

Université de Montréal

**Étude de la Réactivité Vasculaire des Microvaisseaux Coronaires
Porcins dans l'Hypertrophie Ventriculaire Gauche**

**par
Vickie Lebel**

**Département de Pharmacologie
Université de Montréal
Faculté de Médecine**

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



**Août 2002
© Vickie Lebel, 2002**

W

4

U58

2003

v. 110

AVIS

L'auteur a autorisé l'Université de Montréal à reproduire et diffuser, en totalité ou en partie, par quelque moyen que ce soit et sur quelque support que ce soit, et exclusivement à des fins non lucratives d'enseignement et de recherche, des copies de ce mémoire ou de cette thèse.

L'auteur et les coauteurs le cas échéant conservent la propriété du droit d'auteur et des droits moraux qui protègent ce document. Ni la thèse ou le mémoire, ni des extraits substantiels de ce document, ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans l'autorisation de l'auteur.

Afin de se conformer à la Loi canadienne sur la protection des renseignements personnels, quelques formulaires secondaires, coordonnées ou signatures intégrées au texte ont pu être enlevés de ce document. Bien que cela ait pu affecter la pagination, il n'y a aucun contenu manquant.

NOTICE

The author of this thesis or dissertation has granted a nonexclusive license allowing Université de Montréal to reproduce and publish the document, in part or in whole, and in any format, solely for noncommercial educational and research purposes.

The author and co-authors if applicable retain copyright ownership and moral rights in this document. Neither the whole thesis or dissertation, nor substantial extracts from it, may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

In compliance with the Canadian Privacy Act some supporting forms, contact information or signatures may have been removed from the document. While this may affect the document page count, it does not represent any loss of content from the document.

**Université de Montréal
Faculté des études supérieures**

Ce mémoire intitulé :

**Étude de la Réactivité Vasculaire des Microvaisseaux Coronaires
Porcins dans l'Hypertrophie Ventriculaire Gauche**

**présenté par :
Vickie Lebel**

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Jean St-Louis	Président-rapporteur
Louis P. Perrault	Directeur de recherche
Éric Thorin	Codirecteur
Jocelyn Dupuis	Membre du jury

RÉSUMÉ

L'hypertrophie ventriculaire gauche (HVG) est la principale adaptation du cœur en réponse à l'hypertension ou à une sténose aortique (SA). Les changements qui surviennent dans les microvaisseaux coronaires durant ce processus ne sont pas clairs. Notre hypothèse est qu'un dysfonctionnement endothélial est présent dans les artérioles sous-endocardiques de l'HVG induite par SA. Des artérioles sous-endocardiques de porcs avec ou sans cerclage aortique ont été pressurisées. Les dilatations dépendantes de l'endothélium à la bradykinine (BK; agoniste des récepteurs B2) et au UK14304 (UK; agoniste α_2 -AR) ont été mesurées en présence de tonus induit par l'acétylcholine. La dilatation directe du muscle lisse a été induite par le nitroprussiate de sodium (SNP). Les formations de NO et PGI₂ ont été bloquées par le L-NNA et l'indométhacine. Le cerclage aortique a induit une HVG (+21% du ratio VG/poids corporel, n=6, $P<.05$). La dilatation maximale (DM) au SNP est réduite ($P<.01$) dans l'HVG (30.8 ± 13.4 , n=7) comparée aux témoins (83.5 ± 6.3 , n=5). En présence de L-NNA, la DM au SNP dans l'HVG est rétablie ($P<.01$). La dilatation induite par le UK est abolie dans l'HVG. La dilatation à la BK n'est pas affectée par l'HVG en présence ou non de L-NNA. Nos résultats montrent que l'HVG est associée à une réduction de la sensibilité musculaire au NO et que la DM au SNP est rétablie par une inhibition des NOS. La dilatation au UK, principalement dépendante du NO, est abolie dans l'HVG. Cette déficience semble compensée par l'EDHF, mais uniquement suite à une stimulation à la BK.

Mots-clés : hypertrophie ventriculaire gauche, microcirculation, artérioles sous-endocardiques, artériographe, EDHF, NO

TABLE DES MATIÈRES

IDENTIFICATION DU JURY.....	ii
RÉSUMÉ.....	iii
SUMMARY.....	57-58
TABLE DES MATIÈRES.....	iv-v
LISTE DES FIGURES.....	vi
LISTE DES ABRÉVIATIONS.....	vii-viii
DÉDICACE.....	ix
REMERCIEMENTS.....	x
CHAPITRE PREMIER : Introduction.....	11-13
CHAPITRE DEUXIÈME : L'endothélium vasculaire.....	14
I. Fonctions de l'endothélium vasculaire.....	15-16
A. Les facteurs vasorelaxants	16
i. La prostacycline	16
ii. Le monoxyde d'azote.....	17-20
iii. Le facteur hyperpolarisant.....	20-21
B. Les facteurs vasoconstricteurs	21
i. L'angiotensine II	21-22
ii. L'endothéline	22-24
iii. Les radicaux libres.....	26
iv. Hypoxie/Anoxie.....	26-27
CHAPITRE TROISIÈME : Implications potentielles de l'endothélium dans l'hypertrophie ventriculaire gauche et autres pathologies cardiovasculaires.....	28-42

CHAPITRE QUATRIÈME : Microcirculation	43
I. Artérioles sous-endocardiques versus sous-épicardiques.....	44-45
II. Études de réactivité endothéliale humaine.....	45-46
III. Autorégulation du débit coronaire.....	46
A. Réponses microvasculaires à des forces physiques.....	46
i. Contrôle myogène.....	47-51
ii. Dilatation induite par le flot.....	51-53
B. Contrôle microvasculaire par des facteurs métaboliques.....	53-54
 CONTRIBUTION ORIGINALE.....	 55-86
DISCUSSION.....	87-90
SOURCES DOCUMENTAIRES.....	91-122

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Les différents facteurs relaxants et contractants dépendants de l'endothélium.	15
Figure 2 : Facteurs stimulants le relâchement du NO, de l'EDHF et de la prostacycline.....	18-19
Figure 3 : Postulat des voies de transduction du signal dans la cellule endothéliale normale.	19-20
Figure 4 et 5: La libération et les rôles de l'endothéline-1 (ET-1) au niveau de la paroi vasculaire et les différents facteurs stimulants sa production.....	23
Figure 6 : Les anions superoxydes et leur interaction avec le monoxyde d'azote (NO).....	26
Figure 7 : Histoire naturelle de la sténose aortique sans traitement opératoire.	30
Figure 8 : Schéma de l'artériographe.	48
Figures 9A et 9B : Illustrations schématisques des mécanismes possibles de la contraction myogène (A) et de ces mécanismes compensatoires (B).....	50-51
Figure 10: Voie de transduction du signal possible pour la dilatation induite par le flot.	53

LISTE DES ABRÉVIATIONS

- Ø max : diamètre maximal
A23187 : calcium ionophore
ADP : adénosine diphosphate
AC : adénylate cyclase
Ach : acétylcholine
AMP_c: 3'-5'-adénosine monophosphate cyclique
Ang II : angiotensine II
ATP : adénosine triphosphate
BH₄ : 5,6,7,8-tétrahydrobioptérine
BK : bradykinine
cmH₂O: centimètres d'eau
CML: cellules musculaires lisses
COX: cyclooxygénase
CVR: réserve coronaire vasodilatatrice
DAG: diacylglycérol
DM : dilatation maximale
EDCF : facteur contractant dépendant de l'endothélium
EDHF : facteur hyperpolarisant dépendant de l'endothélium
EDRF : facteur relaxant dépendant de l'endothélium
eNOS : NO synthase endothéliale
ET : endothéline
FAK : site d'adhésion focal
sGC : guanylate cyclase soluble
GMP_c : 3'-5'-guanosine monophosphate cyclique
H₂O₂ : peroxyde d'hydrogène
HVG : hypertrophie ventriculaire gauche
iNOS : NO synthase inductible
IP₃ : inositol triphosphate

LDL : lipoprotéines de faible densité
L-NNA : *N*^o-nitro-L-arginine
MBF: flot sanguin coronarien ou flot sanguin myocardique
mmHg: millimètres de mercure
NADH: nicotinamide adénine déshydrogénase
NADPH: nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit
nNOS : NO synthase neuronale
NO : monoxyde d'azote
O₂⁻ : anion superoxyde
OONO⁻ : peroxy-nitrites
pD₂ : -log[EC₅₀]
PGI₂ : prostacycline
PKC : protéine kinase C
PLC : phospholipase C
SA : sténose aortique
SHR : rat spontanément hypertendu
SNP : nitroprussiate de sodium
SOD : superoxyde dismutase
TNF : facteur de nécrose tumorale
UK : UK14304
VG : ventricule gauche
VGCC : canaux calciques dépendants du voltage

DÉDICACE

J'aimerais dédier ce mémoire à des gens formidables que j'aime énormément;

À mes parents, Jacques et Rolande, pour m'avoir aidé à atteindre mes buts, pour m'avoir encouragé, pour leur dévouement et leur soutien total, mais également pour l'amour qu'ils transmettent sans compter.

À ma sœur Anne et à mon frère Éric, pour leur conseil et leur aide.

À mon copain, Phillip, qui m'a apporté un support moral considérable.

À mes deux anges gardiens qui sont partis trop rapidement cette année, ma grand-mère, Lucienne et à mon ami, Hugo, qui ne sont plus, mais qui resteront toujours dans mon cœur.

Je ne vous remercierai jamais assez...

REMERCIEMENTS

À Monsieur le Docteur Louis P. Perrault,

Qui a accepté de me prendre sous son aile et de m'accorder sa confiance pour effectuer ce travail.

À Monsieur le Docteur Éric Thorin,

Qui a accepté que ce travail soit réalisé dans le laboratoire qu'il dirige et qui a su m'épauler malgré la distance qui nous séparait.

À Monsieur le Docteur Philippe Véquaud,

Qui a eu l'immense tâche de m'apprendre la fabuleuse technique de l'artériographe et qui a su, avec une patience inébranlable, répondre à maintes reprises à mes nombreuses questions.

À Messieurs les Docteurs Jean St-Louis, Guy Rousseau, Jocelyn Dupuis et Daniel Lamontagne,

Qui me font l'honneur de juger ce travail.

CHAPITRE PREMIER

Introduction

L'hypertrophie ventriculaire gauche (HVG) concentrique secondaire à l'hypertension artérielle ou à une sténose aortique (SA) représente l'adaptation morphologique principale du cœur en réponse à une augmentation de la post-charge et permet, au moins temporairement, de normaliser la tension dans le ventricule gauche (Alyono R. et coll., 1986 ; Schwartzkopff B. et coll., 1992 ; Rajappan K. et coll., 2002; Vogt M. et Strauer B.E., 1995 A). Cliniquement, une surcharge de pression chronique due à l'hypertension ou à une SA est fréquemment retrouvée chez 23% des hommes et 33% des femmes de plus de 59 ans (Savage D.D. et coll., 1987). La chirurgie cardiaque, ainsi que les procédures concernant les valves aortiques sont associées à une morbidité substantielle due à des infarctus myocardiques périopératoires et à une protection myocardique sous optimale menant ainsi à 3 à 5% de mortalité par des complications (Hokken R.B. et coll., 1997). Les douleurs angineuses et les signes d'ischémie sont fréquemment présents chez des patients avec hypertrophie ventriculaire gauche sans lésions des artères épicaudiques détectables à l'angiographie (Treasure C.B. et coll., 1993; Krams R. et coll., 1998) et sont généralement attribuées à des anomalies de la microcirculation coronaire (Krams R. et coll., 1998). Aussi, l'HVG est associée à un pronostic défavorable en raison de l'augmentation de la fréquence d'événements cardiaques tels que l'infarctus et l'angine de poitrine.

Les microvaisseaux coronaires jouent un rôle majeur dans la régulation de la perfusion myocardique, de la résistance coronaire et dans la régulation du flux sanguin (Schwartzkopff B. et coll., 1992; Quillen J.E. et coll., 1990). De nombreuses études ont démontré que la réserve coronaire est diminuée dans l'HVG secondaire à l'hypertension (Opherk D. et coll., 1984), à une sténose aortique (Pichard A.D. et coll., 1981; Marcus M.L. et coll., 1982), à une régurgitation aortique (Pichard A.D. et coll., 1983), à une sténose aortique supra-valvulaire (Shimamatsu M. et Toshima H., 1987), en présence d'une cardiomyopathie hypertrophique (Shimamatsu M. et Toshima H., 1987) et dans des modèles expérimentaux d'HVG (Jeremy R.W. et coll., 1989; O'Gorman D.J. et

coll., 1992; O'Gorman D.J. et Sheridan D.J., 1991; Hittinger L. et coll., 1995). Les cœurs hypertrophiés sont plus vulnérables aux dommages ischémiques puisque la réserve coronaire est réduite. Le sous-endocarde est la couche la plus vulnérable à l'ischémie en comparaison au sous-épicarde puisque la réserve coronaire est fortement réduite au niveau du sous-endocarde. En effet, chez le chien anesthésié, l'autorégulation du flux sous-endocardique est perdue lorsque la pression coronaire moyenne diminue en dessous de 60-70 mmHg, mais pas au niveau de la couche sous-épicardique (Fujii M. et coll., 1992). Une dysfonction de l'endothélium microvasculaire peut contribuer à des anomalies de régulation du flux dans l'hypertension et l'hypertrophie ventriculaire gauche (Ghaleh B. et coll., 1998). Cette hypothèse a été soulevée dans une étude *in vivo* effectuée sur des microvaisseaux coronaires humains atteints d'hypertension et d'HVG et selon laquelle la vasodilatation dépendante de l'endothélium à l'acétylcholine est diminuée (Treasure C.B. et coll., 1993). Ceci suggère que la perte de ce mécanisme régulateur contribue à l'altération du flux coronaire sanguin et favorise la survenue d'une ischémie myocardique (Treasure C.B. et coll., 1993).

Aucune étude n'a investigué, *in vitro*, si la réponse vasodilatatrice anormale des artéioles coronaires dans l'HVG était due à une altération de la fonction endothéliale. La caractérisation de ce mécanisme est d'importance primordiale afin de développer des stratégies préventives, considérant la morbidité reliée à la difficulté de la protection myocardique chez des patients avec HVG et le pronostic défavorable de l'HVG. Pour ces raisons, le but de ce projet de recherche est d'investiguer et de caractériser, *in vitro*, les relaxations dépendantes et indépendantes de l'endothélium en évaluant l'intégrité des voies du NO et de l'EDHF et la fonction du muscle lisse vasculaire d'artéioles sous-endocardiques dans un modèle porcin d'HVG secondaire à un cerclage aortique.

CHAPITRE DEUXIÈME

L'endothélium vasculaire

I. Fonctions de l'endothélium vasculaire

Malgré le fait qu'il ait déjà été considéré comme une barrière inerte, l'endothélium a des fonctions homéostatiques vitales. Il contribue à la régulation du tonus vasomoteur et au maintien d'une surface non thrombogénique. L'endothélium agit aussi comme barrière sélective en contrôlant la perméabilité, le transport des solutés et des macromolécules afin de pallier au métabolisme de plusieurs facteurs circulants dans le sang ou générés localement. Il participe au contrôle de la prolifération des cellules musculaires lisses et gère l'adhésion et l'extravasation des neutrophiles, monocytes et lymphocytes. L'endothélium sécrète des substances vasoactives appelées EDRFs et EDCFs (Figure 1). Les EDRFs (*endothelium-derived relaxing factors*) sont des substances produites par l'endothélium et qui auront pour effet d'engendrer la relaxation des cellules du muscle lisse vasculaire sous-jacent. Pour ce qui est des EDCFs (*endothelium-derived contracting factors*), ce sont des substances elles aussi générées par l'endothélium, mais qui ont pour effet de provoquer une vasoconstriction des cellules du muscle lisse vasculaire.

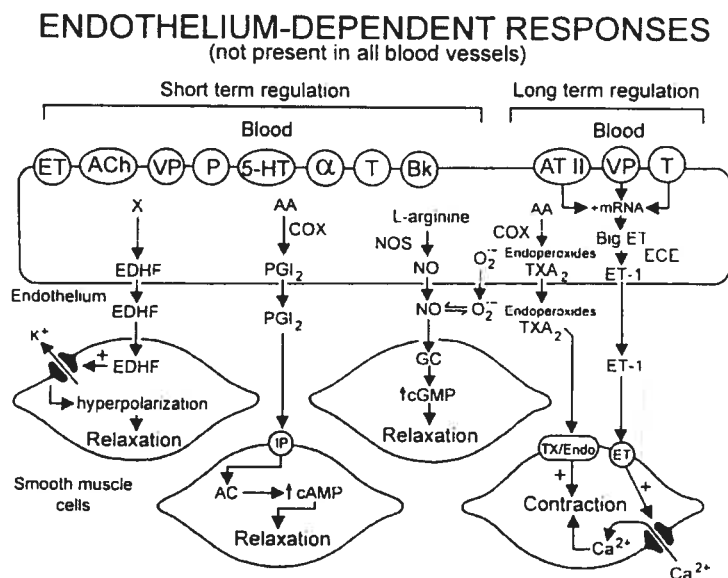


Figure 1: Les différents facteurs relaxants et contractants dépendants de l'endothélium. AA = acide arachidonique; Ach = acétylcholine; ATII =

Angiotensine II; BK = bradykinine; COX = cyclooxygénase; ECE = enzyme de conversion de l'endothéline ; EDHF = facteur hyperpolarisant dépendant de l'endothélium; ET-1 = endothéline-1; O_2^- = anions superoxyde ; P = purines; PGI₂ = prostacycline; NO = monoxyde d'azote; T = thrombine; TA₂/Endo = récepteur TP; VP = vasopressine; TXA₂ = thromboxane A₂; 5-HT = récepteur sérotonine; α = alpha-adrénergique (Tiré de Vanhoutte P.M., 2000).

Les facteurs vasorelaxants (EDRFs)

i. La prostacycline

La prostacycline est une substance fortement vasodilatatrice. Elle est relâchée par les cellules endothéliales, en réponse aux forces de cisaillement, à la bradykinine et aux nucléotides adénines, mais aussi par la média et l'adventice suite à l'hypoxie (Vanhoutte P.M. et Shimokawa H., 1989 A). Elle est produite à partir de l'acide arachidonique par la cyclooxygénase. La prostacycline a des activités antithrombotiques et antiplaquettaires. Elle est chimiquement instable avec une courte demi-vie. La prostacycline agit en stimulant l'adénylate cyclase (AC) qui a pour effet d'augmenter la concentration intracellulaire d'AMPc (3'-5'-adénosine monophosphate cyclique) et cause la phosphorylation de la kinase de la chaîne légère de la myosine, entraînant la relaxation du muscle lisse vasculaire (Vanhoutte P.M. et Shimokawa H., 1989 A). (Figure 1) La prostacycline agit synergiquement avec le NO pour induire une vasorelaxation (Vanhoutte P.M. et Shimokawa H., 1989 A). Cependant, dans la plupart des lits vasculaires, la contribution de la prostacycline à induire une relaxation dépendante de l'endothélium est négligeable par rapport à celle du monoxyde d'azote (NO).

ii. Le monoxyde d'azote (NO)

En 1980, Furchgott et Zawadski (Furchgott R.F. et Zawadski J.V., 1980) ont été les premiers à prouver l'existence d'un facteur endothélial relaxant. Ils ont démontré que les anneaux aortiques de lapin relaxaient en réponse à l'acétylcholine seulement en présence d'un endothélium intact (Furchgott R.F. et Zawadski J.V., 1980). Ces effets biologiques sont provoqués par le NO.

Le NO est une substance chimiquement instable, de courte demi-vie, diffusible, labile et non prostanoloïde. Il est synthétisé à partir de la L-arginine par une enzyme exprimée constitutivement appelée NO synthase endothéliale (eNOS) et dont le degré d'activation est dépendant de la concentration intracellulaire en calcium, de la calmoduline, et requiert le NADPH (nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit) et de la BH₄ (5,6,7,8-tétrahydrobioptérine) pour son activité optimale (Vanhoutte P.M. et coll., 1995; Justice J.M. et coll., 2000). Une diminution de la biodisponibilité du BH₄ a été démontrée dans différentes pathologies vasculaires (Consentino F. et Luscher T.F., 1999). En effet, le BH₄ participerait à la liaison entre la L-arginine et la eNOS (Mayer B. et Werner E.R., 1995). Cette réaction est stéréospécifique et la L-arginine est convertie en NO et L-citrulline (Justice J.M. et coll., 2000). L'activité vasodilatatrice du NO est due à son interaction avec l'atome de fer de l'hème de la guanylate cyclase soluble (sGC), qui cause l'activation de la sGC et mène à une augmentation des taux intracellulaires de 3'-5'-guanosine monophosphate cyclique (GMPc) (Vanhoutte P.M. et coll., 1995). Au niveau des cellules musculaires lisses, cette augmentation de GMPc entraîne une réduction de la concentration de calcium intracellulaire suite à l'activation d'une protéine kinase dépendante du GMPc et à la phosphorylation des canaux calciques et entraîne la relaxation des cellules musculaires lisses par inhibition de l'appareil contractile (Vanhoutte P.M. et coll., 1995). La même voie de signalisation est empruntée par des nitrovasodilatateurs exogènes comme le nitroprussiate de sodium (SNP) et la nitroglycérine. De

nombreux analogues de l'arginine sont fréquemment utilisés afin d'inhiber spécifiquement la génération de NO à partir de la L-arginine (Vanhoutte P.M. et coll., 1995). Le NO est aussi inactivé par les anions superoxydes (Vanhoutte P.M. et Shimokawa H., 1989 A; Vanhoutte P.M., 1989 B).

En plus de la eNOS, il existe deux autres isoformes de cette enzyme : la nNOS (neuronale) et la iNOS (forme inductible). La forme inductible est indépendante du calcium et est présente au niveau des cellules musculaires lisses suite à une exposition à des endotoxines [facteur de nécrose tumorale (TNF), cytokines]. Le relâchement du NO peut être stimulé par une augmentation du flux menant à une augmentation des forces de cisaillement (*shear stress*) qui s'exercent au niveau des cellules endothéliales, par la bradykinine, les cathécholamines, la vasopressine, l'histamine, la sérotonine, l'adénosine diphosphate (ADP), la thrombine, ainsi que d'autres substances (Vanhoutte P.M. et Shimokawa H., 1989 A) (Figure 2).

