat model. *J Am Coll Cardiol.* 1985 Jun;5(6):1355-62.
- Weisman HF, Bush DE, Mannisi JA, Weisfeldt ML, Healy B. Cellular mechanisms of myocardial infarct expansion. *Circulation.* 1988 Jul;78(1):186-201.
- Wenger NK, Franciosa JA, Weber KT Cardiovascular disease in the elderly. *Heart failure.* *J Am Coll Cardiol.* 1987 Aug;10(2 Suppl A):73A-76A.
- Wexler BC. Opposing effects of deoxycorticosterone and spironolactone on isoprenaline-induced myocardial infarction. *Cardiovasc Res.* 1979 Feb;13(2):119-26.
- Whittaker P, Boughner DR, Kloner RA. Analysis of healing after myocardial infarction using polarized light microscopy. *Am J Pathol.* 1989 Apr;134(4):879-93.
- Willems IE, Arends JW, Daemen MJ. Tenascin and fibronectin expression in healing human myocardial scars. *J Pathol.* 1996 Jul;179(3):321-5.

- Willems IE, Havenith MG, De Mey JG, Daemen MJ. The alpha-smooth muscle actin-positive cells in healing human myocardial scars. *Am J Pathol.* 1994 Oct;145(4):868-75.
- Wright CD, Cody WL, Dunbar JB Jr, Doherty AM, Hingorani GP, Rapundalo ST. Characterization of endothelins as chemoattractants for human neutrophils. *Life Sci.* 1994;55(21):1633-41.
- Wu-Wong JR, Dayton BD, Opgenorth TJ. Endothelin-1-evoked arachidonic acid release: a Ca(2+)-dependent pathway. *Am J Physiol.* 1996 Sep;271(3 Pt 1):C869-77.
- Xu D, Emoto N, Giaid A, Slaughter C, Kaw S, deWit D, Yanagisawa M. ECE-1: a membrane-bound metalloprotease that catalyzes the proteolytic activation of big endothelin-1. *Cell.* 1994 Aug 12;78(3):473-85.
- Yamamoto K, Masuyama T, Sakata Y, Mano T, Nishikawa N, Kondo H, Akehi N, Kuzuya T, Miwa T, Hori M. Roles of renin-angiotensin and endothelin systems in development of diastolic heart failure in hypertensive hearts. *Cardiovasc Res.* 2000 Aug 1;47(2):274-283.
- Yamamoto T, Cohen AM, Kakar NR, Yamamoto M, Johnson PE, Cho YK, Bing RJ. Production of prostanoids and nitric oxide by infarcted heart in situ and the effect of aspirin. *Biochem Biophys Res Commun.* 1999 Apr 13;257(2):488-93.
- Yamauchi-Kohno R, Miyauchi T, Hoshino T, Kobayashi T, Aihara H, Sakai S, Yabana H, Goto K, Sugishita Y, Murata S. Role of endothelin in deterioration of heart failure due to cardiomyopathy in hamsters: increase in endothelin-1 production in the heart and beneficial effect of endothelin-A receptor antagonist on survival and cardiac function. *Circulation.* 1999 Apr 27;99(16):2171-6.
- Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Goto K, Masaki T. A novel peptide vasoconstrictor, endothelin, is produced by vascular endothelium and modulates smooth muscle Ca²⁺ channels. *J Hypertens Suppl.* 1988 Dec;6(4):S188-91.
- Yanagisawa-Miwa A, Uchida Y, Nakamura F, Tomaru T, Kido H, Kamijo T, Sugimoto T, Kaji K, Utsuyama M, Kurashima C, et al. Salvage of infarcted myocardium by angiogenic action of basic fibroblast growth factor. *Science.* 1992 Sep 4;257(5075):1401-3.
- Yaoita H, Ogawa K, Maehara K, Maruyama Y. Attenuation of ischemia/reperfusion injury in rats by a caspase inhibitor. *Circulation.* 1998 Jan 27;97(3):276-81.
- Yellin EL, Nikolic S, Frater RW. Left ventricular filling dynamics and diastolic function. *Prog Cardiovasc Dis.* 1990 Jan-Feb;32(4):247-71.
- Yoshida K, Yasujima M, Kohzuki M, Kanazawa M, Yoshinaga K, Abe K. Endothelin-1 augments pressor response to angiotensin II infusion in rats. *Hypertension.* 1992 Sep;20(3):292-7.

Yoshiyama M, Takeuchi K, Hanatani A, Kim S, Omura T, Toda I, Teragaki M, Akioka K, Iwao H, Yoshikawa J. Differences in expression of sarcoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase and Na⁺-Ca²⁺ exchanger genes between adjacent and remote noninfarcted myocardium after myocardial infarction. *J Mol Cell Cardiol.* 1997 Jan;29(1):255-64.

Yoshiyama M, Takeuchi K, Hanatani A, Kim S, Omura T, Toda I, Teragaki M, Akioka K, Iwao H, Yoshikawa J. Differences in expression of sarcoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase and Na⁺-Ca²⁺ exchanger genes between adjacent and remote noninfarcted myocardium after myocardial infarction. *J Mol Cell Cardiol.* 1997 Jan;29(1):255-64.

Yousef ZR, Marber MS. The open artery hypothesis: potential mechanisms of action. *Prog Cardiovasc Dis.* 2000 May-Jun; 42(6):419-38

Yu H, Gallagher AM, Garfin PM, Printz MP. Prostacyclin release by rat cardiac fibroblasts: inhibition of collagen expression. *Hypertension.* 1997 Nov;30(5):1047-53.

Zachary I, Gil J, Lehmann W, Sinnott-Smith J, Rozengurt E. Bombesin, vasopressin, and endothelin rapidly stimulate tyrosine phosphorylation of the focal adhesion-associated protein paxillin in Swiss 3T3 cells. *J Biol Chem.* 1993 Oct 15;268(29):22060-5.

Zamora MA, Dempsey EC, Walchak SJ, Stelzner TJ. BQ123, an ETA receptor antagonist, inhibits endothelin-1-mediated proliferation of human pulmonary artery smooth muscle cells. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 1993 Oct;9(4):429-33.

Zeiger AM, Goebel H, Schachinger V, Ihling C. Tissue endothelin-1 immunoreactivity in the active coronary atherosclerotic plaque. A clue to the mechanism of increased vasoreactivity of the culprit lesion in unstable angina. *Circulation.* 1995 Feb 15;91(4):941-7.

Zhu YC, Zhu YZ, Gohlke P, Stauss HM, Unger T. Effects of angiotensin-converting enzyme inhibition and angiotensin II AT1 receptor antagonism on cardiac parameters in left ventricular hypertrophy. *Am J Cardiol.* 1997 Aug 4;80(3A):110A-117A.

Zimmerman SD, Karlson WJ, Holmes JW, Omens JH, Covell JW. Structural and mechanical factors influencing infarct scar collagen organization. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2000 Jan;278(1):H194-200.