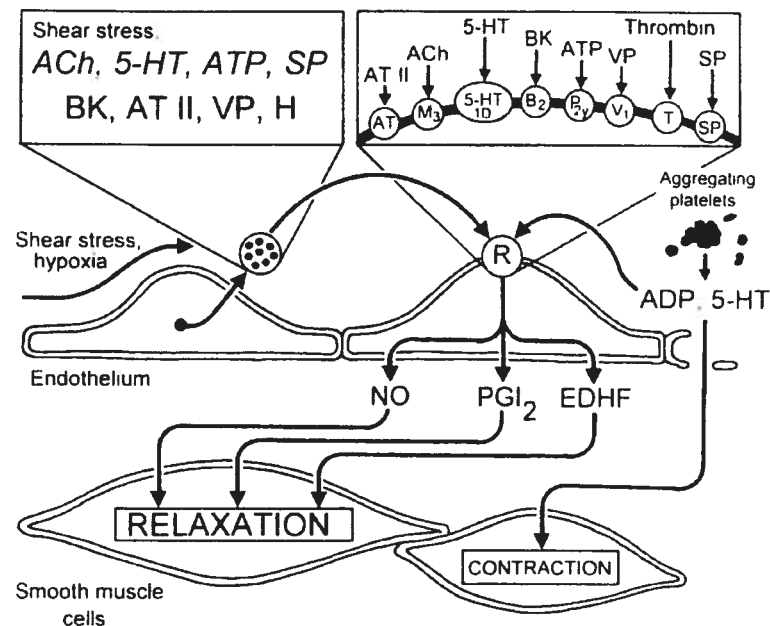


Figure 2: Facteurs stimulants le relâchement du NO, de l'EDHF et de la prostacycline. Les forces de cisaillement stimulent les cellules à libérer l'acétylcholine, la sérotonine, l'adénosine triphosphate, la substance P, la bradykinine, l'angiotensine II, la vasopressine ou l'histamine. Ces substances

atteignent les récepteurs localisés au niveau de la membrane cellulaire et activent leurs récepteurs spécifiques, entraînant ainsi la libération de NO, de prostacycline (PGI_2), et/ou du facteur hyperpolarisant dépendant de l'endothélium (EDHF). La thrombine formée lors de la coagulation ou les produits des plaquettes (ADP) ont un effet similaire. En l'absence d'endothélium, les produits des plaquettes vont diffuser vers les cellules du muscle lisse vasculaire et produire une contraction (Tiré de Vanhoutte P.M., 2000).

Les récepteurs de ces agonistes sont couplés à des protéines G. Les protéines G_i , sensibles à la toxine de la coqueluche, sont couplées aux récepteurs α_2 -adrénergiques, thrombinergiques et sérotoninergiques dans les cellules endothéliales porcines. Les récepteurs à l'ADP et à la bradykinine, sont couplés à des protéines G_q (Flavahan N.A. et Vanhoutte P.M., 1990). L'acétylcholine (ACh) peut aussi stimuler le relâchement de NO, mais dans les artérioles coronaires sous-endothéliales porcines, l'ACh agit directement au niveau des cellules du muscle lisse vasculaire, via des récepteurs muscariniques, et provoque ainsi leur contraction (Kuo L. et coll., 1988) (Figure 3).

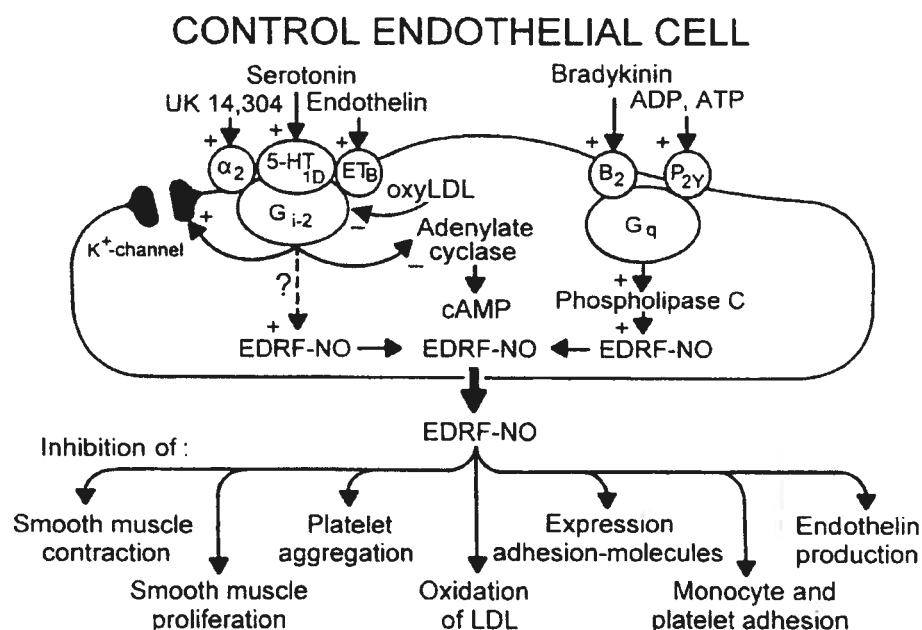


Figure 3: Postulat des voies de transduction du signal dans la cellule endothéliale normale. L'activation de la cellule cause la libération du NO qui a

des effets importants sur la protection de la paroi vasculaire. α = alpha-adrénergique; 5-HT = récepteur sérotonine; ET = récepteurs endothéline; B = récepteur bradykinine; P = purinorécepteur; G = protéine de couplage; cAMP = adénosine monophosphate cyclique ; NO = monoxyde d'azote; LDL = lipoprotéine de faible densité (Tiré de Vanhoutte P.M., 2000).

iii. Le facteur hyperpolarisant (EDHF)

L'EDHF (*endothelium-derived hyperpolarizing factor*) est une substance produite par l'endothélium qui a pour effet d'hyperpolariser les cellules du muscle lisse vasculaire et ainsi provoquer leur relaxation. (Figure 1) En hyperpolarisant les cellules, l'EDHF augmente la conductance des ions potassiques et entraîne une vasodilatation subséquente. L'EDHF agit donc en produisant l'ouverture de canaux potassiques, mais le type exact de canal ciblé n'est pas défini et peut varier entre les espèces (Vanhoutte P.M., 1993). La contribution de l'EDHF à la relaxation dépendante de l'endothélium est plus importante au niveau de la microcirculation qu'au niveau des artères de grand calibre (Nakashima M. et coll., 1993). Dans les artères épicaudiques, par exemple, le NO et l'EDHF participent tous deux à la relaxation, mais le NO semble toutefois prédominer. Lors d'une inhibition de la synthèse de NO ou dans certaines conditions pathologiques, c'est l'EDHF qui prend la relève et régit les relaxations. Donc, il semble que l'EDHF pourrait jouer un rôle important lors d'altérations de la voie du NO et servirait potentiellement de système de remplacement (Perrault L.P. et coll., 1999).

La relâche d'EDHF peut être provoquée par l'acétylcholine, la bradykinine, l'histamine, la thrombine et la substance P (Vanhoutte P.M., 1993). Elle est aussi dépendante du calcium et peut être déclenchée par le calcium ionophore (A23187) ou bloquée par des inhibiteurs de la calmoduline (Vanhoutte P.M., 1993). Dans le muscle lisse coronaire canin, l'action de l'EDHF peut être inhibée par un inhibiteur de la pompe Na^+/K^+ -ATPase, l'ouabaïne. L'identité

précise de l'EDHF et son rôle physiologique est encore incertain, mais il semble qu'il soit un produit de la voie du cytochrome P450, plus précisément du sous-type CYP9 (De Wit C. et coll., 2000; Fleming I. et coll., 2001).

A. Les facteurs vasoconstricteurs (EDCFs)

i. L'angiotensine II

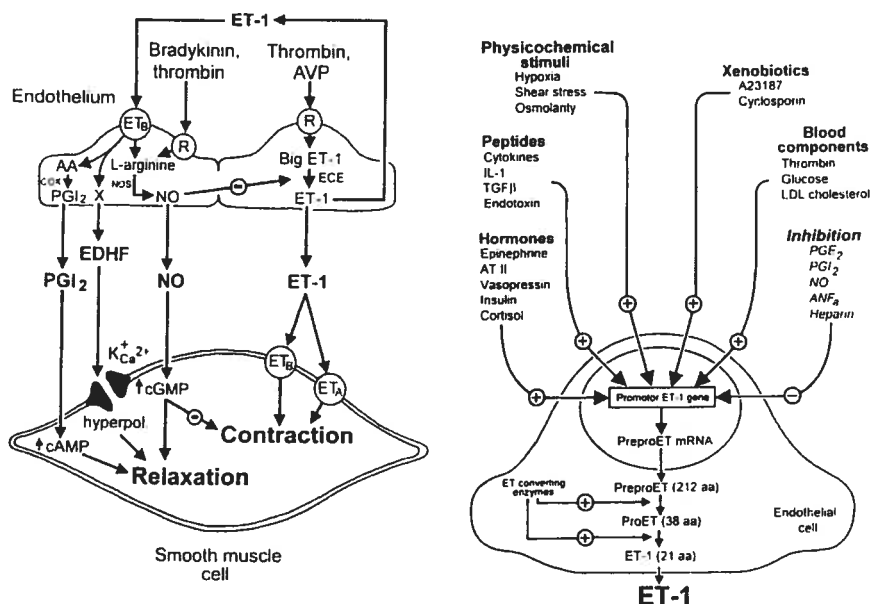
L'angiotensine est synthétisée grâce à un clivage enzymatique (effectué par la rénine) de l'angiotensinogène en angiotensine I. L'angiotensine I est ensuite transformée en angiotensine II (Ang II) par l'enzyme de conversion. La dégradation de l'angiotensine II est effectuée par différentes peptidases (Katzung B.G., 1998). Il existe deux sous-types de récepteurs de l'angiotensine II, AT₁ et AT₂. Les récepteurs AT₁ sont prédominants au niveau du muscle lisse vasculaire et sont couplés à des protéines G (Katzung B.G., 1998). La liaison de l'angiotensine II aux récepteurs AT₁ du muscle lisse vasculaire stimule la phospholipase C et mène à la formation d'inositol triphosphate (IP₃) et de diacylglycérol (DAG), qui engendreront la contraction du muscle lisse vasculaire (Katzung B.G., 1998). L'Ang II a aussi la particularité de stimuler le relâchement d'endothéline par les cellules musculaires lisses, ce qui produit une vasoconstriction plus importante (Mombouli J.V. et Vanhoutte P.M., 1999).

Cependant, dans certains lits vasculaires, les récepteurs de l'Ang II sont aussi présents au niveau des cellules endothéliales (Pueyo M. et Michel J.B., 1997). L'effet vasoconstricteur de l'Ang II est inhibé par l'effet de ce même peptide sur les récepteurs AT₁ endothéliaux, couplés à une phospholipase C, et qui engendrent la libération de NO et de prostacycline (Mombouli J.V. et Vanhoutte P.M., 1999). De plus, l'Ang II interagit avec des kinines et augmente les réponses

vasodilatatrices à la bradykinine (BK). En effet, dans des anneaux d'artères coronaires canines, l'Ang II augmente la vasodilatation induite par la bradykinine en inhibant l'enzyme de conversion de l'angiotensine et en relâchant du NO (Li P. et coll., 1997). Une augmentation plasmatique et tissulaire de l'Ang II est parfois présente dans l'hypertension artérielle et stimulerait la production de radicaux libres via la NADH/NADPH oxydase (Wattanapitayakul S.K. et coll., 2000). Cette augmentation du stress oxydatif contribuerait au développement de maladies cardiovasculaires (Lüscher T.F., 2000).

ii. L'endothéline

L'endothéline (ET) est un vasoconstricteur extrêmement puissant qui a été isolé, purifié et séquencé en 1988 (Yanagisawa M. et coll., 1988). Il existe trois isoformes de l'endothéline (ET-1, ET-2, ET-3), mais seulement une d'elles (ET-1) est relâchée par les cellules endothéliales humaines (Schini V.B. et Vanhoutte P.M., 1991; Masaki T., 1998). Les cellules endothéliales produisent la pro-hormone et la *big*-endothéline qui sont des substrats pour l'enzyme de conversion de l'endothéline (ECE) pour produire l'ET-1 (Masaki T., 1998). Il existe deux sous-types de récepteurs à l'ET. Le récepteur ET_A induit la vasoconstriction et la prolifération du muscle lisse vasculaire tandis que le récepteur ET_B est présent à la fois au niveau de l'endothélium (où il provoque une vasodilatation) et du muscle lisse vasculaire (où il provoque une vasoconstriction) (Dupuis J., 2000). Les contractions induites par l'ET-1 sont dues à un influx de calcium (activation des canaux calciques de type L) et à la mobilisation du calcium entreposé dans les compartiments intracellulaires (Schini V.B. et Vanhoutte P.M., 1991) (Figure 4).



Figures 4 et 5 : La libération et les rôles de l'endothéline-1 (ET-1) au niveau de la paroi vasculaire et les différents facteurs stimulant sa production. AA = acide arachidonique; AVP = vasopressine arginine; cAMP = adénosine monophosphate cyclique; cGMP = guanosine monophosphate cyclique; ECE = enzyme de conversion de l'endothéline; ET_A et ET_B = récepteurs de l'endothéline-1; $K^+_{Ca^{2+}}$ = canaux potassique Ca^{2+} ; NO = monoxyde d'azote; NOS = monoxyde d'azote synthase; PGI₂ = prostacycline; X = précurseur inconnu; + = stimule; - = inhibe; ANF_a = facteur natriurétique; ATII = angiotensine II; IL-1 = interleukine-1; LDL = lipoprotéine de faible densité; PF = prostaglandines; TGFβ = facteur de nécrose tumorale (Tiré de Vanhoutte P.M., 2000).

L'ET-1 est synthétisée par les cellules endothéliales et est relâchée en réponse à une variété de stimuli, comme l'adrénaline, la thrombine, l'angiotensine II, les facteurs de croissance, les cytokines, les stimuli physiques (forces de cisaillement faibles, étirement pulsatile) et l'hypoxie (Figure 5) (Dupuis J., 2000; Schiffrin E.L., 2001 B). L'endothéline a une courte demi-vie. Lorsque l'ET est administrée par voie intraveineuse, elle provoque une vasodilatation par l'activation des récepteurs ET_B présents à la surface des cellules endothéliales (Anggard E. et coll., 1989; Shiba R. et coll., 1989). Cependant, l'effet principal est une contraction prolongée suite à l'activation des récepteurs ET_A sur les cellules

musculaires lisses (Clarke J.G. et coll., 1989; Weitzberg E. et coll., 1991). L'administration d'antagonistes ET_A induit une diminution de la pression artérielle. Donc, l'ET endogène confère un tonus constricteur basal des lits vasculaires périphériques et joue un rôle physiologique fondamental dans le maintien de la pression sanguine chez les humains (Masaki T., 1998; Schiffrin E.L., 2001 B). En effet, chez certains patients hypertendus, les taux plasmatiques d'ET-1 sont augmentés (Schiffrin E.L., 2001 A). Des souris transgéniques déficientes en ET-1 présentent des anomalies cranofaciales et cardiaques à la naissance et meurent par défaillance respiratoire tôt après la naissance, démontrant ainsi son importance dans le développement (Kurihara Y. et coll., 1994). L'ET joue un rôle dans l'athérogénèse et le développement et la progression des maladies cardiovasculaires et autres (hypertension artérielle systémique et pulmonaire, spasmes cérébrovasculaires après hémorragie sous-arachnoïdienne, insuffisance rénale, maladies des artères coronaires et insuffisance cardiaque) (Schiffrin E.L., 2001 A; Masaki T., 1998). Dans un modèle d'hypertrophie ventriculaire secondaire à une surcharge de pression, la production augmentée d'ET-1 contribue au développement de l'hypertrophie et cette progression est partiellement inhibée par le BQ123 (antagoniste sélectif du récepteur ET_A) (Ito H. et coll., 1994). L'ET joue aussi un rôle dans la prolifération cellulaire et l'apoptose, lesquelles mènent à la progression de l'athérosclérose, la formation d'une resténose après angioplastie, et le développement d'une hypertrophie des myocytes (Best P.J.M., 2000). L'ET-1 est un agent mitogène pour les cellules du muscle lisse et les myocytes. En effet, l'ET-1 contribue au remodelage cardiovasculaire en stimulant la synthèse de collagène par les fibroblastes (Rizvi M.A. et coll., 1996; Mansoor A.M. et coll., 1995).

iii. Les radicaux libres

Il existe trois principaux types de radicaux libres : les anions superoxydes (O_2^-), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et les peroxy-nitrites ($OONO^-$), ces deux derniers étant des dérivés des anions superoxydes (Weiss S.J. et coll., 1981). Ils sont produits par les cellules endothéliales, la cyclooxygénase (COX), les mitochondries, la xanthine oxidase et la NO synthase (Kojda G. et Harrison D., 1999). En augmentant la perméabilité membranaire via la peroxydation des lipides, les radicaux libres participent à l'altération de la fonction endothéliale (Panza J.A. et coll., 1990).

Cependant, les cellules ont des mécanismes antioxydants leur permettant d'empêcher les effets nocifs du stress oxydatif : le glutathion (réductase et peroxydase), la catalase et la superoxyde dismutase (SOD) (Rosen G.M. et Greeman B.A., 1984). Les anions superoxydes sont des facteurs vasoconstricteurs dérivés de l'endothélium. En effet, dans l'artère basilaire de chien, ces contractions dépendantes de l'endothélium sont inhibées par la superoxyde dismutase (SOD), un piègeur des radicaux libres (Vanhoutte P.M., 1993; Vanhoutte P.M. et Shimokawa H., 1989 A). Les anions superoxydes sont aussi des piègeurs du NO, ce qui augmente leur pouvoir constricteur en inhibant l'effet vasodilatateur du NO sur le muscle lisse vasculaire (Vanhoutte P.M., 1989 B). (Figure 6) De plus, le NO, en agissant avec les anions superoxydes, forme de puissants oxydants, les peroxy-nitrites, qui contribuent à la détérioration de la fonction endothéliale (Ronson R.S. et coll., 1999). Comme il a été mentionné dans la section monoxyde d'azote de ce chapitre, le NO est synthétisé à partir de la L-arginine par une enzyme exprimée constitutivement appelée NO synthase endothéliale (eNOS). L'activité de la eNOS est dépendante de la concentration intracellulaire en calcium, de la calmoduline, et requiert du NADPH et de la BH_4 pour son activité optimale (Vanhoutte P.M. et coll., 1995; Justice J.M. et coll., 2000). Une diminution de la biodisponibilité du BH_4 a été démontrée dans différentes

pathologies vasculaires (Consentino F. et Lüscher T.F., 1999). En effet, le BH₄ participerait à la liaison entre la L-arginine et la eNOS (Mayer B. et Werner E.R., 1995). Ainsi, en absence de BH₄, il y aurait production d'anions superoxydes au détriment de la production de NO par la eNOS (Laursen J.B. et coll., 2001). Ainsi les radicaux libres contribueraient à la pathogenèse de nombreuses maladies cardiovasculaires telles que les lésions d'ischémie-reperfusion, l'athérosclérose, l'hypercholestérolémie et l'hypertension (Kojda G. et Harrison D., 1999).

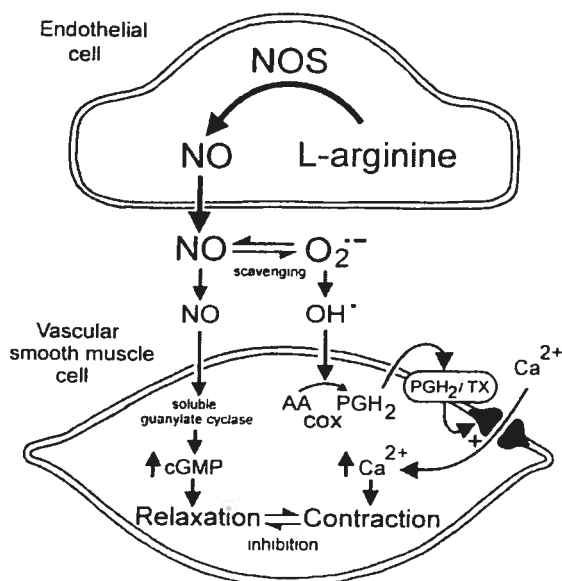


Figure 6 : Les anions superoxydes et leur interaction avec le monoxyde d'azote (NO). Les anions superoxydes (O_2^-) sont des facteurs contractants dépendants de l'endothélium qui entraînent la destruction du NO et provoquent, après sa transformation en radical hydroxyl, la production d'endoperoxydes (PGH_2) au niveau des cellules du muscle lisse vasculaire. AA = acide arachidonique; cGMP = guanosine monophosphate cyclique; COX = cyclooxygénase; NOS = monoxyde d'azote synthase; TA₂/Endo = récepteur TP (Tiré de Vanhoutte P.M., 2000).

iv. Hypoxie/Anoxie

Dans des artères et des veines canines isolées, incluant les artères coronaires, l'anoxie augmente les réponses contractiles à de nombreux agents

vasoconstricteurs (Rubanyi G.M. et Vanhoutte P.M., 1985). L'hypoxie s'accompagne d'une réduction de GMPc tissulaire. Ainsi, il semble que l'hypoxie/anoxie cause des contractions dépendantes de l'endothélium en réduisant la production basale de NO par les cellules endothéliales, résultant en une activation faible de la guanylate cyclase soluble au niveau du muscle lisse vasculaire (Vanhoutte P.M., 1993). Cependant, la simple réduction de la production de NO seule ne peut expliquer la contraction induite par l'hypoxie. Les contractions hypoxiques peuvent être produites dans les artères coronaires sans endothélium en ajoutant du NO ou un analogue stable de GMPc (Vanhoutte P.M., 1993). Ainsi, un certain niveau d'activation de la GC semble requis pour les contractions dépendantes de l'endothélium induites par l'hypoxie. Des contractions dépendantes de l'endothélium ont été observées dans des artères et des veines fémorales canines en réponse à l'anoxie et l'hypoxie (De Mey J.G. et Vanhoutte P.M., 1983).

CHAPITRE TROISIÈME

Implications potentielles de l'endothélium dans l'hypertrophie ventriculaire gauche

L'hypertrophie ventriculaire gauche (HVG) est un mécanisme compensatoire par lequel le cœur s'adapte à une surcharge de pression chronique au niveau du ventricule gauche (VG) (Strauer B.E. et Schwartzkopff B., 1997; Kozakova M. et coll., 2000; Alyono R. et coll., 1986; Braunwald E., 1992; Wambolt R.B. et coll., 2001; Ishihara K. et coll., 1992 A; Vogt M. et Strauer B.E., 1995 A; Chilian W.M. et Marcus M.L., 1987). D'un point de vue clinique, l'hypertension artérielle et la sténose aortique valvulaire sont les causes les plus fréquentes menant à l'hypertrophie ventriculaire gauche par une surcharge de pression (Vogt M. et Strauer B.E., 1995 A; Schwartzkopff B. et coll., 1992; Chilian W.M. et Marcus M.L., 1987). L'hypertrophie cardiaque due à une surcharge de pression chronique affecte 23% des hommes et 33% des femmes de plus de 59 ans (Kingsbury M.P. et coll., 2000). Parmi les patients dits hypertendus, de 23 à 48% développeront une HVG, tandis que chez les patients normotendus, la probabilité est de 0 à 10% (Strauer B.E. et Schwartzkopff B., 1997). De plus, le risque que les patients hypertendus avec HVG développent de l'insuffisance cardiaque est dix fois plus élevé que chez des patients hypertendus sans HVG (Vogt M. et Strauer B.E., 1995 B). L'hypertrophie ventriculaire gauche due à une surcharge de pression est le facteur de risque principal conduisant à l'insuffisance cardiaque (Schwartzkopff B. et coll., 1992).

Une autre des principales causes importantes menant au développement de l'HVG concentrique est la sténose aortique (SA) (Rajappan K. et coll., 2002; Braunwald E., 1992). Ce type d'obstruction peut aussi apparaître au-dessus de la valve (sténose supra-valvulaire), en dessous de la valve (sténose sous-valvulaire discrète), mais plus fréquemment valvulaire seule, ou peut être causée par une cardiomyopathie hypertrophique obstructive (Braunwald E., 1992). La SA isolée est la lésion la plus commune chez les patients avec maladie valvulaire (Roberts W.C., 1973). Les principales manifestations de la SA, débutant le plus fréquemment dans la sixième décennie de vie, sont l'angine de poitrine, la syncope

et l'insuffisance cardiaque (Braunwald E., 1992). Les courbes de survie (Figure 7) montrent que l'intervalle de temps entre le début de ces symptômes et

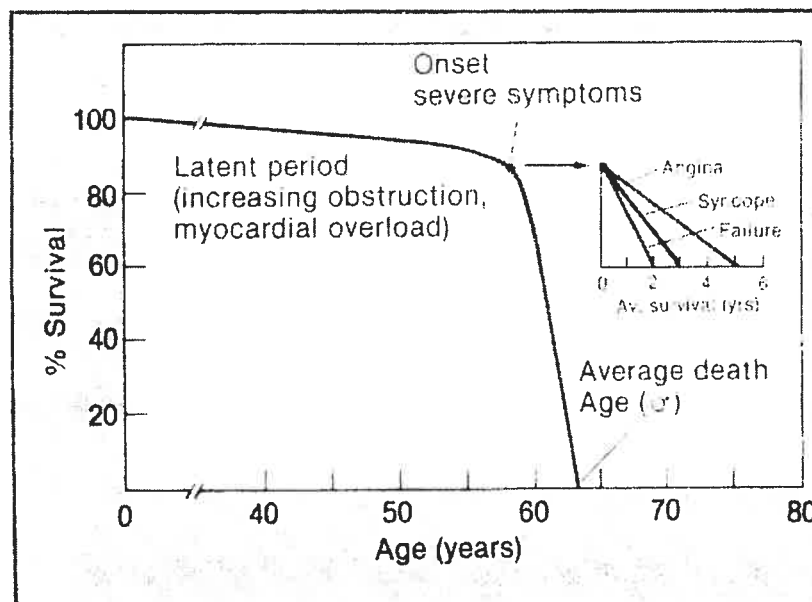


Figure 7: Histoire naturelle de la sténose aortique sans traitement opératoire (Tiré de Ross J. et Braunwald E., 1968).

le décès est d'environ deux ans, trois ans et cinq ans chez les patients avec insuffisance cardiaque, syncope ou angine, respectivement (Braunwald E., 1992). L'angine de poitrine apparaît chez les deux tiers des patients avec une SA critique et ressemble habituellement à celle observée chez les patients avec une maladie coronarienne, communément provoquée par l'effort et soulagée par le repos (Braunwald E., 1992). Ces symptômes sont dus à un déséquilibre entre l'augmentation de la demande en oxygène du myocarde hypertrophié et la réduction de l'apport en oxygène secondaire à la compression excessive des vaisseaux coronaires, la fibrose périmyocytaire, la diminution de la réserve coronaire vasodilatatrice et la diminution du nombre de vaisseaux de résistance (Braunwald E., 1992; Sabbah H.N. et Stein P.D., 1988; Alyono R. et coll., 1986).

Chez des patients avec une sténose aortique valvulaire sévère (aire de l'orifice de la valve aortique $<0,5 \text{ cm}^2/\text{m}^2$), les lésions des artères intramyocardiques sont rarement occlusives, mais elles réduisent la zone de perfusion sous-endocardique et compromettent la fonction du ventricule gauche (Naeye R.L. et Liedtke A.J., 1976). Les patients présentant des lésions artérielles intramyocardiques développent des infarctus aigus sous-endocardiques durant la chirurgie suite à la diminution de la perfusion de la zone sous-endocardique (Naeye R.L. et Liedtke A.J., 1976). De plus, la pression systolique élevée au niveau du ventricule gauche augmente les besoins métaboliques de la zone sous-endocardique en même temps que la tachycardie et l'augmentation des pressions diastoliques, ce qui réduit la perfusion de cette zone (Naeye R.L. et Liedtke A.J., 1976). La conjonction de tous ces facteurs en plus des lésions intramyocardiques est responsable de la mortalité substantielle associée à une correction chirurgicale de la sténose aortique valvulaire (Naeye R.L. et Liedtke A.J., 1976). Ainsi, les lésions artérielles intramyocardiques sont un facteur clé dans la genèse de ces infarctus sous-endocardiques aigus et sont responsables de la mortalité accrue (Naeye R.L. et Liedtke A.J., 1976).

Macrocirculation

Dans un modèle canin d'HVG de surcharge de pression coronaire chronique due à un cerclage aortique supra-valvulaire, il y a des anomalies fonctionnelles et morphologiques au niveau de l'endothélium, de l'intima et du muscle lisse intermédiaire d'artères coronaires épicaudiques (Ghaleh B. et coll., 1998). Ce dysfonctionnement endothélial est relié à des relaxations dépendantes de l'endothélium diminuées, opérées via un récepteur (ACh) et le flux sanguin (Ghaleh B. et coll., 1998). Dans l'HVG provoquée par un cerclage aortique chez le porc, il y a un dysfonctionnement endothélial pour les relaxations dépendantes de l'endothélium transmises via la voie des récepteurs couplés aux protéines G_i

(sérotonine) et G_q (bradykinine). De plus, l'expression et la capacité de la eNOS à relâcher le NO, déterminée par immunohistochimie et par la relaxation au A23187, est préservée et il y a une diminution de la biodisponibilité du NO et du contenu plasmatique en nitrites et nitrates (Malo O. et coll., *J Card Pharmacol*, sous presse). Dans ce modèle porcin d'HVG, la voie de l'EDHF n'était pas altérée.

Le relâchement et la bioactivité du NO sont modifiés dans de nombreuses pathologies cardiovasculaires et sont considérées comme participant au dysfonctionnement endothélial. Ceci constitue un sujet très controversé puisque certains scientifiques affirment que l'expression de la eNOS coronaire et l'activité biologique du NO sont augmentées ou diminuées dans l'HVG. De plus, certains scientifiques ont démontré que la vasodilatation dépendante du NO des artères coronaires était diminuée dans l'HVG et l'insuffisance cardiaque et d'autres qu'elle était augmentée (Grieve D.J. et coll., 2001). Chez des rats hypertendus et dans l'HVG compensée, l'expression de la eNOS coronaire ainsi que son activité sont augmentées, diminuées ou non altérées (Grieve D.J. et coll., 2001). Ces divergences s'expliquent par le fait que différents stades et degrés de sévérité d'HVG dans différents modèles sont étudiés. Dans l'HVG compensée précoce chez le cochon d'Inde, il y a une augmentation de la sensibilité des cellules musculaires lisses (CML) au NO sans changement significatif de la eNOS, tandis qu'il y a une diminution de la eNOS et de la sensibilité des CML au NO durant la transition à l'insuffisance myocardique (Grieve D.J. et coll., 2001). Chez des cochons d'Inde avec HVG induite par cerclage aortique, les réponses vasodilatatrices dépendantes et indépendantes au NO sont limitées par l'augmentation de l'épaisseur des parois des artères coronaires (Grieve D.J. et coll., 2001; Kingsbury M.P. et coll., 2000). Chez des patients avec hypertension et HVG, l'inhibition de la synthèse de NO endogène au niveau de la circulation coronaire aggrave l'ischémie myocardique. Un des mécanismes pouvant expliquer ce phénomène serait qu'en bloquant la production de NO avec le L-NMMA, le flux sanguin coronaire est redistribué vers le sous-épicaire, compromettant ainsi le

sous-endocarde où la demande en oxygène est plus élevée. En effet, dans le cœur battant de lapins, de rats et de chiens, la production de NO est plus élevée au niveau du sous-endocarde (Mohri M. et coll., 2002 ; Yada T. et coll., 1999; Pinsky D.J. et coll., 1997).

Microcirculation

L'étude de la microcirculation coronaire dans différentes pathologies cardiovasculaires est d'une importance primordiale puisqu'elle est le site d'autorégulation coronaire. Advenant une anomalie de cette fonction micro circulatoire, des conséquences néfastes pourraient survenir sur la perfusion myocardique et compromettre l'équilibre d'autorégulation du coeur.

Réserve coronaire vasodilatatrice

La réserve coronaire vasodilatatrice (*coronary vasodilator reserve, CVR*) se décrit comme le débit coronaire maximal obtenu après vasodilatation, rapporté au débit coronaire de base. Cette mesure de la capacité d'adaptation des artères coronaires se fait en général après injection intraveineuse de dipyridamole ou intracoronaire de papavérine, grâce à la vélocimétrie Doppler intracoronaire (Braunwald E., 1992). Les patients avec HVG secondaire à l'hypertension artérielle ou à une maladie valvulaire présentent de l'angine de poitrine tout en ayant des artères coronaires épigardiques normales à l'angiographie (Choudbury L. et coll., 1997; Cannon R.O. et coll., 1985; Strauer B.E., 1979; Perrault L.P. et coll., 1997; Mohri M. et coll., 2002; Motz W. et Strauer B.E., 1996; Vogt M. et Strauer B.E., 1995 A; Tillmanns H. et coll., 1990; Krams R. et coll., 1998). Cette angine a été attribuée à l'ischémie myocardique due à un dysfonctionnement microvasculaire, soit probablement en raison d'une diminution de la CVR (Choudbury L. et coll., 1997; Marcus M.L. et coll., 1987; Nakano K. et coll., 1989; Rajappan K. et coll., 2002; Alyono R. et coll., 1986; Tillmanns H. et coll., 1990).

Parce que cette diminution de la réserve coronaire survient en l'absence de maladie coronarienne, il apparaît évident que ces limitations de la perfusion myocardique originent des petites artères coronaires (Tomanek R.J., 1990). Ces anomalies de perfusion des ventricules hypertrophiés mènent à des épisodes intermittents d'ischémie sévère au niveau du sous-endocarde et contribuent au développement d'anomalies dans la fonction ventriculaire diastolique et systolique (Marcus M.L. et coll., 1987; Krams R. et coll., 1998).

Chez des patients avec une HVG attribuable à une sténose aortique sévère (aire de la valve aortique: $0,72 \pm 0,24 \text{ cm}^2$ mesurée par échocardiographie et résonance magnétique cardiovasculaire), tout en ayant des artères épicaudiques normales à l'angiographie, la CVR sous-endocardique est diminuée de manière plus prononcée (Rajappan K. et coll., 2002). La diminution de la CVR, menant à une perfusion sous-endocardique compromise, a été reliée à la sévérité de la SA, l'augmentation de la post-charge imposée ainsi qu'à la réduction du temps de perfusion en diastole (Rajappan K. et coll., 2002). Chez les animaux, il y a aussi une réduction de la CVR plus importante dans le sous-endocarde avec une HVG due à une surcharge de pression (Hittinger L. et coll., 1995; Alyono R. et coll., 1986; Ishihara K. et coll., 1992 B; Nakano K. et coll., 1989; Chilian W.M. et Marcus M.L., 1987; Bache R.J., 1988; Fujii A.M. et coll., 1988; Rembert J.C. et coll., 1978; Fujii M. et coll., 1992). Dans des modèles porcins et canins d'HVG chronique, l'HVG peut prédisposer le sous-endocarde à une hypoperfusion durant l'exercice (Tomanek R.J., 1990). Chez des athlètes avec une HVG physiologique, la vasodilatation maximale coronaire au niveau de la microcirculation est préservée, mais elle est diminuée dans l'HVG hypertensive (Kozakova M. et coll., 2000).

La relaxation diastolique endommagée, l'augmentation des forces de compression sur de la circulation coronaire par la pression de remplissage élevée au niveau du ventricule gauche et l'augmentation de la force de contraction

mènent à une diminution de la CVR dans l'HVG due à une surcharge de pression (Choudbury L. et coll., 1997; Marcus M.L. et coll., 1987; Hittinger L. et coll., 1995; Rajappan K. et coll., 2002; Symons J.D. et coll., 2001; Gascho J. et coll., 1982). Le remodelage structural des myocytes ventriculaires et du tissu conjonctif peut être initialement adaptatif, mais peut représenter un danger à des stades avancés de l'HVG (Schwartzkopff B. et coll., 1992). Les coeurs humains soumis à une hypertension artérielle et à une sténose aortique valvulaire présentent une hypertrophie des myocytes ventriculaires, accompagnée par une augmentation de la fibrose interstitielle et périmyocytique. Ce remodelage structural augmente la rigidité myocardique diastolique et contribue à réduire la capacité vasodilatatrice de la fonction microvasculaire (Rajappan K. et coll., 2002; Schwartzkopff B. et coll., 1992; Marcus M.L. et coll., 1987).

Flux coronaire myocardique (MBF)

Chez des patients avec une HVG attribuable à une sténose aortique tout en ayant des artères épicaudiques normales à l'angiographie, le MBF sous-endocardique était significativement plus élevé que le MBF sous-épicaudique dans des conditions de repos (Rajappan K. et coll., 2002). Cette augmentation du MBF au niveau du sous-endocarde est soutenue par la vasodilatation métabolique en réponse à l'augmentation de la demande. Elle est responsable de l'épuisement de la capacité d'autorégulation de la microcirculation coronaire, laquelle contribue à la limitation de la CVR (Rajappan K. et coll., 2002).

L'endothélium microvasculaire

Un dysfonctionnement endothélial microvasculaire peut contribuer à des anomalies au niveau de la régulation du flux chez des patients avec HVG (Treasure C.B. et coll., 1993; Peach M.J. et Loeb A.L., 1987; Lüscher T.F., 1990 A). Chez des patients avec hypertension essentielle et HVG, la vasodilatation dépendante de l'endothélium est diminuée dans les microvaisseaux coronaires (Treasure C.B. et coll., 1993). Dans un modèle d'HVG chez le cochon d'Inde, les

réponses dépendantes de l'endothélium (acétylcholine) et les réponses indépendantes de l'endothélium (nitroprussiate de sodium, adénosine) sont diminuées (Kingsbury M.P. et coll., 2000). Chez des patients hypertendus avec HVG, il y a une diminution marquée de la relaxation dépendante de l'endothélium (acétylcholine et adénosine) en comparaison aux sujets normotendus (Houghton J.L. et coll., 1998).

Dysfonctionnement endothélial dans d'autres pathologies cardiovasculaires

L'hypertension artérielle se définit comme l'augmentation de la pression dans le réseau artériel systémique. Les patients atteints d'hypertension artérielle présentent souvent des signes cliniques d'ischémie myocardique comme l'angine de poitrine, un test de tolérance à l'exercice positif et une scintigraphie au thallium positive (Houghton J.L. et coll., 1990; Opherk D. et coll., 1984; Strauer B.E., 1979). En effet, le thallium possède la propriété de se fixer dans la cellule myocardique et les zones ischémiques viables le fixent mieux. On utilise son isotope radioactif 201 pour rechercher et localiser par tomoscintigraphie gamma (procédé permettant de repérer dans l'organisme un isotope radioactif) l'ischémie myocardique au repos, à l'effort ou après injection de dipyridamole (Braunwald E., 1992). Une capacité vasodilatatrice coronaire au dipyridamole, qui agit en inhibant le transport de l'adénosine, réduite est retrouvée chez les patients hypertendus même en absence de macroangiopathie coronaire (Strauer B.E., 1979; Schwartzkopff B. et coll., 1993). Ainsi, la réserve coronaire réduite peut mener à l'ischémie myocardique suite à une augmentation de la demande métabolique. L'endommagement de la réserve coronaire dans l'hypertension artérielle est principalement basé sur des altérations structurales et fonctionnelles (remodelage vasculaire et accumulation de collagène) dans les vaisseaux de résistance coronaire (Vogt M. et Strauer B.E., 1995 A; Schwartzkopff B. et coll., 1993).

Chez le lapin, l'hypertension endommage aussi la fonction vasodilatatrice endothéliale microvasculaire des membres postérieurs à l'acétylcholine, à la sérotonine et à l'adénosine (Wright C.E. et Angus J.A., 1986). Dans l'aorte thoracique et les artères fémorales de rats spontanément hypertendus (SHR), les relaxations dépendantes de l'endothélium à l'acétylcholine, à l'adénosine et à l'isoprotérénol sont réduites (Konishi M. et Su C., 1983). Chez des patients hypertendus, les réponses vasodilatatrices à une injection intra artérielle d'acétylcholine au niveau de l'avant-bras sont diminuées tandis que la réponse à des nitrovasodilatateurs exogènes ne l'est pas (Panza J.A. et coll., 1990; Treasure C.B. et coll., 1993). Puisque, dans l'hypertension, les relaxations dépendantes de l'endothélium sont anormalement réduites et qu'elles peuvent être corrigées par un traitement antihypertenseur approprié, elles doivent être vues comme étant une conséquence plutôt qu'une cause de l'augmentation de la pression artérielle (Lüscher T.F. et Vanhoutte P.M., 1990 B).

La diminution des réponses dépendantes de l'endothélium à l'acétylcholine est due à une diminution de la sensibilité du muscle lisse vasculaire au NO, puisque les réponses du muscle lisse aux donneurs exogènes de NO sont diminuées chez le patient hypertendu (Vanhoutte P.M., 1996 A). L'altération de la voie L-arginine-NO n'est pas responsable de toutes les diminutions des relaxations à l'acétylcholine. Dans des artères de rats spontanément hypertendus (SHR), il y a une libération normale d'EDRF malgré des réponses diminuées à l'acétylcholine (Sawada Y. et coll., 1994). La production de NO et de facteurs contractants dérivés de l'endothélium (EDCF), la destruction du NO par ces EDCF ainsi qu'une diminution de la libération d'EDHF expliqueraient la diminution de la vasodilatation dépendante de l'endothélium dans ce type d'hypertension (Auch-Schwelk W. et coll., 1992; Vanhoutte P.M., 1996 B).

L'hypercholestérolémie se décrit comme l'augmentation de la quantité de cholestérol contenue dans le sang. Morphologiquement, l'endothélium demeure

intact durant la phase précoce de l'athérogenèse. Du point de vue fonctionnel, cependant, des altérations prononcées apparaissent. Particulièrement, des lipoprotéines de faible densité oxydées (LDLs) sont présentes dans les lésions athérosclérotiques humaines (Ylä-Herttuala S. et coll., 1989). Dans les artères coronaires porcines, les LDLs oxydées inhibent les relaxations dépendantes de l'endothélium aux plaquettes, à la sérotonine et à la thrombine (Li H. et Förstermann U., 2000). Par opposition, les relaxations au donneur de monoxyde d'azote, SIN-1, sont maintenues, ce qui suggère que c'est la synthèse de NO est diminuée. Les LDLs oxydées activent un récepteur endothélial distinct du récepteur des LDLs. Le sulfate de dextran, un antagoniste des LDLs à ce récepteur, prévient les effets endothéliaux des LDLs oxydées. Le L-NMMA, un inhibiteur de la production de NO, exerce un effet similaire, ce qui suggère que les LDLs oxydées interfèrent spécifiquement avec la voie de la L-arginine (Li H. et Förstermann U., 2000). Un prétraitement avec la L-arginine restaure la réponse à l'acétylcholine dans la microcirculation coronaire de patients hypercholestérolémiques. Ainsi, les LDLs oxydés peuvent diminuer la disponibilité intracellulaire de L-arginine (Drexler H. et coll., 1991). En plus des effets sur la voie de la L-arginine, les LDLs oxydées inactivent le monoxyde d'azote. Les LDLs oxydées n'inactivent non seulement les relaxations dépendantes de l'endothélium, mais causent aussi des contractions dépendantes de l'endothélium (Li H. et Förstermann U., 2000). Ainsi, les LDLs oxydées inhibent les relaxations dépendantes de l'endothélium et engendrent des contractions dépendantes et indépendantes de l'endothélium. Les conséquences de ceci sont des altérations au niveau du tonus vasculaire, menant à la formation de vasospasme et de thrombus (Lüscher T.F. et Noll G., 1994).

Dans des artérioles sous-épicaudales porcines, la présence de LDLs oxydées atténue les relaxations à la sérotonine, à l'ATP et à l'ionomycine (IONO). Cette dernière forme des canaux perméables au calcium au niveau de la membrane plasmique (Hein T.W. et Kuo L., 1998). Cet effet inhibiteur des LDLs oxydées

est renversé par l'ajout de L-arginine exogène et est prévenu par le sodium dihydroxybenzène disulfonate (Tiron), un piègeur de superoxyde (Hein T.W. et Kuo L., 1998; Kuo L. et coll., 1992). Les relaxations indépendantes de l'endothélium au nitroprussiate de sodium ne sont pas altérées en présence de LDLs oxydées (Hein T.W. et Kuo L., 1998; Hein T.W. et coll., 2000). Ces résultats suggèrent que les artéριοles coronaires porcines sont susceptibles aux LDLs qui altèrent spécifiquement les relaxations dépendantes de l'endothélium en réduisant la synthèse de NO ou en le piégeant (Hein T.W. et Kuo L., 1998). De plus, ils suggèrent que la production d'anions superoxydes et la déficience en L-arginine peuvent être responsables de l'effet préjudiciable des LDLs (Hein T.W. et Kuo L., 1998).

L'athérosclérose est une variété de sclérose artérielle caractérisée par l'accumulation de lipides amorphes dans la tunique interne du vaisseau (athérome). Elle débute dans la couche profonde de l'intima et se complique de prolifération et d'épaississement des fibres élastiques, d'atrophie des cellules conjonctives, puis de calcifications et s'étend vers la média. Elle atteint surtout les grosses et les moyennes artères (aorte, artères coronaires et cérébrales, artères des membres) dont elle peut provoquer l'oblitération. Dans les artères coronaires porcines, l'athérosclérose diminue les relaxations dépendantes de l'endothélium à la sérotonine et à la bradykinine (Shimokawa H. et Vanhoutte P.M., 1989). Les relaxations dépendantes de l'endothélium sont également réduites dans la microcirculation coronaire des animaux (porcs, singes) hypercholestérolémiques (Kuo L. et coll., 1992; Sellke F.W. et coll., 1990). Dans les artères coronaires athérosclérotiques humaines, les relaxations dépendantes de l'endothélium à la substance P, à la bradykinine et au calcium ionophore sont atténuées et *in vivo*, l'acétylcholine et la sérotonine causent une vasoconstriction (Bossaller C. et coll., 1987; Förstermann U. et coll., 1988; Ludmer O.L. et coll., 1986; Golino P. et coll., 1991).

Chez le chien atteint d'insuffisance cardiaque induite par entraînement cardiaque électrique (*pacing*), les relaxations à l'acétylcholine dans les artères fémorales sont diminuées (Kaiser L. et coll., 1989). Cependant, le degré d'altération des vasodilatations dépendantes de l'endothélium dépend du type de vaisseau étudié (fémorales, coronaires, etc), de l'espèce et du temps auquel elles sont étudiées suite à l'induction ou au diagnostic de l'insuffisance cardiaque (Vanhoutte P.M., 1996 C). Tenant compte de l'hétérogénéité des résultats obtenus entre les expériences animales *ex vivo* et *in vivo* et celles provenant de l'humain, il n'y a pas de concordance parfaite. La majorité des études effectuées chez les animaux portent surtout sur les vaisseaux de conductance et les études cliniques sur les vaisseaux de résistance (microcirculation). Aussi, le mode d'induction de l'insuffisance cardiaque ainsi que le type de vaisseau étudié auront un impact sur les relaxations dépendantes de l'endothélium (Buikema H. et coll., 1993).

Dans un modèle canin d'insuffisance cardiaque induite par *pacing*, les réponses vasodilatatrices à l'acétylcholine sont altérées dans les artères épiscopiques et la microcirculation coronaire et ces altérations sont associées à une diminution significative de la production de nitrites (Wang J. et coll., 1994). Chez des patients atteints d'insuffisance cardiaque, la fonction vasodilatatrice de la microcirculation à l'acétylcholine et l'adénosine est diminuée (Treasure C.B. et coll., 1990). Dans un modèle canin d'insuffisance cardiaque induite par *pacing*, le flux coronaire ainsi que la CVR sont diminués et cette diminution est sélective au sous-endocarde du ventricule gauche (Shannon R.P. et coll., 1993). Ces altérations ne sont pas associées à des changements structuraux, mais sont la conséquence d'une augmentation marquée de la pression en fin de diastole dans le ventricule gauche (Shannon R.P. et coll., 1993). Chez des patients avec insuffisance cardiaque congestive, la vasodilatation au niveau des vaisseaux de résistance induite par l'acétylcholine, la métacholine et la sérotonine sont diminuées. Ceci suggère une diminution de la libération de NO suite à une stimulation par des agonistes (Maguire S.M. et coll., 1998). La vasodilatation diminuée à

l'acétylcholine chez des patients avec insuffisance cardiaque congestive peut être normalisée par la L-arginine de façon aigue (Hirooka Y. et coll., 1994).

Ainsi, ces observations suggèrent grandement que la libération de NO est réduite dans l'insuffisance cardiaque. Chez les patients souffrant d'insuffisance cardiaque, il y a une diminution des réponses dépendantes (augmentation du flot) et indépendantes (nitroglycérine) de l'endothélium au niveau des artères de conductance. Ceci suggère que la sensibilité au NO des cellules du muscle lisse vasculaire est diminuée. Chez des patients avec une insuffisance cardiaque légère à modérée, un traitement à long terme avec des inhibiteurs de l'enzyme de conversion corrige cette incapacité des vaisseaux à se dilater (Drexler H., 1994). En effet, les inhibiteurs de l'enzyme de conversion préviennent la stimulation des récepteurs de l'angiotensine II des cellules musculaires lisses, et inhibent ainsi ses actions contractiles et prolifératives (Parmley W.W., 1998). Donc, l'effet sur l'endothélium semble être une conséquence plutôt qu'une cause de cette pathologie.

Plusieurs facteurs peuvent contribuer à léser l'endothélium au cours d'une transplantation cardiaque : les traumatismes mécaniques, la période de préservation, les solutions de préservation et l'ischémie-reperfusion (Yeung A.C. et coll., 1992; Fullerton D.A. et coll., 1994; Gaudin P.B. et coll., 1994). La capacité vasodilatatrice réduite des artères pourrait aussi être due à la perte de l'endothélium qui est suivie d'une régénération endothéliale (Veinot J.P. et Walley V.M., 1995; Gohra H. et coll., 1995). Au niveau des artères épicaudiques et des vaisseaux de résistance, les immunosuppresseurs utilisés suite à la greffe, particulièrement la cyclosporine A, peuvent diminuer la libération des facteurs vasodilatateurs dérivés de l'endothélium (Bossaller C. et coll., 1989).

Un an après une greffe, la majorité des patients présentent une altération de la vasodilatation dépendante de l'endothélium à l'acétylcholine. Suite à une

injection intracoronarienne d'acétylcholine au 16^{ème} jour et à la 5^{ème} semaine suite à la transplantation cardiaque, les dommages à l'endothélium sont présents malgré l'absence de rejet à la biopsie myocardique (Galumbeck M.A. et Ratz P.H., 1995; Sudhir K. et coll., 1994). Les relaxations dépendantes de l'endothélium à la substance P et à l'acétylcholine sont diminuées suite à la greffe (Davis S.F. et coll., 1996). Après transplantation, la fonction du muscle lisse vasculaire est conservée puisque la réactivité aux vasodilatateurs indépendants de l'endothélium (nitroprussiate de sodium, nitroglycérine) est normale (Donohue T.J. et coll., 1995). Une dysfonction endothéliale, ainsi qu'une altération spécifique des récepteurs apparaît lors du rejet aigu au cours duquel des vasospasmes sévères se sont manifestés (Rickenbacher P.R. et coll., 1995; Sabata M. et coll., 1995). La fonction vasodilatatrice peut être corrigée avec le traitement du rejet, ce qui suggère que l'endothélium peut récupérer sa capacité vasodilatatrice si l'insulte immunologique est enrayée à temps (Hruban R.H. et coll., 1992).

La réserve coronaire diminue progressivement après transplantation cardiaque, liée à une atteinte microcirculatoire qui est retrouvée chez la plupart des sujets greffés depuis plus de 3 ans (Mazur W. et coll., 1998). Dans les premiers mois suivant la greffe, l'atteinte de la microcirculation est rare exceptée en présence de signes de rejet (Nitenberg A. et coll., 1989). Après un traitement contre le rejet, la réserve coronaire revient à des valeurs normales.

CHAPITRE QUATRIÈME

Microcirculation

I. Artérioles sous-endocardiques versus sous-épicardiques

Les vaisseaux épicardiques de la circulation coronaire ne jouent pas de rôle significatif dans la régulation du flot sanguin (De Fily D.V. et Chilian W.M., 1995). En condition physiologique normale, la résistance vasculaire n'est pas également distribuée entre les artères et les artérioles. En effet, en mesurant les pressions moyennes dans différents segments au niveau du ventricule gauche d'un cœur battant, 25% de la résistance vasculaire coronaire se situe au niveau des artérioles proximales à 175-200 μm de diamètre, tandis que 40% de la résistance est attribuée à des artérioles proximales à 75-130 μm (De Fily D.V. et Chilian W.M., 1995).

De plus, il existe une hétérogénéité transmurale dans la distribution de la résistance microvasculaire. Les raisons pouvant expliquer ces différences transmursales ne sont pas parfaitement connues, mais sont fonction des variations des forces compressives, de la tension pariétale et de la demande en oxygène (Hoffman J.I.E., 1990). Ces hypothèses sont supportées par le fait que la consommation en oxygène est plus élevée de 20% au niveau du sous-endocarde en comparaison au sous-épicarde (Weiss H.R. et Sinha A.K., 1978) et qu'il y a une distribution inégale des forces compressives et de la tension sur la paroi du ventricule gauche (Spaan J.A.E. et coll., 1981; Arts T. et Reneman R.S., 1985). Une autre hypothèse pour expliquer ces différences transmursales serait que les vaisseaux de résistance provenant de différentes régions transmursales seraient gouvernés par des mécanismes physiologiques régulateurs différents. En effet, la dilatation et la contraction myogène (i.e. autorégulation dépendante de la pression) est mise en évidence à des pressions plus élevées (100-140 cmH_2O) dans les artérioles sous-épicardiques en comparaison des sous-endocardiques (Kuo L. et Chilian W.M., 1988).

Il existe aussi des différences métaboliques entre les artérioles sous-endocardiques et sous-épocardiques. La manière selon laquelle le flot est distribué au niveau du myocarde peut être influencée par différents facteurs, dont les stimuli neurohumoraux et ceux relâchés localement (Domenech R.G. et MacLellan P.R., 1980). En effet, dans une étude *in vivo* effectuée à l'aide de microsphères radioactives, l'adénosine permet la redistribution du flot sanguin myocardique au sous-endocarde, suggérant ainsi que ces vaisseaux endocardiques sont plus sensibles à cette substance (Rembert J.C. et coll., 1978). La sensibilité des artérioles sous-endocardiques à l'adénosine et au forskolin (un activateur direct de l'adénylate cyclase) est plus grande dans les artérioles sous-endocardiques, ce qui a pour effet de permettre une perfusion myocardique préférentielle dans ce territoire (Quillen J.E. et Harrison D.G., 1992).

II. Études de réactivité endothéliale humaine

Différentes études ont été menées afin de déterminer la réactivité endothéliale humaine. Les microvaisseaux coronaires humains produisent du monoxyde d'azote (NO) suite à une stimulation à l'acétylcholine ou à la bradykinine et chez des patients atteints d'insuffisance cardiaque, la dilatation dépendante de l'endothélium à l'acétylcholine (ACh) est diminuée ainsi que la production de NO (Kichuk M.R. et coll., 1996; Treasure C.B. et coll., 1990). Chez des patients hypercholestérolémiques, la dilatation dépendante de l'endothélium suite à une infusion intracoronaire d'acétylcholine est diminuée en comparaison aux patients normocholestérolémiques. Cette diminution peut être rétablie par l'administration à court terme de L-arginine (Drexler H. et coll., 1991). Les artérioles isolées provenant de l'oreillette droite humaine développent un tonus basal et une réactivité myogène qui requièrent la présence de calcium extracellulaire et l'activation de canaux calciques dépendants du voltage. De plus,

la contraction myogène et le tonus basal sont modulés par l'activation de la protéine kinase C (PKC) dans ces artérioles (Miller F.J. et coll., 1997).

III. Autorégulation du débit coronaire

Les petites artères, les artérioles et les capillaires assurent en presque totalité l'autorégulation, soit l'adaptation de la perfusion myocardique. L'appellation " système de résistance " a été donnée sur une base fonctionnelle en raison du fait que les artères ayant un diamètre inférieur à 300 μm représentent plus de 95% de la résistance totale du système tandis que les artérioles avec un diamètre inférieur à 100 μm constituent 50% de l'ensemble du système résistif (Garot P. et coll., 1999). Ainsi, une faible modification du diamètre coronaire peut entraîner des conséquences hémodynamiques majeures. Les mécanismes métaboliques et myogènes sont les mécanismes responsables de l'autorégulation du flux coronaire sanguin et sont sous la gouverne des microvaisseaux (De Fily D.V. et Chilian W.M., 1995).

A. Réponses microvasculaires à des forces physiques

Deux types de stress mécaniques sont imposés aux parois vasculaires. Le premier est un stress dit "perpendiculaire", qui dépend de la pression sanguine et mène à un étirement des parois vasculaires. Le deuxième type est le *shear stress* (forces de cisaillement) qui s'exerce longitudinalement et cause une friction entre le flot sanguin et la paroi vasculaire. Les forces de cisaillement sont déterminées par la vitesse du flot et la viscosité sanguine (Kuo L. et coll., 1990 A). Les tissus vasculaires possèdent des mécanismes de contrôle qui permettent de maintenir

l'homéostasie locale en réponse à ces deux types de stress : la réponse myogène (pour les changements de pression intravasculaire) et la dilatation induite par le flot (pour l'augmentation du *shear stress*).

i. Contrôle myogène

En 1902, Bayliss a démontré que l'augmentation de la pression dans l'artère carotide de chien provoque une contraction et qu'une diminution de pression entraînait une dilatation. L'autorégulation du débit coronaire s'effectue également via une réponse myogène des vaisseaux de résistance (De Fily D.V. et Chilian W.M., 1995). Cette réponse consiste en un ajustement quasi immédiat du tonus des vaisseaux de résistance en réponse à une augmentation ou une diminution de la pression de perfusion coronaire et ce, pour une demande en oxygène maintenue constante (Garot P. et coll., 1999; De Fily D.V. et Chilian W.M., 1995). Par exemple, la dilatation apparaît suite à une diminution de la pression intraluminale et la contraction en réponse à une augmentation de la pression. La contraction en réponse à une augmentation de la pression intraluminale produit une diminution de la tension sur la paroi et peut protéger les microvaisseaux contre des dommages vasculaires aigus. La dilatation obtenue en réponse à une diminution de pression permet d'empêcher les vaisseaux de se collapser et ainsi de prévenir toute occlusion de l'artériole qui pourrait engendrer une période d'ischémie (Komaru T. et coll., 2000).

L'activité myogène peut être mise en évidence grâce à un dispositif expérimental appelé l'artériographe. L'artériographe (Figure 8) permet d'étudier les propriétés contractiles de petites artères et est composé d'une cuve de plexiglas avec deux canules de verre sur lesquelles une artériole est attachée à l'aide de fils de sutures (Nguyen T.-D. et coll., 1999). Un module de contrôle de la pression intraluminale est relié à un capteur de pression et à une pompe péristaltique.

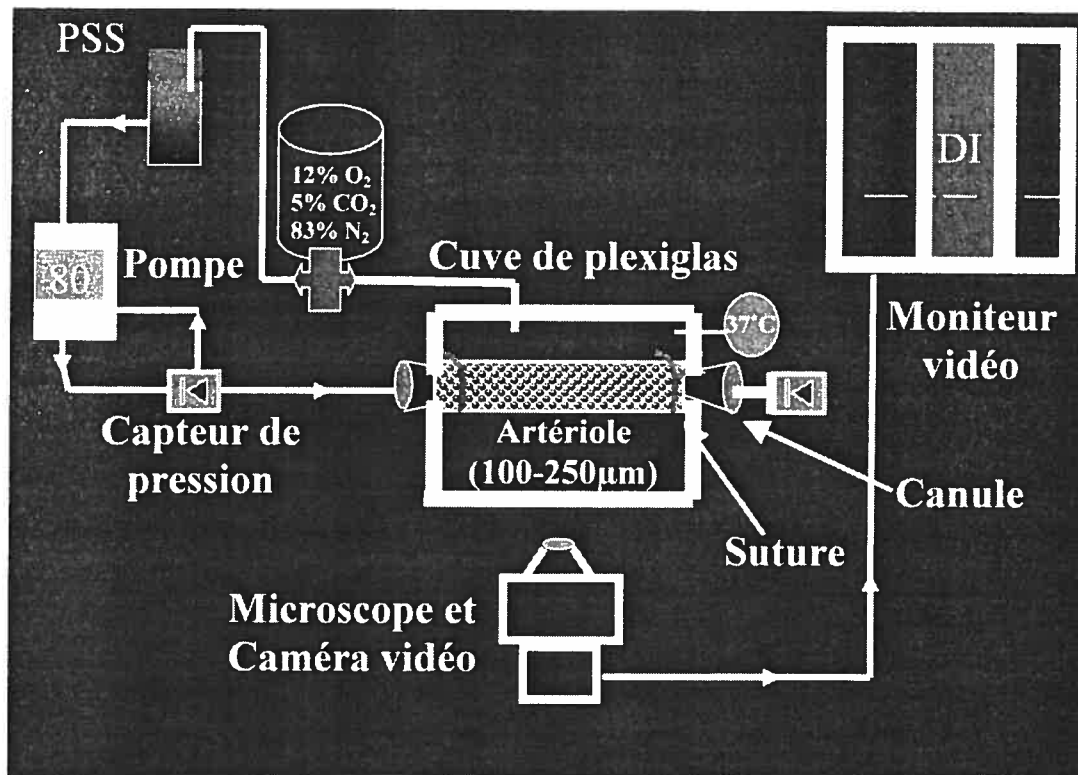


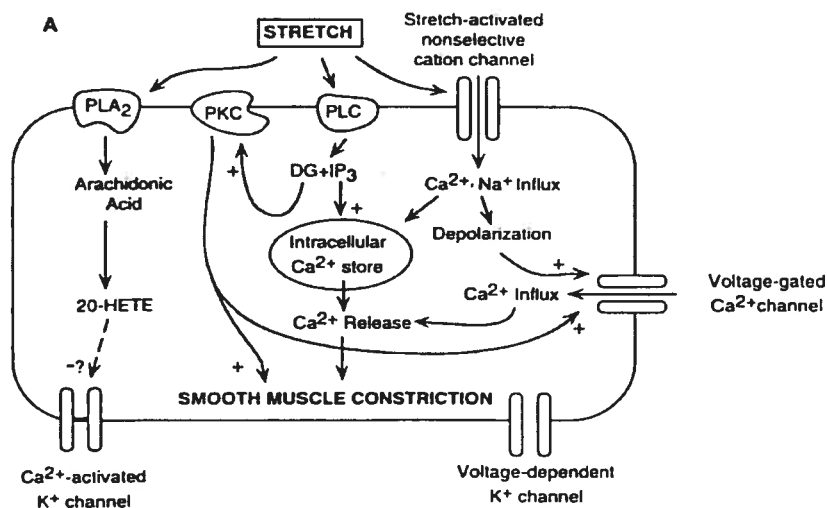
Figure 8 : Schéma de l'artériographe. DI = diamètre interne ; PSS = Solution physiologique saline (Modifié de Véquaud P., 1998).

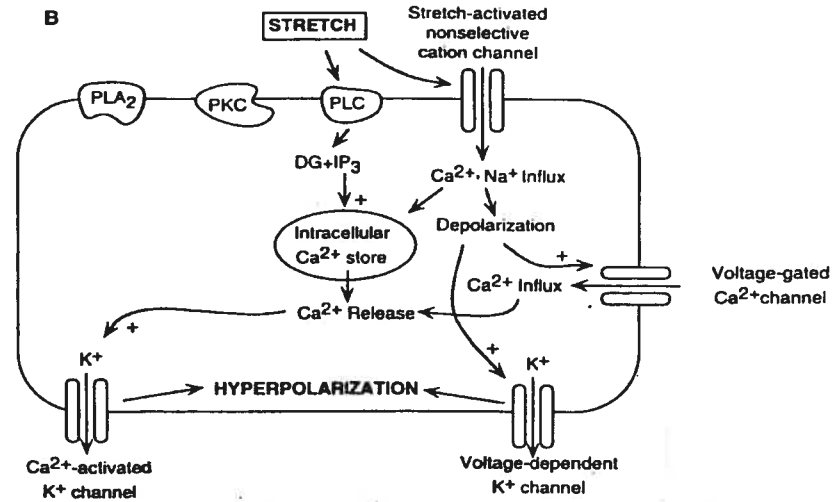
La cuve est placée sur un microscope muni d'une caméra et d'un moniteur vidéo (Nguyen T.-D. et coll., 1999). Ainsi, il est possible de visualiser sur le moniteur, l'artériole et d'en déterminer le diamètre interne grâce à un système électronique d'analyse vidéo qui détecte les zones de forte densité optique. Ainsi, l'activité myogène peut être étudiée en augmentant ou en diminuant la pression intraluminale (habituellement de 10 à 20 mmHg à la fois sur des pressions variants de 10 à 160 mmHg) au niveau de l'artériole grâce à la pompe péristaltique et au module de contrôle de la pression intraluminale (Nguyen T.-D. et coll., 1999). Cependant, le contrôle myogène n'est pas homogène à travers la microcirculation, il est dépendant de la taille des vaisseaux étudiés (Komaru T. et coll., 2000). Des artérioles porcines de 150 à 300 µm répondent passivement aux changements de

pression, mais celles de 40 à 100 μm montrent une activité myogène (Chilian W.M., 1991). Le contrôle myogène est aussi indépendant d'un endothélium intact et constitue donc, une propriété intrinsèque du muscle lisse vasculaire (De Fily D.V. et Chilian W.M., 1995; Komaru T. et coll., 2000). La régulation myogène du tonus vasculaire indépendante de l'endothélium a été démontrée dans des artérioles coronaires porcines isolées ayant des diamètres entre 40 μm et 100 μm . (Kuo L. et coll., 1990 A; Kuo L. et coll., 1991; Kuo L. et coll., 1990 B). De plus, l'activité myogène est plus élevée au niveau du sous-épicaarde qu'au niveau du sous-endocarde (Kuo L. et Chilian W.M., 1988). Cette différence transmurale peut être un des mécanismes par lequel le sous-épicaarde demeure résistant à l'ischémie myocardique au cours d'une diminution de la pression de perfusion puisque le tonus myogène plus élevé permet une réserve vasodilatatrice plus grande (Bache R.J. et Cobb F.R., 1977; Koyanagi S. et coll., 1982). De nombreux facteurs sont à considérer pour expliquer la présence ou l'absence d'une réponse myogène : le développement d'un tonus spontané varie selon les espèces ou tissus desquels les vaisseaux ont été isolés et en fonction de la taille des vaisseaux.

Différents mécanismes sont proposés pour expliquer la réponse myogène (Figures 8A et 8B). Les réponses myogènes sont associées à une augmentation intracellulaire soutenue de calcium (Meininger G.A. et Davis M.J., 1992). Les canaux calciques dépendants du voltage (VGCC, *voltage-gated Ca^{2+} channels*) sont responsables de l'entrée de calcium dans le muscle lisse vasculaire. Le relâchement de calcium par le réticulum sarcoplasmique intervient aussi dans la réponse myogène (Meininger G.A. et Davis M.J., 1992). De plus, des canaux non spécifiques sensibles à l'étirement, présents au niveau du muscle lisse vasculaire, induisent un influx de cations (Ca^{2+} et Na^{2+}) qui mène à la dépolarisation des cellules musculaires (Meininger G.A. et Davis M.J., 1992). Cette dépolarisation conduit à l'activation des VGCC et engendre une augmentation de la concentration intracellulaire en calcium, d'où la contraction des cellules musculaires lisses (Davis M.J. et coll., 1992). Ces canaux sensibles à l'étirement agissent aussi

directement sur le réticulum sarcoplasmique. Un autre médiateur possible de la réponse myogénique est la phospholipase C (PLC). Le mécanisme par lequel la PLC est activée suite à une augmentation de la pression intraluminale reste indéterminé, mais dans des artères rénales de chien, il y a une augmentation d'inositol triphosphate (IP₃) et de diacylglycérol (DAG) qui vont agir au niveau du réticulum sarcoplasmique et de la protéine kinase C (PKC), respectivement, pour permettre l'augmentation intracellulaire de calcium et ainsi mener à la contraction des cellules musculaires lisses (Narayanan J. et coll., 1994). La protéine kinase C a aussi un rôle dans la réponse myogène, elle agit en augmentant la sensibilité de l'appareil contractile au Ca²⁺ et en augmentant l'influx de Ca²⁺ par les VGCC (Miller F.J. et coll., 1997).





Figures 9A et 9B : Illustrations schématiques des mécanismes possibles de la contraction myogène (A) et de ces mécanismes compensatoires (B). DG = diacylglycérol; 20-HETE = acide 20-hydroxyeicosatétraénoïque (Tiré de Komaru T. et coll., 2000).

ii. Dilatation induite par le flot

En 1933, Schretzenmayr a montré que l'instauration d'un débit provoquait une dilatation de l'artère fémorale chez le chien (Kuo L. et coll., 1990 A). C'est en 1981, par Gerova et coll., que la dilatation induite par le flot a été démontrée pour la première fois dans la circulation coronaire (Kuo L. et coll., 1990 A; Gerova M. et coll., 1981). La dilatation induite par le flot dans des artères de conductance n'est pas influencée par un blocage adrénergique, cholinergique et ganglionique, mais après destruction des cellules endothéliales, la réponse dilatatrice au flot est abolie, ce qui suggère que cette réponse est dépendante de l'endothélium (Kuo L. et coll., 1990 A).

La dilatation induite par le flot est aussi présente dans les petites artérioles coronaires porcines et cette dilatation est dépendante d'un endothélium intact et donc, fonctionnel (De Fily D.V. et Chilian W.M., 1995; Komaru T. et coll., 2000).

Les vaisseaux de résistance sont aussi plus sensibles au changement de flot que les grosses artères (Kuo L. et coll., 1991; Kuo L. et coll., 1990 A). Les réponses myogènes dans les vaisseaux de résistances sont indépendantes de l'endothélium (Kuo L. et coll., 1990 A). Donc, dans la microcirculation coronaire porcine, la vasodilatation induite par le flot et les réponses myogènes participent à la régulation du flot sanguin myocardique. Il apparaît donc que ces deux mécanismes peuvent interagir pour moduler le tonus microvasculaire et contrôler l'apport d'oxygène au myocarde (Kuo L. et coll., 1990 A; Kuo L. et coll., 1991). Les dilatations induites par le flot dans les artérioles coronaires de porc sont dues au NO (Kuo L. et coll., 1991). En effet, les forces de cisaillement mènent à une libération soutenue de NO en activant des mécanorécepteurs. Des mécanorécepteurs (protéines membranaires (*actin stress fibers*)) situés au niveau des cellules endothéliales sont sensibles à la variation du flot (Davies P.F., 1995) (Figure 10). Suite à l'activation des mécanorécepteurs, plusieurs voies de transduction sont activées : l'activation de protéines G, l'activation de tyrosines kinases, la phosphorylation de protéines et de facteur de transcription. Ultiment, l'activation des protéines G causera une augmentation de IP₃ via l'activation de la phospholipase C, menant ainsi à une augmentation du relâchement de Ca²⁺ du réticulum sarcoplasmique et à la phosphorylation de la eNOS (Davies P.F., 1995). Principalement, la phosphorylation de eNOS mènera à la formation de NO, qui stimulera la guanylate cyclase soluble au niveau des cellules du muscle lisse vasculaire, ce qui engendrera une augmentation de GMPc et conduira à la dilatation de l'artériole (Figure 10). De plus, les forces de cisaillement sont transmises au foyer d'adhésion (*Focal adhesion site*, FAK) situé sur le côté abluminal des cellules endothéliales via le cytosquelette (*actin stress fiber*) où des tyrosines kinases vont phosphoryler une tyrosine et activer la eNOS (Davies P.F., 1995) (Figure 10).

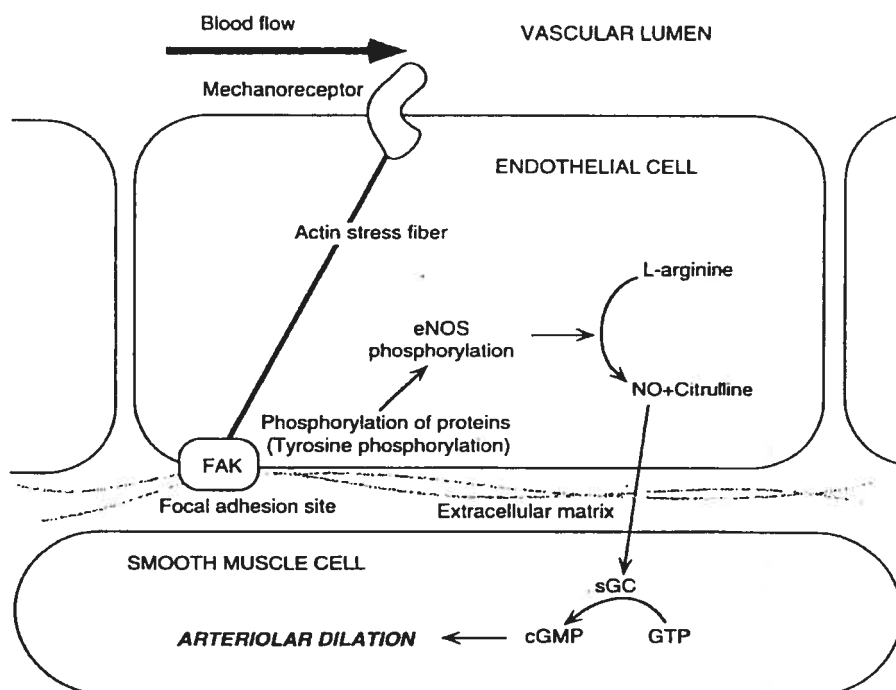


Figure 10: Voie de transduction du signal possible pour la dilatation induite par le flot, lequel est médiée par une mécanotransduction via les *actin stress fibers*, et l'activation subséquente de la kinase du foyer d'adhésion et la phosphorylation de la eNOS. FAK = kinase d'adhésion focale; sGC = guanylate cyclase soluble (Tiré de Komaru T. et coll., 2000).

B. Contrôle microvasculaire par des facteurs métaboliques

Le mécanisme de régulation métabolique augmente ou diminue parallèlement le débit coronaire et la consommation en oxygène du myocarde (Garot P. et coll., 1999). Cette régulation métabolique est effectuée par des facteurs issus du travail cardiaque tels que l'adénosine, l'oxygène, le dioxyde de carbone et les protons (pH).

En 1963, Berne a indiqué que l'adénosine serait responsable en partie de la régulation métabolique (Berne R.M., 1963; De Fily D.V. et Chilian W.M., 1995).

Lors du travail cardiaque, la formation d'adénosine, issue de la dégradation de l'ATP, a pour effet d'induire une vasodilatation coronaire et une augmentation du débit afin de palier aux besoins énergétiques du myocarde. L'adénosine est un agoniste indépendant de l'endothélium. Elle stimule la production d'adénylate cyclase via les récepteurs de type A_2 , qui est cependant inhibée par les récepteurs de type A_1 . Par contre, les récepteurs de type A_1 ont la particularité de stimuler les canaux potassiques et ainsi d'inhiber l'influx de calcium à l'intérieur de la cellule, provoquant la relaxation du muscle lisse (Hoyer D. et coll., 1994).

Lorsqu'il y a hypoxie tissulaire, la dilatation coronaire serait due à l'activation de canaux potassiques ATP-dépendants. Cependant, l'apport de ces canaux dans la vasodilatation des petites artères et artérioles coronaires n'a pas été démontré dans toutes les espèces (Herrmann S.C. et Feigl E.O., 1992; Garot P. et coll., 1999). De la même façon, une augmentation du dioxyde de carbone (hypercapnie) et une diminution du pH (acidose) induiraient la modulation du débit coronaire par le biais d'une vasodilatation artériolaire et capillaire (Garot P. et coll., 1999). Ainsi, la circulation coronaire est constituée d'un système d'autorégulation et d'une régulation métabolique qui résulte de concert en une dilatation des microvaisseaux dans le but de maintenir un apport adéquat d'oxygène au myocarde.

CONTRIBUTION ORIGINALE

**Reduced sensitivity to nitric oxide of porcine
subendocardial coronary arterioles in left ventricular
hypertrophy**

Vickie Lebel, Éric Thorin, Jean-Claude Tardif, Michel Carrier, Louis P. Perrault

*Research Center, Department of Surgery; Department of Medicine; Department of
Pharmacology, Montreal Heart Institute and Université de Montréal, Montreal,
Quebec, Canada*

Short Title: Endothelial dysfunction in LVH

Address correspondence and reprint requests to Dr L.P. Perrault, Research Center,
Montreal Heart Institute, 5000 Belanger Street East, Montreal, Quebec, H1T 1C8,
Canada. Tel.: (514) 376-3330 (3471); Fax: (514) 376-1355; E-mail:
[REDACTED]

Abstract

Background and Purpose - Left ventricular hypertrophy (LVH) is the main structural adaptation of the heart in response to an increased after load due to hypertension or aortic stenosis. The changes that occur in the coronary microvessels during this process are unclear. We hypothesized that an alteration of the endothelial function occurs in subendocardial coronary arterioles secondary to left ventricular hypertrophy (LVH) induced by aortic stenosis.

Methods - LVH was induced in swine by an aortic banding constructed on the ascending aorta 3 cm above the coronary ostia. Development of LVH was documented by serial echocardiography. Subendocardial microvessels (100-250 μm in outer diameter) of swine with 8 weeks and without aortic banding were isolated and pressurized *in vitro* in a pressure myograph. Dose-response curves to sodium nitroprusside (SNP; a nitric oxide donor), bradykinin (BK) and UK14304 (UK; an α_2 -adrenergic receptor agonist) were constructed after an equal reduction in diameter triggered by acetylcholine (ACh, 3 μM). Experiments were performed in the presence of indomethacin (10 μM) and NO formation was blocked by L-NNA (a NOS synthase inhibitor, 10 μM). Results are expressed as mean \pm SEM.

Results - Aortic banding induced significant LVH (21% increase in LV/body weight ratio, $n=6$; $P<.05$). The maximal dilation to SNP was reduced ($P<.01$) in LVH (30.8 ± 13.4 , $n=7$) in comparison to control (83.5 ± 6.3 , $n=5$). In the presence of L-NNA, the maximal dilation to SNP ($n=6$) was restored ($P<.01$) in LVH. UK-induced dilation was abolished in LVH. In contrast, the dilation induced by BK was unaffected by LVH with ($n=5$) or without L-NNA ($n=7$).

Conclusions - The results suggest that LVH is associated with a reduction in smooth muscle sensitivity to NO (SNP) and that maximal dilation to SNP can be restored by NOS inhibition. As a functional consequence, the

endothelium-dependent relaxation to a G_i -coupled α_2 -adrenergic receptor agonist, that triggers NO release, is abolished in LVH. This deficiency however appears to be fully compensated by the EDHF (endothelium-derived relaxing factor) pathway in the presence of BK (G_q -coupled B2 receptor agonist).

Introduction

Concentric left ventricular hypertrophy (LVH) secondary to arterial hypertension or aortic stenosis (AS) is the main structural adaptation of the heart in response to an increased afterload which normalizes, at least temporarily, wall stress in the left ventricle.¹⁻⁴ Left ventricular hypertrophy is a frequent clinical finding affecting 23% and 33% of men and women respectively, over the age of 59 years.⁵ During surgery, the increased myocardial demand in coronary blood flow to maintain ventricular function in the presence of greater myocardial mass, subendocardial perfusion deficiency and greater transmural gradient may compromise myocardial protection.⁶ Cardiac surgery and aortic valve procedures are still associated with substantial morbidity due to perioperative myocardial infarction and suboptimal myocardial protection translating into a 3 to 5% mortality rate for primary surgery.⁷ LVH is associated with an unfavorable prognosis because of an increase frequency of cardiac events such as infarcts and angina pain. Anginal symptoms and signs of ischemia are frequently present in patients with ventricular hypertrophy without detectable lesions of the epicardial arteries^{8,9} and are generally attributed to abnormalities of the coronary microcirculation.⁹

Several studies have demonstrated that coronary flow reserve is reduced in LVH secondary to hypertension¹⁰, aortic stenosis^{11,12}, aortic regurgitation¹³, supraaortic stenosis¹⁴, hypertrophic cardiomyopathy¹⁴ and in

experimental models of LVH.¹⁵⁻¹⁸ Hypertrophic hearts are more vulnerable to ischemic damage because of this reduction in coronary reserve. The subendocardium is most vulnerable to ischemic injury because the reduction in coronary reserve is greater than in the subepicardium.¹⁹ In fact, in anesthetized dogs, flow autoregulation in the subendocardium is lost but not in the subepicardial layer when mean coronary pressure decreases below about 60-70 mmHg.¹⁹ Dysfunction of the microvascular endothelium may contribute to abnormalities of flow regulation in hypertension and ventricular hypertrophy.²⁰ The endothelium-dependent vasodilatation of human coronary microvessels is indeed impaired in hypertension and LVH suggesting that the loss of this regulatory mechanism could contribute to the alteration of coronary blood flow and favor the occurrence of myocardial ischemia.⁸

No studies have investigated, *in vitro*, whether impairment of vasodilatory responsiveness of coronary arterioles in pressure overload hypertrophy is due to an alteration of endothelial signal transduction. Characterization of these mechanisms is of paramount importance to develop strategies for reversal and prevention, considering the morbidity related to inadequate myocardial protection in patients with LVH and the adverse prognosis of LVH. For these reasons, the purpose of this study was to investigate and characterize, *in vitro*, the endothelial function of subendocardial coronary arterioles in a porcine model of LVH secondary to aortic banding by assessment of the NO and EDHF pathways and of the reactivity of vascular smooth muscle to exogenous NO.

Methods

Anaesthesia and surgical procedure

The procedures were performed in compliance with the recommendations of the guidelines on the care and use of laboratory animals issued by the Canadian Council on Animal and the guidelines on Animal Care. The research protocol was approved by the local ethics committee. Landrace swine (McDonald Farm, McGill University, Montreal, QC) of either sex (weight 25.8 ± 0.7 kg) were anesthetized with an intramuscular injection mixture of ketamine (20 mg/kg; Rogarsetic, QC) and xylazine (2 mg/kg; Rompun, ON). Swine were artificially ventilated with an O₂/air mixture. Respiratory control was maintained by frequent determinations of arterial blood gases. Acidosis was balanced with 8.4% sodium bicarbonate (Abbott Laboratories, Montreal, QC). Light anesthesia was supported by halothane 1% v/v (Halocarbon Laboratories, River Ridge, NJ). Hair was shaved in the operative field, the skin was surgically disinfected and intramuscular antibiotics (3 ml/45 kg; trivetrin, Shering-Plough, Pointe-Claire, QC) were administered. A catheter was placed in an auricular vein for intravenous infusion during the operation. A left anterior thoracotomy was performed in the third intercostal space. The ascending aorta and the pulmonary artery were carefully separated. An umbilical tape was placed 3 cm above the coronary ostia of the aorta, gently constricted to obtain a systolic gradient of 15 mmHg (measured by monitoring of the systemic arterial pressure distally to the banding site) and then tied. The pericardium was left opened and the chest was closed in multiple layers.

Hemodynamic studies

Hemodynamic measurements of the left ventricle were performed by insertion of a 6 or 7-Fr pigtail catheter in the femoral artery, after which a guiding catheter was advanced into the ascending aorta and placed in each coronary ostium

to measure intracoronary pressures. The guiding catheter was then advanced in the left ventricle across the aortic valve to measure left intraventricular pressures. All studies were performed at baseline and 1 and 2 months after surgery.

Morphometric analysis

Subendocardial arterioles (100-250 μm of internal diameter) were dissected with a myocardial block, fixed in formalin 10% and cut transversely. The slices were stained with Verhoeff. Total vessel area and lumen area were determined in digital planimetry with a video microscope linked to a computer and customized software (Scion image 1.6, Frederick, Maryland).²⁶ Wall area was determined by subtraction of the lumen area from the total area. In order to obtain comparable data at variable external diameters, the wall/lumen ratio was calculated by dividing the wall area by the lumen area.²

Vascular Preparation

Experiments were conducted as previously described,²⁵ on isolated subendocardial coronary arterioles (100-250 μm internal diameter and 2- to 3-mm length arterial segment). The sacrifice was performed by exsanguination under general anaesthesia, the thorax was reopened for explantation of the heart and placed in a 4°C physiological salt solution (PSS) containing indomethacin (10 $\mu\text{mol/L}$, cyclooxygenase inhibitor) and of the following composition (mmol/L): NaCl 130 ; KCl 4.7 ; CaCl₂ 1.6 ; MgSO₄ 1.17 ; NaHCO₃ 14.9 ; KH₂PO₄ 1.18 ; EDTA 0.026 ; glucose 10 ; and oxygenated with 12% O₂ / 5% CO₂ / 83% N₂ (pH 7.4). A section of the left ventricle was dissected from the heart and placed in a Petri dish containing PSS for dissection of coronary microvessels. Subendocardial microvessels were dissected from the left anterior descending arterial collaterals and were cannulated and pressurized. The ischemic time between heart explantation and cannulation was on average 30 minutes.

Determination of optimal transmural pressure and myogenic tone

The vessels were pressurized without flow at an optimal transmural pressure of 80 mmHg for control vessels and 100 mmHg for stenotic vessels. These pressures were obtained by studying the variation of internal diameter as a function of the transmural pressure, as previously described.²⁵ The vessels were bathed in different solutions: PSS (control condition), 127 mM KCl-PSS (hyperpolarizing solution) and calcium-free PSS-SNP (to determine passive diameter). Incremental pressure steps of 20 mmHg were applied (2 to 160 mmHg) under these conditions and myogenic tone (MT) was calculated.

Vascular reactivity

Study of vessel integrity

The integrity of the microvessels was tested by contraction to 40 mM KCl and dilation with bradykinin, to assess smooth muscle and endothelial integrity, respectively. Bradykinin is an endothelium-dependent agonist that binds to B₂ receptors coupled to G_q-proteins (10^{-6} M) which leads to release of NO and EDHF (endothelium-derived hyperpolarizing factor). All protocols were performed in the presence of indomethacin (10 μ M).

Contraction

The vessels were contracted to >60% of the baseline diameter in response to increasing extraluminal concentrations of acetylcholine (ACh, 10^{-9} to $3 \cdot 10^{-6}$ M), an endothelium-independent vasoconstrictor in porcine coronary arterioles. Acetylcholine was chosen to provide vascular tone because it produces sustained constriction of porcine coronary vessels and does not elicit NO release in this species.²⁷ Contractions were studied in the absence and presence of L-NNA (10^{-4} M, a NO synthase inhibitor).

Endothelium-dependent and -independent relaxations

The relative contribution of NO and EDHF (endothelium-derived hyperpolarizing factor) to agonist-mediated dilation in no-flow conditions was determined after exposure to *N*^ω-nitro-L-arginine (L-NNA, 10 μmol/L). After contraction with ACh, dose-responses curves to bradykinin (BK, 10⁻¹² to 3.10⁻⁷ M) and UK14304 (10⁻¹² to 3.10⁻⁵ M, an endothelium-dependent agonist that binds to α₂-adrenergic receptors coupled to G_i-proteins), were constructed. Endothelium-independent relaxations were also studied by way of dose-response curves to sodium nitroprusside (SNP, 10⁻⁹ to 3.10⁻⁴ M, an exogenous NO donor) constructed in the presence and absence of L-NNA.

Chemicals

All solutions were prepared daily in distilled water, except indomethacin which was prepared in ethanol. Bradykinin (BK), sodium nitroprusside (SNP), acetylcholine (ACh), UK14304 (UK), indomethacin and *N*^ω-nitro-L-arginine (L-NNA) were purchased from Sigma Chemical Co. (St-Louis, MO). All drugs were added directly to the vessel chamber and are given in final concentrations. To prepare the K⁺-rich solution (K-PSS), equimolar amounts of NaCl were replaced with KCl.

Data analysis

In all experiments, *n* equals the number of vessels, each arising from different animals. In each vessel, responses to all vasorelaxing substances were examined and the order of administration was randomized for bradykinin and UK14304.²⁷ Responses to SNP were always examined last. Half-maximum effective concentration (EC₅₀) of each drug was measured from each individual dose-response curve using a logistic curve-fitting program (Allfit for Windows 2.12, Dr DeLéan, Université de Montréal, Montréal, QC). The pD₂ value, the negative log of the EC₅₀, was obtained. Continuous variables are expressed as

means \pm standard error of the mean (SEM). At the end of the protocol, the maximal diameter (D_{\max}) was determined by changing the PSS to a Ca^{2+} -free PSS containing sodium nitroprusside (10 $\mu\text{mol/L}$) and EGTA (ethylene glycol-bis(β -aminoethylether)- N,N,N',N' -tetraacetic acid, 1 mmol/L). For each protocol, basal diameter in no-flow condition was determined at the end of the 30 minute equilibration period. ACh-induced constrictions are expressed as a percentage of the D_{MAX} . Agonist-induced dilation is expressed as a percentage of the initial ACh-induced constriction. Myogenic tone was calculated as follows: $\text{MT} = 100 \times [(d_{\text{Ca-free}} - d)/(d_{\text{Ca-free}} - d_{\text{KPSS}})]$ where $d_{\text{Ca-free}}$ is the diameter obtained at a given pressure in Ca^{2+} -free PSS, d is the steady state diameter reached by the vessel, and d_{KPSS} is the diameter obtained in 127 mmol l^{-1} KCl PSS.²⁵ Preliminary three-way repeated measures ANOVAs were used to test interaction between group (control, control with L-NNA, LVH, LVH with L-NNA) and drug concentrations for each drug (ACh, BK, SNP, UK14304). After these first global analyses were done, two-way ANOVAs were used to test the interaction between presence/absence of LVH and presence/absence of L-NNA. Contrasts were built to make predetermined pairwise comparisons of the means (Figure 1 to Figure 5). Two-way repeated measures ANOVA and contrasts were also used to test the effect of LVH and transmural pressure on myogenic tone (Figure 1a and 1b). Because of the multiplicity of tests, differences were considered statistically significant if the P value was <0.01 . For hemodynamic studies, repeated measures by ANOVA followed by Student's t -test were used and differences were considered statistically significant if the P value was < 0.05 .

Results

Effect of eight weeks of aortic banding on the development of LVH and arteriolar morphology and hemodynamic data

As presented in Table 1, the heart/body weight ratio and the left ventricle/body weight ratio increased by 36% and 21% respectively, after 8 weeks of aortic banding ($P < .05$). The body weight was not different in LVH (31 ± 2 kg, $n = 9$) compared to control (36 ± 2 kg, $n = 6$) animals. These measurements indicate a significant LVH. The wall/lumen ratio of subendocardial arterioles increased in LVH due to an increase in wall thickness. Subendocardial arterioles of LVH (145.5 ± 8.2 , $n = 9$) animals had a reduced ($P < .05$) internal diameter compared to control (188.1 ± 8.5 , $n = 6$) (Table 1 and Figure 1).

Hemodynamic results (Table 2) were described in a previous study.²¹ There was a statistically significant reduction of left ventricular diameters and volumes after 60 days of aortic banding. There were no significant changes in left ventricular ejection fraction between groups. There was a significant increase in left ventricular diastolic and end-diastolic pressure 2 months after aortic banding compared to controls. There was a statistically significant decrease of the dP/dT ($P < 0.05$). These results are similar to the echocardiographic features described in clinical series of patients with LVH.²²⁻²⁴ There was no increase in LV systolic pressure but a decreased dP/dT suggesting a reduction of the contractile state in LVH. There were no statistically significant changes in coronary pressures measured after 60 days of aortic banding. No evidence of acute endothelial dysfunction due to modification of coronary perfusion pressures secondary to supraostial stenosis was found.

Effect of LVH on optimal transmural pressure and myogenic tone

As shown in Figure 1a and 1b, there were no significant differences in myogenic tone between the LVH and the control group.

Effect of LVH on ACh-induced contraction

Vascular sensitivity to ACh (Figure 2) was similar in control ($pD_2 = 6.6 \pm 0.1$, $n=8$) and hypertrophic hearts ($pD_2 = 6.4 \pm 0.1$, $n=5$). L-NNA did not affect this parameter in controls ($pD_2 = 6.5 \pm 0.2$, $n=5$) and LVH ($pD_2 = 6.3 \pm 0.03$, $n=5$). The maximal contraction induced by ACh in the absence ($89\% \pm 2$, $n = 8$; $84\% \pm 5$, $n = 5$) and presence of L-NNA ($94\% \pm 3$, $n = 5$; $93\% \pm 2$, $n = 5$) was similar in controls and LVH, respectively.

Effect of LVH on endothelium-dependent relaxation

Vascular sensitivity to BK (Figure 3) was not altered in LVH ($pD_2 = 9.5 \pm 0.3$, $n = 7$) compared to controls ($pD_2 = 9.1 \pm 0.1$, $n = 6$). This parameter was shifted to the right ($P<.01$) by L-NNA similarly in controls ($pD_2 = 8.6 \pm 0.1$, $n=5$) and in LVH ($pD_2 = 8.5 \pm 0.2$, $n=5$). UK14304-induced maximal dilation (Figure 4) was abolished ($P<.01$) in LVH ($n=5$) compared to controls ($43 \pm 7\%$ of maximal diameter, $n=6$). L-NNA abolish ($P<.01$) the efficacy of UK in LVH, but not in controls ($23 \pm 7\%$, $n = 5$, statistically different from zero; $P=0.0018$).

Effect of LVH on endothelium-independent relaxation

SNP-induced maximal dilation (Figure 5) was reduced ($P<.01$) in LVH ($31 \pm 13\%$, $n=7$, statistically different from zero; $P=0.0022$) compared to controls ($84 \pm 6\%$, $n=5$). Blockade of endogenous NO production increased the maximal dilation induced by SNP in LVH ($85 \pm 5\%$, $n=6$). The potency of the NO donor in control ($pD_2: 5.4 \pm 0.4$, $n=5$) was similar in LVH ($pD_2: 5.0 \pm 0.2$, $n=7$).

Discussion

Dysfunction of the microvascular endothelium may contribute to abnormalities of flow regulation in hypertension and left ventricular hypertrophy.²⁰ In this study, we tested the hypothesis that there is an alteration of the endothelial

function of subendocardial coronary arterioles in left ventricular hypertrophy. The major findings of this study are that *in vitro*, LVH secondary to aortic banding is associated with reduced vascular smooth muscle sensitivity to NO as revealed by the low efficacy of SNP. The endothelium-dependent, NO-mediated dilation induced by BK appears not affected most likely due to the compensatory effect of EDHF. On the other hand, the α_2 -adrenergic-dependent dilation, mostly NO-dependent, is reduced.

Effect of LVH on arteriolar morphology

The coronary microcirculation in LVH is characterized by impaired vasodilator reserve, defined as an increase in blood flow from baseline to maximal vasodilatation, in humans and experimental animals.^{28, 29} It has been suggested that this impairment is the result of structural changes, but conflicting results have been reported.²⁸ Structural remodeling of ventricular myocytes, connective tissue and microvessels may be adaptative, but at later stage of LVH, this remodeling becomes detrimental.² In a morphometric study on human myocardium from patients with aortic valvular stenosis, myocytic hypertrophy and perimyocytic fibrosis was markedly increased above control values with no significant thickening of intramyocardial arteries and arterioles.² In the present study, subendocardial arterioles show an increase of medial area and therefore, of the wall/lumen ratio. The increment in wall/lumen ratio of resistance vessels leads to an augmented vascular resistance.² This result is consistent with others studies that report an increase in the medial area of small coronary arteries in pressure-overload hypertrophy.^{28, 30-35} The reported differences between the various studies could be explained by different severity of disease, forms of fixation and embedding and different morphometric techniques.² However, these studies did not address the presence of functional alterations or altered physiologic responses which could explain the reduced coronary vasodilator reserve in LVH.²⁸

Effect of LVH on optimal transmural pressure and myogenic tone

No studies have examined myogenic activity in LVH. This phenomenon, characteristic of resistance arteries, may contribute to the maintenance of basal vasomotor tone and play a role in the regulation of coronary blood flow.³⁶ The level of myogenic tone (MT) was similar between the two groups and represented 30 to 60% of the minimal diameter. Thus, no alterations in smooth muscle responses to pressure were encountered in LVH.

Effect of LVH on ACh-induced contraction

In agreement with the myogenic responses, contractions to ACh were similar in this porcine model of LVH compared to control. Furthermore, in the presence of L-NNA, a NO synthase inhibitor, ACh-induced contractions were not increased. This result suggests that the constitutive release of NO in these isolated vessels is minimal and has no impact on smooth muscle contraction.

Effect of LVH on endothelium-dependent relaxation

Endothelium-dependent relaxations to BK, an agonist that binds B2 receptors coupled to G_q-proteins, were not altered in LVH compared to controls. In the presence of NO synthase inhibitor, relaxations to BK were most likely dependent on the release of EDHF in control and LVH arteries.³⁷ A recent study on canine coronary arterioles suggests that during inhibition of NO and PGI₂ production, BK-induced vasodilatation is mainly mediated via a cytochrome P-450 derivative, which was proposed to be the endothelium-derived hyperpolarizing factor (EDHF).³⁸ In a previous *in vivo* study, the endothelium-dependent vasodilatation of human coronary microvessels was impaired in hypertension and LVH.⁸ In our study, the potency and the efficacy of UK, an agonist of α_2 -adrenergic receptors coupled to G_i-proteins, were abolished in LVH in presence and absence of L-NNA compared to controls pigs. The compensatory effect of EDHF observed with BK was not observed with UK stimulation of α_2 -adrenergic receptors which triggers NO release and not EDHF in LVH. This impairment of

endothelium-dependent relaxation mediated by agonists coupled to G_i-proteins is similar to the blunted responses to UK14304 in early stages of the atherosclerotic process and in heart transplantation.³⁹

Effect of LVH on endothelium-independent relaxation

The dilatory effect of SNP was reduced in LVH. In the presence of L-NNA, maximal dilation was restored compared to control. Others studies^{40,41} have demonstrated that inhibition of NO synthase by L-NNA and endothelial denudation increases vascular sensitivity to SNP-induced relaxation. In contrast, NO-induced resistance to NO-mediated vasodilators was generated by guanylate cyclase (GC) desensitization in mice, mimicking the "nitrate tolerance" phenomenon.⁴⁰ Our observation that the SNP-induced maximal dilation is reduced in LVH, but restored in presence of L-NNA, suggests that LVH is associated with an augmented production of NO that downregulates the activity of the soluble GC.

Limitations

At the microvascular level, LVH may be associated with an increase of shear stress in *in vivo* conditions produced by the aortic banding and cause an augmented production of NO which may explain the reduced diameter of the arteries from LVH hearts. However, NO production was not measured in the microvascular circulation. Shear stress is also known to promote ET-1 release, which influences both GC sensitivity⁴², and may contribute to LVH development and vessel wall thickening.⁴³

Conclusion

Understanding the mechanisms for the endothelial dysfunction of subendocardial coronary arteries which may affect regulation of myocardial perfusion, coronary resistance, regulation of blood flow and myocardial recovery

during the perioperative period in patients with LVH requiring cardiac surgery is of paramount importance. The observation that SNP-induced maximal dilation is reduced in LVH, but normalized in presence of L-NNA, suggests that LVH is associated with an augmented NO production resulting in reduced smooth muscle sensitivity to NO. This deficiency appears efficiently compensated by EDHF in the presence of BK but not of an α_2 -adrenergic receptor agonist than only triggers NO release. These abnormalities of the coronary microcirculation may lead to alterations of blood flow regulation and favour the occurrence of myocardial ischemia. Treatment of the alterations of endothelial function in LVH is a valuable strategy to improve surgical results and overall outcomes of patients with LVH.

Acknowledgements

This work was supported by the Fonds de la recherche de l'Institut de Cardiologie de Montréal (FRICM), the Department of Surgery, Université de Montréal and the Heart and Stroke Foundation of Quebec. Dr Louis P. Perrault is a Research Scholar Junior 2 from the Fonds de la Recherche en Santé du Québec. Dr Éric Thorin is a Research Scholar from the Heart and Stroke Foundation of Canada. The authors thank Dr Philippe Véquaud for his precious help with the arteriograph technique.

References

1. Alyono R., Anderson R.W., Parrish D.G., Dai X.-Z. and Bache R.J. (1986). Alterations of myocardial blood flow associated with experimental canine left ventricular hypertrophy secondary to valvular aortic stenosis. *Circ. Res.*, 58, 47-57.
2. Schwartzkopff B., F.H., Dieckerhoff J., Betz P., Flasshove M., Schulte H.D., Mundhenke M., Motz W. and Strauer B.E. (1992). Morphometric investigation of human myocardium in arterial hypertension and valvular aortic stenosis. *Eur. Heart. J.*, 13, 17-23.
3. Rajappan K., Rimoldi O.E., Dutka D.P., Ariff B., Pennell D.J., Sheridan D.J. and Camici P.G. (2002). Mechanisms of coronary microcirculatory dysfunction in patients with aortic stenosis and angiographically normal coronary arteries. *Circulation*, 105, 470-476.
4. Vogt M. and Strauer B.E. (1995). Response of hypertensive left ventricular hypertrophy and coronary microvascular disease to calcium antagonists. *Am. J Cardiol.*, 76, 24D-30D.
5. Kingsbury M.P., Turner M.A., Flores N.A., Bovill E. and Sheridan D.J. (2000). Endogenous and exogenous coronary vasodilatations are attenuated in cardiac hypertrophy: a morphological defect? *J Mol Cell Cardiol*, 32, 527-538.
6. Ishihara K., Zile M.R., Tomita M., Tanaka R., Kanazawa S. and Carabello B.A. (1992). Left ventricular hypertrophy in a canine model of reversible pressure overload. *Cardiovasc. Res.*, 26, 580-585.

7. Hokken R.B., Steyerberg E.W., Verbann N. and al. (1997). Twenty-five years of aortic valve replacement using mechanical valves. *Eur. Heart J.*, 18, 1157-1165.
8. Treasure C.B., Klein J.L., Vita J.A., Manoukian S.V., Renwick G.H., Selwyn A.P. Ganz P. and Alexander R.W. (1993). Hypertension and left ventricular hypertrophy are associated with impaired endothelium-mediated relaxation in human coronary resistance vessels. *Circulation*, 87, 86-93.
9. Krams R., Kofflard M.M.M., Duncker D.J., Von Birgelen C., Carlier S., Kliffen M, Ten Cate F.J. and Serruys P.W. (1998). Decreased coronary flow reserve in hypertrophic cardiomyopathy is related to remodeling of the coronary microcirculation. *Circulation*, 97, 230-233.
10. Opherk D., Mall G., Zebe H., Schwarz F., Weihe E., Manthey J. and Kübler W. (1984). Reduction of coronary reserve, a mechanism for angina pectoris in patients with arterial hypertension and normal coronary arteries. *Circulation*, 69, 1-7.
11. Pichard A.D., Gorlin R., Smith H., Ambrose J. and Meller J. (1981). Coronary flow studies in patients with left ventricular hypertrophy of the hypertensive type. Evidence for an impaired coronary vascular reserve. *Am. J Cardiol.*, 47, 547-553.
12. Marcus M.L., Doty D.B., Hiratzka L.F., Wright C.B. and Eastham C. (1982). Decreased coronary reserve: a mechanism for angina pectoris in patients with aortic stenosis and normal coronary arteries. *New Eng. J. Med.*, 307, 1362-1366.

13. Pichard A.D., Smith H. and Holt J. (1983). Coronary vascular reserve in left ventricular hypertrophy secondary to chronic aortic regurgitation. *Am. J. Cardiol.*, 51, 315-320.
14. Shimamatsu M. and Toshima H. (1987). Impaired coronary vasodilatory capacity after dipyridamole administration in hypertrophic cardiomyopathy. *Jpn Heart J*, 51, 387-401.
15. Jeremy R.W., Fletcher P.J. and Thompson J. (1989). Coronary pressure-flow relations in hypertensive left ventricular hypertrophy. Comparison of intact autoregulation with physiological and pharmacological vasodilation in the dog. *Circ. Res.*, 65, 224-236.
16. O'Gorman D.J. and Sheridan D.J. (1991). Abnormalities of the coronary circulation associated with left ventricular hypertrophy. *Clin Sci*, 81, 703-713.
17. O'Gorman D.J., Thomas P., Turner M.A. and Sheridan D.J. (1992). Investigation of impaired coronary vasodilator reserve in the guinea-pig heart with pressure induced hypertrophy. *Eur Heart J*, 13, 697-703.
18. Hittinger L., Mirsky I., Shen Y.-T., Patrick T.A., Bishop S.P. and Vatner S.F. (1995). Hemodynamic mechanisms responsible for reduced subendocardial coronary reserve in dogs with severe left ventricular hypertrophy. *Circulation*, 92, 978-986.
19. Fujii M., Nuno D.W., Lamping K.G., Dellsperger K.C., Eastman C.L. and Harrison D.G. (1992). Effect of hypertension and hypertrophy on coronary microvascular pressure. *Circ res*, 71, 120-126.

20. Ghaleh B., Hittinger L., Kim S.-J., Kudej R.K., Iwase M., Uechi M., Berdeaux A., Bishop S.P. and Vatner S.F. (1998). Selective large coronary endothelial dysfunction in conscious dogs with chronic coronary pressure overload. *Am J Physiol*, 274, H539-H551.
21. Malo O., Carrier M., Fen Shi Y., Tardif J.-C., Tanguay J.-F. and Perrault L.P. Specific alterations of endothelial signal transduction pathways of porcine epicardial coronary arteries in left ventricular hypertrophy. *J Cardiovasc Pharm.* In press.
22. Kahan T. (1998) The importance of left ventricular hypertrophy in human hypertension. *J. Hypertens.*, 16 (suppl 7), S23-S29
23. Aeschnacher B.C., Hutter D., Fuhrer J. and *al.* (2001) Diastolic dysfunction precedes myocardial hypertrophy in the development of hypertension. *Am J Hypertens.* 14, 106-113
24. Ikonomidis I., Tsouka A, Pathernakis F. and *al.* (2001) Four years follow up of aortic valve replacement for isolated aortic stenosis: a link between reduction in pressure overload, regression of left ventricular hypertrophy, and diastolic function. *Heart*, 86, 309-316
25. Nguyen T.-D., Véquaud P. and Thorin E. (1999). Effects of endothelin receptor antagonists and nitric oxide on myogenic tone and alpha-adrenergic-dependent contractions of rabbit resistance arteries. *Cardiovasc. Res*, 43, 755-761.
26. Chandrasakar B. and Tanguay J.F. (2000). Local delivery of 17-beta-estradiol decreases neointimal hyperplasia after coronary angioplasty in a porcine model. *JACC*, 36, 1972-1978.

27. Sellke F.W., Myers P.R., Bates J.N. and Harrison D.G. (1990). Influence of vessel size on the sensitivity of porcine coronary microvessels to nitroglycerin. *Am J Physiol*, 258, H515-H520.
28. Bishop S.P., Powell P.C., Hasebe N., Shen Y.-T., Patrick T.A., Hittinger L. and Vatner S.F. (1996). Coronary vascular morphology in pressure-overload left ventricular hypertrophy. *J Mol Cell Cardiol*, 28, 141-154.
29. Maron B.J., Wolfson J.K., Epstein S.E. and Roberts W.C. (1986). Intramural ("small vessel") coronary artery disease in hypertrophic cardiomyopathy. *JACC*, 8, 545-557.
30. O'Keefe D.D., Hoffmann J.I.E., Cheitlin B., O'Neill M.J., Allard J.R. and Shapkin E. (1978). Coronary blood flow in experimental canine left ventricular hypertrophy. *Circ Res*, 43, 43-51.
31. Anderson P.G., Bishop S.P. and Digernes S.B. (1989). Vascular remodeling and improvement of coronary reserve after hydralazine treatment in spontaneously hypertensive rats. *Circ Res*, 64, 1127-1136.
32. Brilla C.G., Janicki J.S. and Weber K.T. (1991). Impaired diastolic function and coronary reserve in genetic hypertension: Role of interstitial fibrosis and medial thickening of intramyocardial coronary arteries. *Circ Res*, 69, 107-115.
33. Rakusan K. and Wicker P. (1990). Morphometry of the small arteries and arterioles in the rat heart: effects of chronic hypertension and exercise. *Cardiovasc Res*, 24, 278-284.

34. Tomanek R.J., Wangler R.D. and Bauer C.A. (1985). Prevention of coronary vasodilator reserve decrement in spontaneously hypertensive rat. *Hypertension*, 7, 533-540.
35. Yamori Y., Mori C., Nishio T., Ooshima A., Horie R., Ohtaka M., Sveda T., Saito M., Abe K., Nora Y., Nakao Y. and Kihard. (1979). Cardiac hypertrophy in early hypertension. *Am J Cardiol*, 44, 964-969.
36. Kuo L., Chilian W.M. and Davis M.J. (1990) Coronary arteriolar myogenic response is independent of endothelium. *Circulation*, 66, 860-866.
37. Thorin E. (2001) Different contribution of endothelial nitric oxide in the relaxation of human coronary arteries of ischemic and dilated cardiomyopathic hearts. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 37, 227-232
38. Nishikawa Y., Stepp D.W. and Chilian W.M. (2000). Nitric oxide exerts feedback inhibition on EDHF-induced coronary arteriolar dilation in vivo. *Am J Physiol*, 279, H459-H465.
39. Perrault L.P., Bidouard J.-P., Janiak P., Villeneuve N., Bruneval P., Vilaine J.-P. and Vanhoutte P. (1999). Impairment of G-protein-mediated signal transduction in the porcine coronary endothelium during rejection after heart transplantation. *Cardiovasc res*, 43, 457-470.
40. Yamashita T., Kawashima S., Ohashi Y., Ozaki M., Rikitake Y., Inoue N., Hirata K., Akita H. and Yokoyama M. (2000). Mechanisms of reduced nitric oxide/cGMP-mediated vasorelaxation in transgenic mice overexpressing endothelial nitric oxide synthase. *Hypertension*, 36, 97-102.

41. Thorin É., Meerkin D., Bertrand O.F., Paiement P., Joyal M. and Bonan R. (2000). Influence of postangioplasty β -irradiation on endothelial function in porcine coronary arteries. *Circulation*, 101, 1430-1435.
42. Gilbert P., Tremblay J. and Thorin E. (2001). Endothelium-derived endothelin-1 reduces cerebral artery sensitivity to nitric oxide by protein kinase C-independent pathway. *Stroke*, 32, 2351-2355.
43. Ito H., Hiroe M., Hirata Y., Fujisaki H., Adachi S., Akimoto H., Ohta Y. and Marumo F. (1994). Endothelin ET_A receptor antagonist blocks cardiac hypertrophy provoked by hemodynamic overload. *Circulation*, 89, 2198-2203.

Figure legends

Figure 1a and 1b. (a) Artery diameter as function of PP in control and LVH conditions, in the presence of Ca²⁺-free solution (passive diameter) or 127 mM KCl-PSS (minimal diameter). (b) Myogenic tone (MT) as a function of PP in control (n=8) and LVH (n=5) conditions. The data are mean \pm SEM. P = ns.

Figure 2. Contractile response to acetylcholine expressed as a function of passive diameter (% D_{MAX}) (see Methods). Results were obtained in the presence (control: n = 5 ; LVH: n = 5) or in the absence (control: n = 8 ; LVH: n = 5) of L-NNA. The data are mean \pm SEM. P = ns

Figure 3. Influence of LVH on subendocardial coronary artery reactivity to BK. Experiments were performed on control and LVH vessels with endothelium in the absence (control: n = 6 ; LVH: n = 7) or presence (control: n = 5 ; LVH: n = 5) of

L-NNA. All solutions contained indomethacin. Results are mean \pm SEM. * : P<.01 control vs control with L-NNA.

Figure 4. Influence of LVH on subendocardial coronary artery reactivity to UK14304. Experiments were performed on control and LVH vessels with endothelium in the absence (control: n = 6 ; LVH: n = 5) or presence (control: n = 5 ; LVH: n = 5) of L-NNA. All solutions contained indomethacin. Results are mean \pm SEM. * : P<.01 control vs control with L-NNA. †<.01 : control vs LVH.

Figure 5. Influence of LVH on subendocardial coronary artery reactivity to SNP. Experiments were performed on control and LVH vessels with endothelium in the absence (control: n = 5 ; LVH: n = 7) or presence (control: n = 5 ; LVH: n = 6) of L-NNA. All solutions contained indomethacin. Results are mean \pm SEM. * : P<.01 control with L-NNA vs LVH with L-NNA. †<.01 : control vs LVH. ** <.01: LVH vs LVH with L-NNA.

Tables**Table 1. Morphological data**

	n	Diameter (μm)	Wall/ Lumen Ratio	BW (kg)	HW (g)	LVW (g)	LVW/ BW (g/kg)	HW/BW (g/kg)
Control	6	188.1 \pm 8.5	1.5 \pm 0.1	36 \pm 2	167 \pm 11	120 \pm 7	3.4 \pm 0.2	4.7 \pm 0.2
8 wk banding	9	145.5 \pm 8.2*	2.3 \pm 0.3*	31 \pm 2	194 \pm 12*	141 \pm 1*	4.6 \pm 0.3*	6.2 \pm 0.9*

Data is presented as mean \pm SEM; BW: body weight, HW: heart weight, LVW: left ventricular weight. *P< .05 vs controls

Table 2. Hemodynamic data

	Basal	1 month	2 months
LV systolic pressure (mmHg)	110.2 ± 7.3	108.2 ± 7.8	107.3 ± 9.6
LV diastolic pressure (mmHg)	16.3 ± 3.6	7.9 ± 1.5	23.0 ± 2.9
LV end-diastolic pressure (mmHg)	16.7 ± 3.8	22.0 ± 2.9	32.7 ± 1.5
LAD systolic pressure (mmHg)	85.4 ± 11.9	92.7 ± 9.7	84.3 ± 9.8
LAD diastolic pressure (mmHg)	52.0 ± 11.6	50.8 ± 6.2	35.0 ± 5.0
LCx systolic pressure (mmHg)	76.0 ± 9.4	91.7 ± 9.6	89.7 ± 6.2
LCx diastolic pressure (mmHg)	48.6 ± 7.6	50.7 ± 4.4	41.7 ± 1.7
RC systolic pressure (mmHg)	91.4 ± 9.1	90.3 ± 11.8	91.3 ± 4.7
RC diastolic pressure (mmHg)	62.8 ± 9.2	50.0 ± 8.0	48.3 ± 10.9
LV + dP (mmHg/s)	1910.0 ± 303.9	1323.8 ± 374.1	1076.7 ± 90.6
LV - dT (mmHg/s)	1980.0 ± 255.7	1265.8 ± 208.3*	1186.7 ± 150.6*

Data are presented as mean ± SEM. *p < .05 versus basal. LV, left ventricle; LAD, left anterior descending; LCx, left circumflex; RC, right coronary.

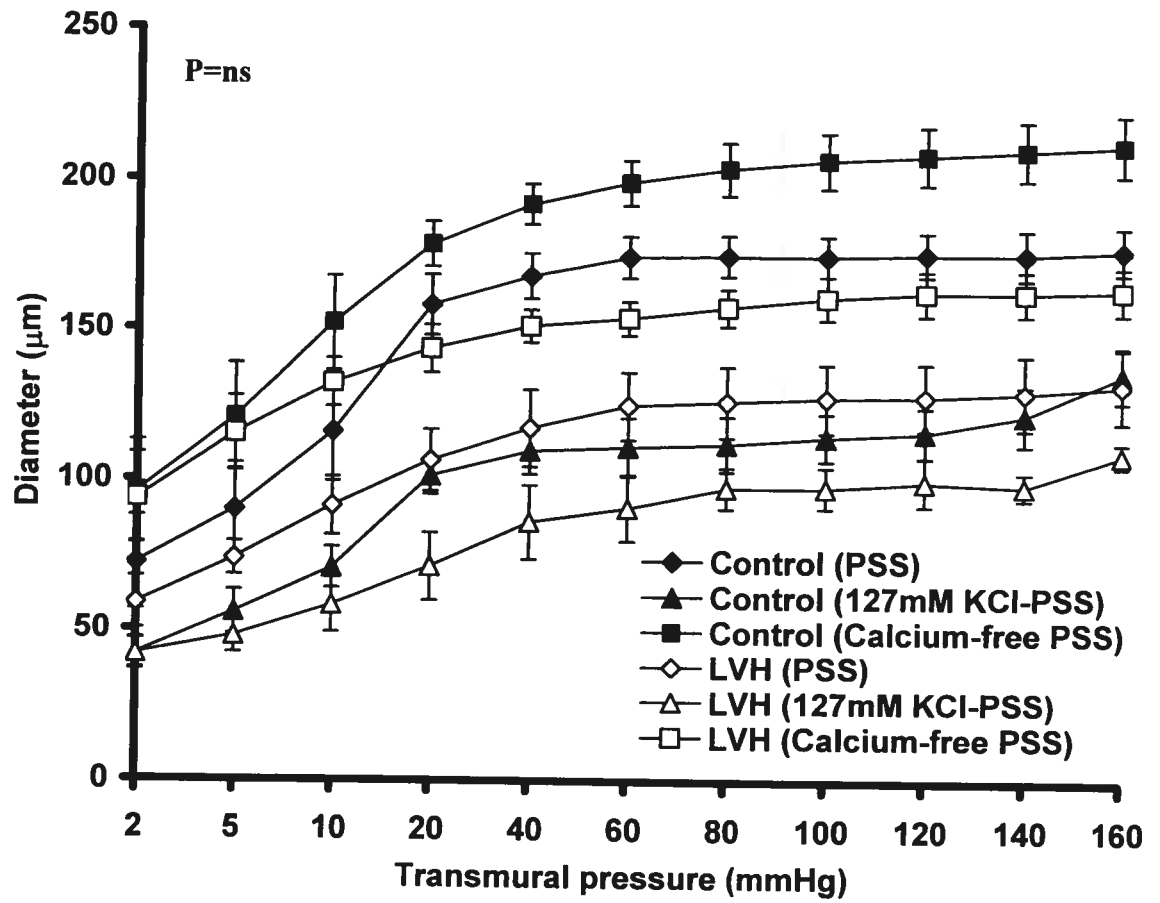
Figures**Figure 1a. Diameter as a function of PP**

Figure 1b. Myogenic tone as a function of PP

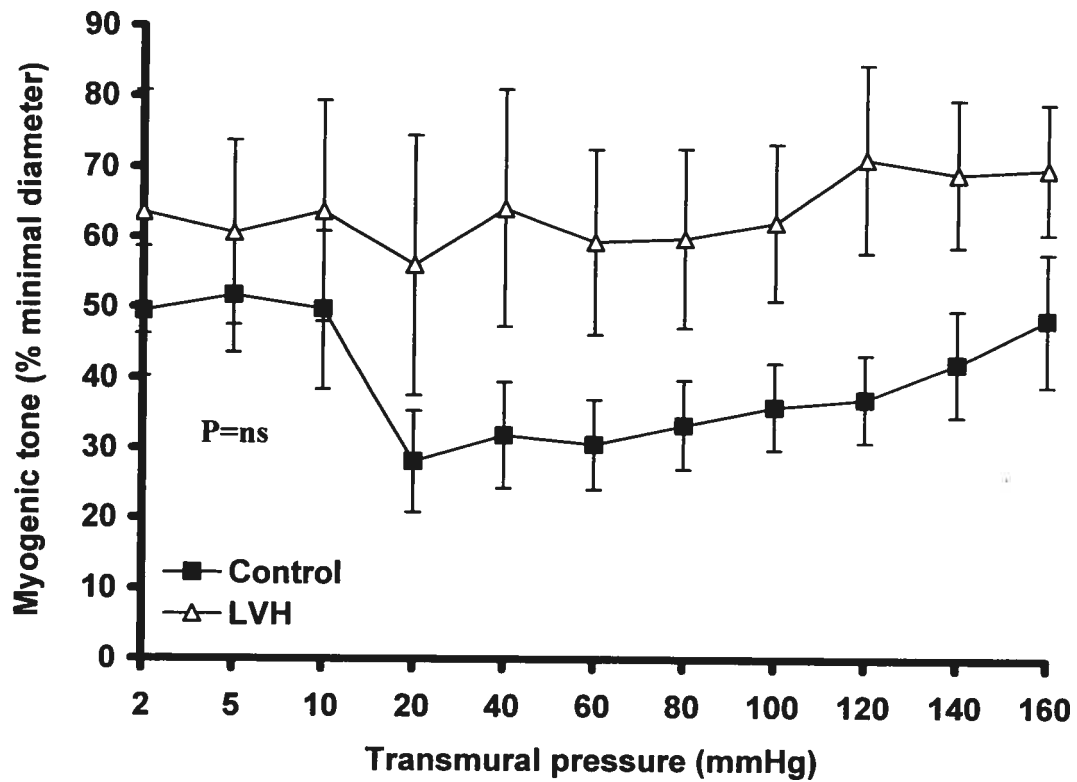


Figure 2.

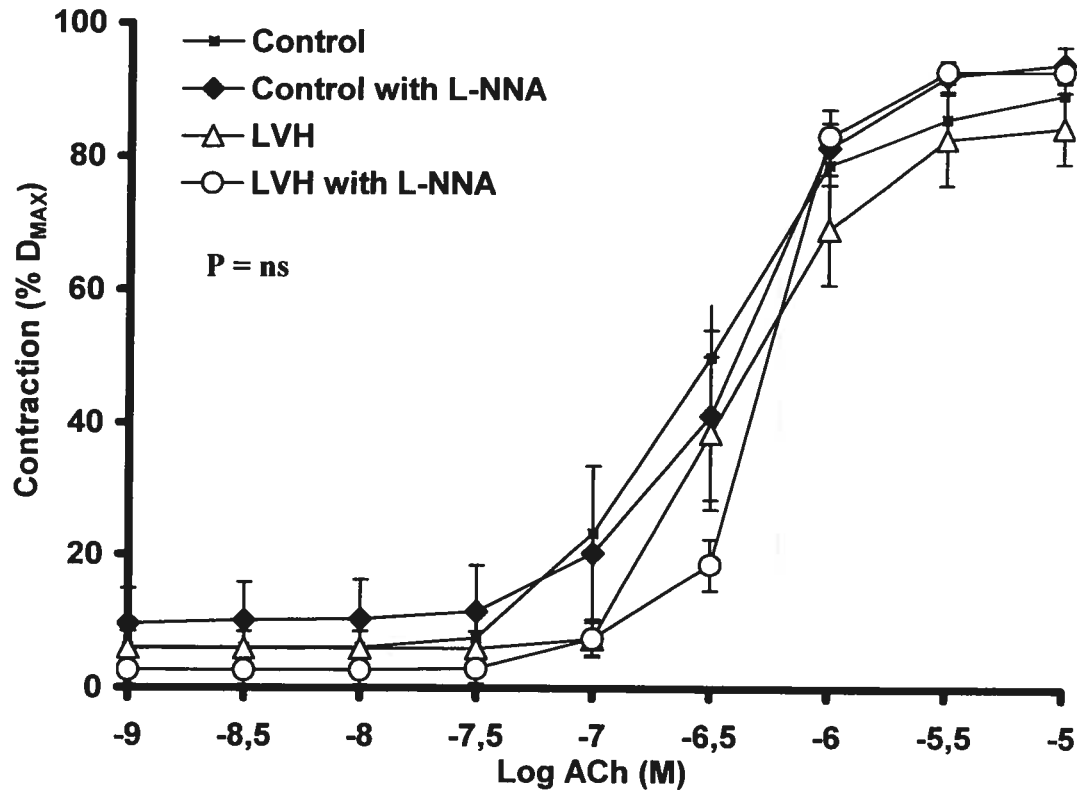


Figure 3.

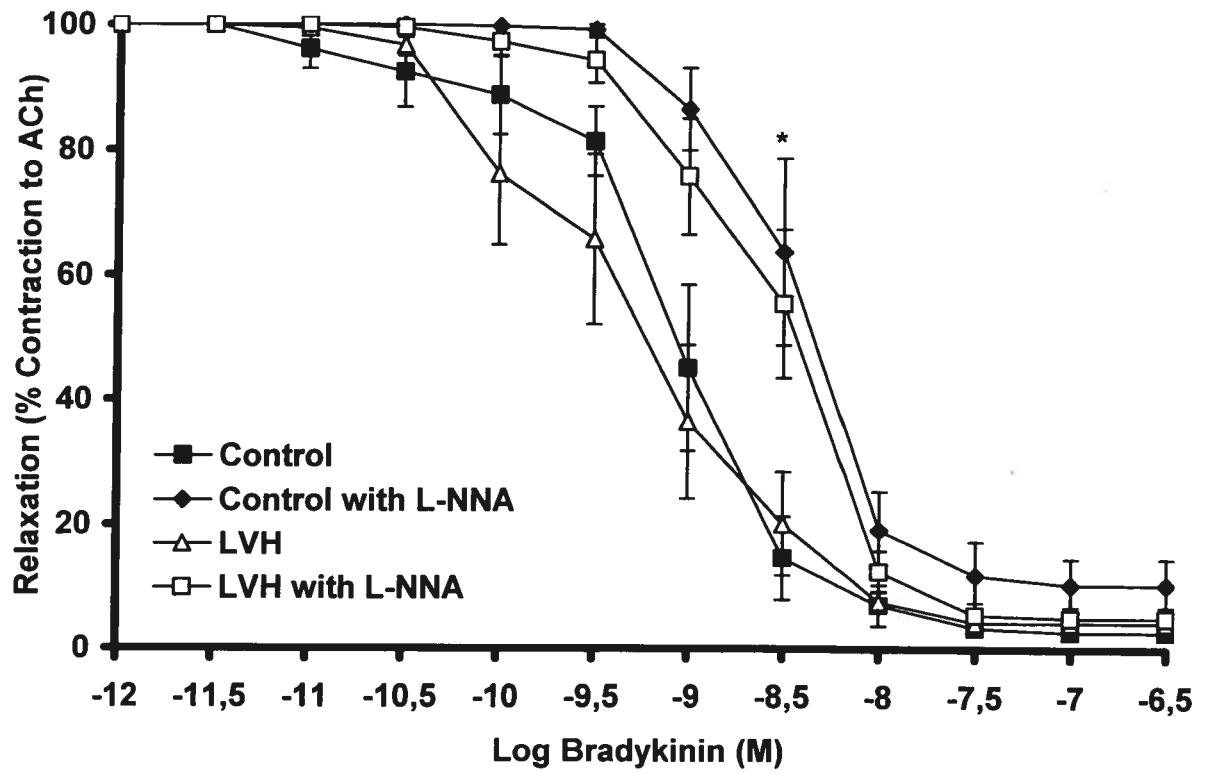


Figure 4.

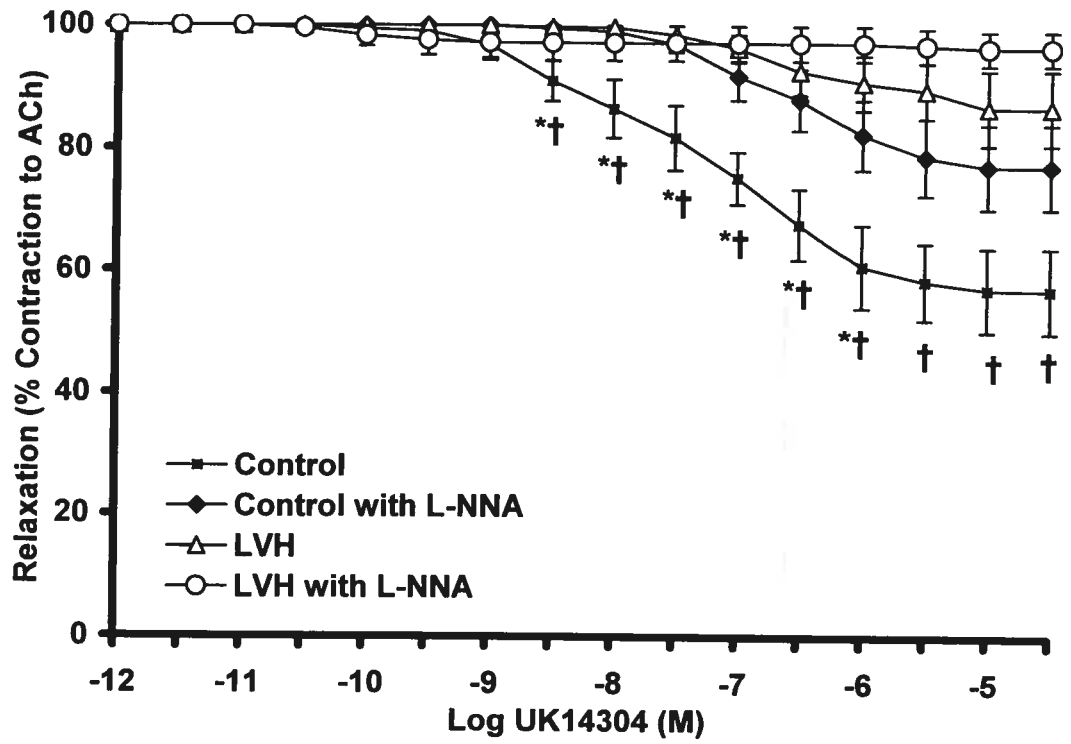
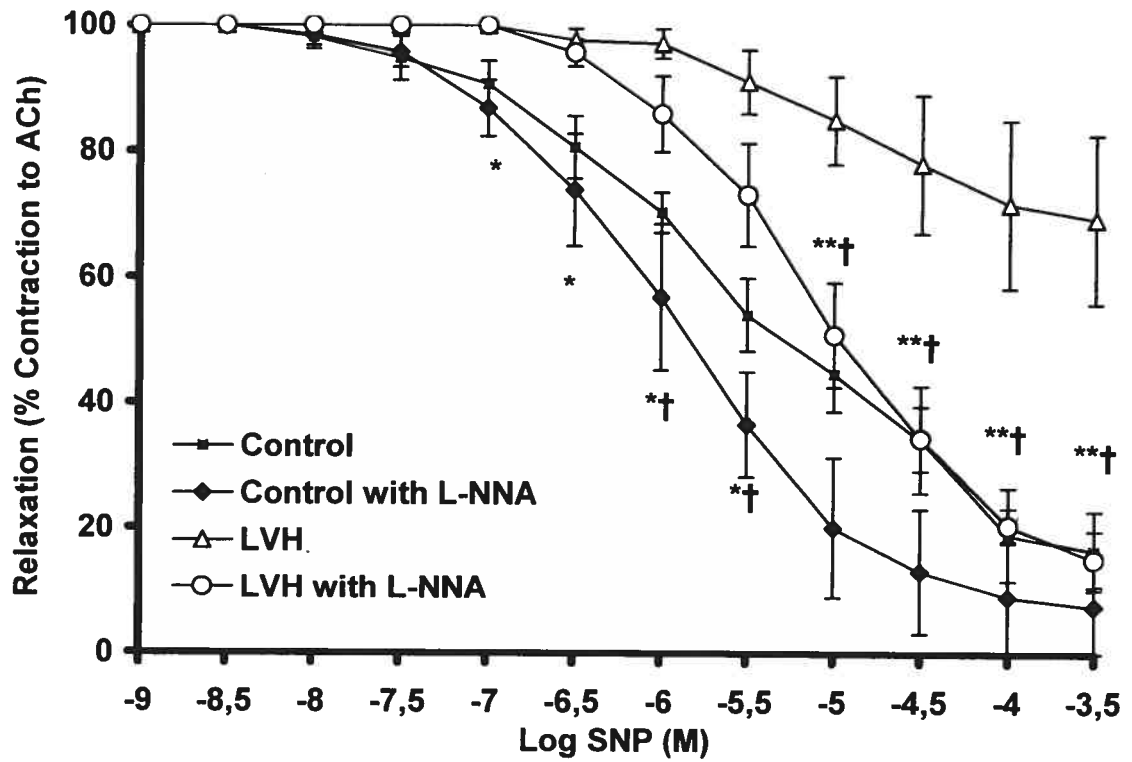


Figure 5.



DISCUSSION

Résumé des résultats et conclusions

Au cours de mon travail de maîtrise, j'ai testé l'hypothèse d'une altération de la fonction endothéliale des artérioles sous-endocardiques porcines dans un modèle d'HVG obtenu par cerclage aortique. Les principales découvertes de cette étude sont, qu'*in vitro*, l'HVG secondaire à un cerclage aortique est associée à une réduction de la sensibilité du muscle lisse vasculaire au monoxyde d'azote (NO), tel qu'attesté par l'effet vasculaire abolit du SNP à induire une relaxation indépendante de l'endothélium. La dilatation dépendante de l'endothélium induite par la BK n'est, quant à elle, pas affectée. Cela est probablement lié à une libération accrue ou une augmentation compensatoire de l'EDHF. Par contre, la dilatation dépendante de l'endothélium par le UK14304, principalement dépendante du NO, est abolie dans l'HVG suggérant que l'activation des récepteurs α_2 -adrénergiques n'est pas capable de mobiliser l'effet compensatoire de l'EDHF comme c'est le cas pour les récepteurs de la BK.

Critique des résultats

Je propose, dans cette étude, qu'au niveau microvasculaire et dans des conditions *in vivo*, l'HVG pourrait être associée à une augmentation des forces de cisaillement produite par le cerclage aortique et causer une augmentation de la production de NO. Cette possibilité est renforcée par la réduction du diamètre des artérioles prélevées chez les HVG. Ainsi, à débit égal, les forces de cisaillement seront augmentées de manière très importante. Cependant, la production de NO au niveau microvasculaire n'a pas été mesurée. La production de NO microvasculaire pourrait être mesurée directement au niveau de la cuve de l'artériographe. Cette approche est techniquement difficile. Il serait donc important de mesurer la concentration du NO au niveau du sang prélevé dans le sinus coronaire, ce qui est représentatif de l'efflux coronaire et donc de la microcirculation. Il est très important d'établir ce paramètre puisque dans une étude précédente effectuée dans

le même modèle porcin d'HVG induite par cerclage aortique, les taux de NO prélevés dans le sang au niveau de l'aorte étaient diminués.

De plus, il serait important d'étudier la fonction endothéliale de microvaisseaux sous-endocardiques en condition de flot. Des expérimentations en condition de flot permettraient de déterminer de quelle manière les forces de cisaillement (*shear stress*) influencent les relaxations dépendantes de l'endothélium en présence d'HVG. Il est connu que les forces de cisaillement engendrent la production de NO et une surproduction de NO dans l'HVG pourrait expliquer la pseudo tolérance aux nitrates retrouvée dans cette étude et permettrait de faire un parallèle entre la présence de flot ou non.

Je propose aussi que l'augmentation de la production de NO dans l'HVG mène à une désensibilisation de la GC soluble, phénomène communément appelé "tolérance aux nitrates". Cependant, je ne peux confirmer, hors de tout doute, cette affirmation. Des expériences supplémentaires seraient à effectuer. En effet, il serait indispensable de déterminer les taux de GMPc microvasculaires puisqu'il représente le produit direct de l'activation de la sGC. Il faudrait également vérifier si les taux de eNOS microvasculaires sont augmentés, puisqu'une surexpression de cette dernière mène à une résistance aux vasodilatations induites par le NO qui est liée à une désensibilisation de la sGC (Yamashita T. et coll., 2000).

Il semble que le stress oxydatif ait un rôle dans la tolérance aux nitrates. En effet, des études cliniques ont confirmé qu'un traitement antioxydant renversait cette tolérance (Bassenge E. et coll., 1998; Watanabe H. et coll., 1998; Watanabe H. et coll. 1997). Il serait donc intéressant d'effectuer un traitement antioxydant afin de déterminer si le stress oxydatif est responsable de la tolérance présente dans ce modèle.

Enfin, il serait aussi intéressant d'utiliser d'autres types de donneurs de NO, comme la nitroglycérine ou l'isosorbide dinitrate. En effet, ces derniers requièrent une réduction enzymatique de trois électrons pour produire le NO en comparaison au SNP qui requiert une réduction non-enzymatique. Les nitrovasodilatateurs avec un état d'oxydation élevé (*i.e.* ces molécules requièrent plus de réduction d'électrons pour produire le NO) peuvent être plus susceptibles à la "tolérance aux nitrates" (Murohara T. et coll., 1996).

La vasodilatation dépendante de l'endothélium à la BK n'est pas affectée par l'HVG. Ce résultat semble contredire notre hypothèse. La BK utilise majoritairement l'EDHF comme voie de relaxation et cet agent pourrait donc être insensible à un dysfonctionnement du système nitrergique, comme semble l'indiquer nos données. L'activation des récepteurs α_2 -adrénergiques, qui sont couplés à la production de NO, est abolie dans l'HVG, ce qui renforce notre hypothèse. Afin de valider définitivement notre hypothèse, il aurait fallu inhiber l'action de l'EDHF grâce à une solution KCl-PSS et induire des relaxations à la BK. Dans l'HVG, les relaxations devraient être abolies.

Conclusion

Ainsi, mes conclusions demeurent spéculatives et afin de démontrer hors de tout doute la présence d'une "tolérance aux nitrates" au niveau des artérioles sous-endocardiques dans ce modèle porcin d'HVG obtenue par cerclage aortique, des expériences additionnelles sont requises.

SOURCES DOCUMENTAIRES

A

Alyono R., Anderson R.W., Parrish D.G., Dai X.-Z. et Bache R.J. (1986). Alterations of myocardial blood flow associated with experimental canine left ventricular hypertrophy secondary to valvular aortic stenosis. *Circ Res*, **58**, 47-57.

Anderson P.G., Bishop S.P. et Digernes S.B. (1989). Vascular remodeling and improvement of coronary reserve after hydralazine treatment in spontaneously hypertensive rats. *Circ Res*, **64**, 1127-1136.

Anggard E., Galton S., Rae G. et coll. (1989) The fate of radioiodinated endothelin-1 and endothelin-3 in the rat. *J Cardiovasc Pharmacol*, **13** (Suppl 5), S46-S49.

Arts T. et Reneman R.S. (1985). Interaction between intramyocardial pressure (IMP) and myocardial circulation. *J biomech eng*, **107**, 51-56.

Auch-Schwelk W., Katusic Z.S. et Vanhoutte P.M. (1992). Nitric oxide inactivates endothelium-derived contracting factor in the rat aorta. *Hypertension*, **19**, 442-445.

B

Bache R.J. et Cobb F.R. (1977). Effect of maximal coronary vasodilation on transmural myocardial perfusion during tachycardia. *Circ Res*, **41**, 648-653.

Bache R.J. (1988). Effects of hypertrophy on the coronary circulation. *Prog Cardiovasc Dis*, **30**, 403-440.

Bassenge E., Fink N., Skatchkov M. Et Fink B. (1998) Dietary supplement with vitamin C prevents nitrate tolerance. *J. Clin. Invest.* **102**, 67-71

Berne R.M. (1963). Cardiac nucleotides in hypoxia: possible role in regulation of coronary blood flow. *Am J Physiol.*, **204**, 317-322.

Best P.J.M. et Lerman A. (2000) Endothelin in cardiovascular disease: From atherosclerosis to heart failure. *J Cardiovasc Pharmacol*, **35** (Suppl 2), S61-S63.

Bevan J.A., Joyce E.H. et Wellman G.C. (1988). Flow-dependent dilation in a resistance artery still occurs after endothelium removal. *Circ Res*, **63**, 980-985.

Bishop S.P., Powell P.C., Hasebe N., Shen Y.-T., Patrick T.A., Hittinger L. et Vatner S.F. (1996). Coronary vascular morphology in pressure-overload left ventricular hypertrophy. *J Mol Cell Cardiol*, **28**, 141-154.

Bossaller C., Habib G.B., Yamamoto H., Williams C. et Wells S. (1987). Impaired muscarinic endothelium-dependent relaxation and GMPc formation in atherosclerotic human coronary artery and rabbit aorta. *J. Clin. Invest.*, **79**, 170.

Bossaller C., Forstermann U., Hertel R. et al. (1989). Cyclosporin A inhibits endothelium-dependent vasodilation and vascular prostacyclin production. *Eur J Pharmacol*, **165**, 165-169.

Braunwald E. (1992). *Heart disease: A Textbook of cardiovascular medicine*: W.B. Saunders company.

Brilla C.G., Janicki J.S. et Weber K.T. (1991). Impaired diastolic function and coronary reserve in genetic hypertension: Role of interstitial fibrosis and medial thickening of intramyocardial coronary arteries. *Circ Res*, **69**, 107-115.

Buikema H., Van Gilst W.H., Van Veldhuisen D.J., de Semet B.J., Scholtens E., Lie K.I. et Wesseling H. (1993). Endothelium-dependent relaxation in two different models of chronic heart failure and the effect of ibopamine. *Cardiovasc Res*, **27**, 2118-2124.

C

Calver A., Collier J., Moncada S. et Vallance P. (1992). Effect of local intraarterial N^G-monomethyl-L-arginine in patients with hypertension: the nitric oxide dilator mechanism appears abnormal. *J Hypertens*, **10**, 1025-1031.

Cannon R.O., R.D., Maron BJ, Leon MB, Bonow RO, Watson RM et Epstein SE. (1985). Myocardial ischemia in patients with hypertrophic cardiomyopathy: contribution of inadequate vasodilator reserve and elevated left ventricular filling pressures. *Circulation*, **71**, 234-243.

Carabello B., Nakano K., Ishihara S., Kanazawa R., Biederman W. et Spaan J. (1991). Coronary blood flow in dogs with contractile dysfunction due to experimental volume overload. *Circulation*, **83**, 1063-1075.

Chen Y., Torry R.J., Baumbach G.L. et Tomanek R.J. (1994). Proportional arteriolar growth accompanies cardiac hypertrophy induced by volume overload. *Am J Physiol*, **267**, H2132-H2137.

Chilian W.M. et Marcus M.L. (1987). Coronary vascular adaptations to myocardial hypertrophy. *Ann Rev Physiol*, **49**, 477-487.

Chilian W.M. (1991). Microvascular pressures and resistances in the left ventricular subepicardium and subendocardium. *Circ Res*, **69**, 561-570.

Choudbury L., Rosen S.D., Patel D., Nihoyannopoulos P. et Camici P.G. (1997). Coronary vasodilator reserve in primary and secondary left ventricular hypertrophy. *Eur Heart J*, **18**, 108-116.

Clarke J.G., Benjamin N., Larkin S.W., Webb D.J., Davies G.J., Maseri A. (1989). Endothelin is a potent long-lasting vasoconstrictor in men. *Am J Physiol*, **257**, H2033-H2035.

Consentino F. et Luscher T.F. (1999). Tetrahydrobiopterin and endothelial nitric oxide synthase activity. *Cardiovasc Res*, **43**, 274-278.

D

D'Angelo G. et Meininger G.A. (1994). Transduction mechanisms involved in the regulation of myogenic activity. *Hypertension*, **23**, 1096-1105.

Davies P.F. (1995). Flow-mediated endothelial mechanotransduction. *Physiol Rev*, **75**, 519-560.

Davis M.J., Donovitz J.A. et Hood J.D. (1992). Stretch-activated single-channel and whole-cell currents in vascular smooth muscles. *Am J Physiol*, **262**, C1083-C1088.

Davis S.F., Yeung A.C., Meredith I.T., Charbonneau F., Ganz P., Selwyn A.P. et Anderson T.J. (1996). Early endothelial dysfunction predicts the development of transplant coronary artery disease a 1 year posttransplant. *Circulation*, **93**, 457-462.

De Fily D.V. et Chilian W.M. (1995). Coronary microcirculation: autoregulation and metabolic control. *Basic res cardiol*, **90**, 112-118.

De Fily D.V. (1998). Control of microvascular resistance in physiological conditions and reperfusion. *J Mol Cell Cardiol*, **30**, 2547-2554.

De Mey J.G. et Vanhoutte P.M. (1983). Anoxia and endothelium-dependent reactivity of the canine femoral artery. *J Physiol*, **335**, 65-74.

De Wit C., Bolz S.-S. et Pohl U. (2000). Interaction of endothelial autacoids in microvascular control. *Z Kardiol*, **89**, 113-116.

Domenech R.G. et MacLellan P.R. (1980). Transmural ventricular distribution of coronary blood flow during coronary beta₂-adrenergic receptor activation in dogs. *Circ Res*, **46**, 29-36.

Donohue T.J., Drury J.H., Wolford T.L., Bach R.G. et Kern M.J. (1995). Intimal thickening does not affect coronary blood flow responses to endothelium-dependent or independent agents. *Circulation*, **92**, I-224.

Doty D., Wright C., Hiratzka L., Eastman C. et Marcus M. (1984). Coronary reserve volume-induced right ventricular hypertrophy from atrial septal defect. *Am J Cardiol*, **54**, 1059-1063.

Drexler H., Zeiher A.M., Meinzer K. et Just H. (1991). Correction of endothelial dysfunction in coronary microcirculation of hypercholesterolaemic patients by L-arginine. *The Lancet*, **338**, 1546-1550.

Drexler H. (1994). Endothelial dysfunction in heart failure and potential for reversal by ACE inhibition. *Br Heart J*, **72**, S11-S14.

Duncker D.J., Zhang J., Pavsek T.J., Crampton M.J. et Bache R.J. (1995). Effect of exercise on coronary pressure-flow relationship in hypertrophied left ventricle. *Am J of Physiol*, **38**, H271-H281.

Dupuis J. (2000). Endothelin receptor antagonists and their developing role in cardiovascular therapeutics. *Can J Cardiol*, **16**, (7), 903-910.

F

Flavahan N.A. et Vanhoutte P.M. (1990). G-proteins and endothelial responses. *Blood vessels*, **27**, 218-229.

Fleming I., Michaelis U.R., Bredenkotter D., Fisslthaler B., Dehghani F., Brandes R.P. et Busse R. (2001). Endothelium-derived hyperpolarizing factor synthase (cytochrome P450 2C9) is a functional source of reactive oxygen species in coronary arteries. *Circ Res*, **88**, 44-51.

Förstermann U., Mügge A., Alheid U., Haverich A. et Frölich J.C. (1988). Selective attenuation of endothelium-mediated vasodilation in atherosclerotic human coronary arteries. *Circ Res*, **62**, 185.

Fujii A.M., Gelpi R.J., Mirsky I. et Vatner S.F. (1988). Systolic and diastolic dysfunction during atrial pacing in conscious dogs with left ventricular hypertrophy. *Circ Res*, **62**, 462-470.

Fujii M., Nuno D.W., Lamping K.G., Dellsperger K.C., Eastman C.L. et Harrison D.G. (1992). Effect of hypertension and hypertrophy on coronary microvascular pressure. *Circ res*, **71**, 120-126.

Fullerton D.A., Mitchell M.B., McIntyre R.C., Brown J.M., Meng X., Campbell D.N. et Grover F.L. (1994). Mechanisms of coronary vasomotor dysfunction in the transplant heart. *Ann Thorac Surg*, **58**, 86-92.

Furchgott R.F. et Zawadski J.V. (1980). The obligatory role of the endothelial cells in relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*, **288**, 373-376.

G

Galumbeck M.A. et Ratz P.H. (1995). Functional integrity of vascular allografts after endothelial removal. *J Vasc Res*, **32**, 120-128.

Garot P., Teiger E., Dupouy P., Aptecar E., Hittinger L. et Dubois-Randé J.-L. (1999). Microcirculation coronaire: Aspects physiologiques et pathologiques. *Arch mal coeur vaiss*, Juin, **92**, 741-755.

Gascho J., Mueller T., Eastham C. et Marcus M. (1982). Effect of volume-overload hypertrophy on the coronary circulation in awake dogs. *Cardiovasc Res*, **16**, 288-292.

Gaudin P.B., Rayburn B.K., Hutchins G.M. et al. (1994). Peritransplant injury to the myocardium associated with the development of accelerated arteriosclerosis in heart transplant recipients. *Am J Surg Pathol*, **18**, 338-346.

Gavin J.B., Maxwell L. et Edgar S.G. (1998). Microvascular involvement in cardiac pathology. *J Mol Cell Cardiol*, **30**, 2531-2540.

Gerova M., Gero J., Barta E., Dolezel S., Smiesko V. et Levicky V. (1981). Neurogenic and myogenic control of conduit coronary arteries: a possible interference. *Basic Res. Cardiol*, **76**, 503-507.

Ghaleh B., Hittinger L., Kim S.-J., Kudej R.K., Iwase M., Uechi M., Berdeaux A., Bishop S.P. et Vatner S.F. (1998). Selective large coronary endothelial dysfunction in conscious dogs with chronic coronary pressure overload. *Am J Physiol*, **274**, H539-H551.

Gilbert P., Tremblay J. et Thorin É. (2001) Endothelium-derived endothelin-1 reduces cerebral artery sensitivity to nitric oxide by a protein kinase C-independent pathway. *Stroke*, **32**, 2351-2355

Gohra H., McDonald T.O., Verrier E.D. et Aziz S. (1995). Endothelial loss and regeneration in a model of transplant arteriosclerosis. *Transplantation*, **60**, 96-102.

Golino P., Piscione F., Willerson J.T., Capelli-Bigazzi M. et Focaccio A. (1991). Divergent effects of serotonin on coronary artery dimensions and blood flow in patients with coronary atherosclerosis and control patients. *New Eng J Med*, **324**, 641.

Grieve D.J., MacCarthy P.A., Gall N.P., Cave A.C. et Shah A.M. (2001). Divergent biological actions of coronary endothelial nitric oxide during progression of cardiac hypertrophy. *Hypertension*, **38**, 267-273.

H

Harrison D.G., Florentine M.S., Brooks L.A., Cooper S.M. et Marcus M.L. (1988). The effect of hypertension and left ventricular hypertrophy on the lower range of coronary autoregulation. *Circulation*, **77**, 1108-1115.

Hein T.W. et Kuo L. (1998). LDLs impair vasomotor function of the coronary microcirculation: Role of superoxide anions. *Circ Res*, **83**, 404-414.

Hein T.W., Liao J.C. et Kuo L. (2000). oxLDL specifically impairs endothelium-dependent, NO-mediated dilation of coronary arterioles. *Am J Physiol*, **278**, H175-H183.

Herrmann S.C. et Feigl E.O. (1992). Adrenergic blockade blunts adenosine concentration and coronary vasodilation during hypoxia. *Circ Res*, **70**, 1203-1216.

Hirooka Y., Imaizumi T., Tagawa T., Shiramoto M., Endo T., Ando S. et Takeshita A. (1994). Effects of L-arginine in impaired acetylcholine-induced and ischemic vasodilation of the forearm in patients with congestive heart failure. *Circulation*, **90**, 658-668.

Hittinger L., Mirsky I., Shen Y.-T., Patrick T.A., Bishop S.P. et Vatner S.F. (1995). Hemodynamic mechanisms responsible for reduced subendocardial coronary reserve in dogs with severe left ventricular hypertrophy. *Circulation*, **92**, 978-986.

Hoffman J.I.E. (1990). Transmural myocardial perfusion. In *Coronary circulation: Basic mechanism and clinical relevance*. Éd. In Kajiyama F., K.G.A., Spaan J.A.E. et Hoffman J.I.E. pp. 141-152. New York: Springer-Verlag, Inc.

Hokken R.B., Steyerberg E.W., Verbann N. al. (1997). Twenty-five years of aortic valve replacement using mechanical valves. *Eur. Heart J.*, **18**, 1157-1165.

Holtz J., Restorff W.V., Bard P. et Bassenge E. (1977). Transmural distribution of myocardial blood flow and of coronary reserve in canine left ventricular hypertrophy. *Basic Res Cardiol*, **72**, 286-292.

Houghton J.L., Frank M.J., Carr A.A., von Dohlen T.W. et Presant L.M. (1990). Relations among impaired coronary flow reserve, left ventricular hypertrophy and thallium perfusion defects in hypertensive patients without obstructive coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol*, **15**, 43-51.

Houghton J.L., Davison C.A., Kuhner P.A., Torossov M.T., Strogatz D.S. et Carr A.A. (1998). Heterogeneous vasomotor responses of coronary conduit and resistance vessels in hypertension. *JACC*, **31**, 374-382.

Hoyer D., Clarke D.E., Fozard J.R., Hartig P.R., Martin G.R., Mylecharane E.J., Saxena P.R. et Humphrey P.P.A. (1994). International union of pharmacology nomenclature and classification of purinoceptors. *Pharmacol. Rev.*, **46**, 143-156.

Hruban R.H., Kasper E.K., Gaudin P.B., Baughman K.L., Baumgartner W.A., Reitz B. et Huthins G.M. (1992). Severe endotheliitis associated with coronary artery spasm in heart transplant recipient. *J Heart Lung Transplant*, **11**, 42-47.

I

Ishihara K., Zile M.R., Tomita M., Tanaka R., Kanazawa S. et Carabello B.A. (1992 A). Left ventricular hypertrophy in a canine model of reversible pressure overload. *Cardiovasc Res*, **26**, 580-585.

Ishihara K., Zile M.R., Nagatsu M., Nakano K., Tomita M., Kanazawa S., Clamp L., DeFreyte G. et Carabello B.A. (1992 B). Coronary blood flow after the regression of pressure-overload left ventricular hypertrophy. *Circ Res*, **71**, 1472-1481.

Ito H., Hiroe M., Hirata Y., Fujisaki H., Adachi S., Akimoto H., Ohta Y. et Marumo F. (1994). Endothelin ET_A receptor antagonist blocks cardiac hypertrophy provoked by hemodynamic overload. *Circulation*, **89**, 2198-2203.

Izzard A.S. et Heagerty A.M. (1995). Hypertension and the vasculature: arterioles and the myogenic response. *J of hypert*, **13**, 1-4.

J

Jeremy R.W., Fletcher P.J. et Thompson J. (1989). Coronary pressure-flow relations in hypertensive left ventricular hypertrophy. Comparison of intact autoregulation with physiological and pharmacological vasodilation in the dog. *Circ res*, **65**, 224-236.

Joannides R., Richard V., Haefeli W.E., Linder L., Lüscher T.F. et Thuillez C. (1995). Role of basal and stimulated release of nitric oxide in the regulation of radial artery caliber in humans. *Hypertension*, **26**, 327-331.

Justice J.M., Tanner M.A. et Myers P.R. (2000). Endothelial cell regulation of nitric oxide production during hypoxia in coronary microvesels ans epicardial arteries. *J Cell Physiol*, **182**, 359-365.

K

Kaiser L., Spickard R.C. et Olivier N.B. (1989). Heart failure depresses endothelium-dependent responses in canine femoral artery. *Am J physiol*, **256**, H962-H967.

Katzung B.G. (1998). Basic and clinical pharmacology: McGraw-Hill.

Kichuk M.R., Seyedi N., Zhang X., Marboe C.C., Michler R.E., Addonizio L.J., Kaley G., Nasjletti A. et Hintze T.H. (1996). Regulation of nitric oxide production in human coronary microvessels and the contribution of local kinin formation. *Circulation*, **94**, 44-51.

Kingsbury M.P., Turner M.A., Flores N.A., Bovill E. et Sheridan D.J. (2000). Endogenous and exogenous coronary vasodilatation are attenuated in cardiac hypertrophy: a morphological defect? *J Mol Cell Cardiol*, **32**, 527-538.

Kojda G. et Harrison D. (1999). Interactions between NO and reactive oxygen species: pathophysiological importance in atherosclerosis, hypertension, diabetes and heart failure. *Cardiovasc res*, **43**, 562-571.

Komaru T., Kanatsuka H. et Shirato K. (2000). Coronary microcirculation: Physiology and pharmacology. *Pharm Ther*, **86**, 217-261.

Konishi M. et Su C. (1983). Role of endothelium in dilator responses of spontaneously hypertensive rat arteries. *Hypertension*, **5**, 1135-1143.

Koyanagi S., Eastham C.L., Harrison D.G. et Marcus M.L. (1982). Transmural variation in the relationship between myocardial infarct size and risk area. *Am J Physiol*, **242**, H867-H874.

Kozakova M., Galetta F., Gregorini L., Bigalli G., Franzoni F., Giusti C. et Palombo C. (2000). Coronary vasomotor capacity and epicardial vessel remodeling in physiological and hypertensive hypertrophy. *Hypertension*, **36**, 343-349.

Krams R., Kofflard M.M.M., Duncker D.J., Von Birgelen C., Carlier S., Kliffen M, Ten Cate F.J. et Serruys P.W. (1998). Decreased coronary flow reserve in

hypertrophic cardiomyopathy is related to remodeling of the coronary microcirculation. *Circulation*, **97**, 230-233.

Kuo L., Davis M.J. et Chilian W.M. (1988). Myogenic activity in isolated subepicardial and subendocardial coronary arterioles. *Am J Physiol*, **255**, H1558-H1562.

Kuo L., Davis M.J. et Chilian W.M. (1990 A). Endothelium-dependent, flow-induced dilation of isolated coronary arterioles. *Am J Physiol*, **259**, H1063-H1070.

Kuo L., Chilian W.M. et Davis M.J. (1990 B). Coronary arteriolar myogenic response is independent of endothelium. *Circulation*, **66**, 860-866.

Kuo L., Chilian W.M. et Davis M.J. (1991). Interaction of pressure- and flow-induced responses in porcine coronary resistance vessels. *Am J Physiol*, **261**, H1706-H1715.

Kuo L., Davis M.J., Cannon S. et Chilian W.M. (1992). Pathophysiological consequences of atherosclerosis extend into the coronary microcirculation: Restoration of endothelium-dependent responses by L-arginine. *Circ Res*, **70**, 465-476.

Kurihara Y., Kurihara H., Suzuki H. et coll. (1994). Elevated blood pressure and craniofacial abnormalities in mice deficient in endothelin-1. *Nature*, **368**, 703-710.

L

Laursen J.B., Boesgaard S., Poulsen H.E. et Aldershvile. (1996). Nitrate tolerance impairs nitric oxide-mediated vasodilation in vivo. *Cardiovasc Res*. **31**, 814-819.

Laursen J.B., Somers M., Kurz S., McCann L., Warnholtz A., Freeman B.A., Tarpey M., Fukai T. et Harrison D.G. (2001). Endothelial regulation of vasomotion in ApoE-deficient mice: Implications for interactions between peroxynitrite and tetrahydrobiopterin. *Circulation*, **103**, 1282-1288.

Li H. et Förstermann U. (2000). Nitric oxide in the pathogenesis of vascular disease. *J of Pathol*, **190**, 244-254.

Li P., Chappell M.C., Ferrario C.M. et Brosnihan K.B. (1997). Angiotensin-(1-7) augments bradykinin-induced vasodilatation by competing with ACE and releasing nitric oxide. *Hypertension*, **29**, 394-400.

Ludmer O.L., Selwyn A.P., Shook T.L., Wayne R.R. et Mudge G.H. (1986). Paradoxical vasoconstriction induced by acetylcholine in atherosclerotic human coronary arteries. *New Eng J Med*, **315**, 1046.

Lüscher T.F., Raij L. et Vanhoutte P.M. (1987). Endothelium-dependent vascular responses in normotensive and hypertensive Dahl-rats. *Hypertension*, **9**, 157-163.

Lüscher T.F. (1990 A). The endothelium: Target and promoter of hypertension. *Hypertension*, **15**, 482-485.

Lüscher T.F. et Vanhoutte P.M. (1990 B). The endothelium modulator of cardiovascular function. Boca Raton: CRC Press.

Lüscher T.F. et Noll G. (1994). Endothelium dysfunction in the coronary circulation. *J Cardiovasc Pharm*, **24**, S16-S26.

Lüscher T.F. (2000). Endothelial dysfunction: The role and impact of the renin-angiotensin system. *Heart*, **84**, i20-i22.

Lyons D., Webster J. et Benjamin N. (1994). The effect of antihypertensive therapy on responsiveness to local intra-arterial N^G-monomethyl-L-arginine in patients with essential hypertension. *J hypertens*, **12**, 1047-1057.

M

Maguire S.M., Nugent A.G., McGurk C. et al. (1998). Abnormal vascular responses in human chronic cardiac failure is both endothelial dependent and endothelial independent. *Heart*, **80**, 141-145.

Malik A.B. et Geha A.S. (1977). Cardiac function, coronary flow and MVO₂ in hypertrophy induced by pressure and volume overloading. *Cardiovasc Res*, **11**, 310-316.

Malo O., Carrier M., Fen Shi Y., Tardif J.-C., Tanguay J.-F. et Perrault L.P. Specific alterations of endothelial signal transduction pathways of porcine epicardial coronary arteries in left ventricular hypertrophy. *J Cardiovasc Pharm.* Sous-presse.

Mansoor A.M., Honda M., Saida K. et coll. (1995) Endothelin-induced collagen remodeling in experimental pulmonary hypertension. *Biochem Biophys Res Commun*, **215**, 981-986

Marchetti G., Meflo V. et Visioli O. (1976). Coronary blood flow and myocardial O₂ consumption in hypertrophied cardiac muscle in dogs. *Adv in Cardiol*, **18**, 93-103.

Marcus M.L., Mueller T., Gascho J. et Kerber R. (1979). Effects of cardiac hypertrophy secondary to hypertension on the coronary circulation. *Am J Cardiol*, **44**, 1023-1028.

Marcus M.L., Doty D.B., Hiratzka L.F., Wright C.B. and Eastham C. (1982). Decreased coronary reserve: a mechanism for angina pectoris in patients with aortic stenosis and normal coronary arteries. *New Eng J Med*, **307**, 1362-1366.

Marcus M.L., Harrison D.G., Chilian W.M., Koyanagi S., Inou T., Tomanek R.J., Martins J.B., Eastham C.L. et Hiratzka L.F. (1987). Alterations in the coronary circulation in hypertrophied ventricles. *Circulation*, **75**, 1-19.

Maron B.J., Wolfson J.K., Epstein S.E. et Roberts W.C. (1986). Intramural ("Small vessel") coronary artery disease in hypertrophic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol*, **8**, 545-557.

Masaki T. (1995). Possible role of endothelin in endothelial regulation of vascular tone. *Ann Rev Pharmacol Toxicol*, **35**, 235-255.

Masaki T. (1998). The discovery of endothelins. *Cardiovasc. Res.*, **39**, 530-533.

Mayer B. et Werner E.R. (1995). In search of a function for tetrahydrobiopterin in the biosynthesis of nitric oxide. *Maumyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, **351**, 453-463.

Mazur W., Bitar J.N., Young J.B. et al. (1998). Progressive deterioration of coronary flow reserve after heart transplantation. *Am Heart J*, **136**, 504-509.

Meininger G.A. et Davis M.J. (1992). Cellular mechanisms involved in the vascular myogenic response. *Am J Physiol*, **263**, H647-H659.

Miller F.J., Dellsperger K.C. et Gutterman D.D. (1997). Myogenic constriction of human coronary arterioles. *Am J Physiol*, **273**, H257-H264.

Mohri M., Ichiki T., Hirooka Y. et Takeshita A. (2002). Endogenous nitric oxide prevents myocardial ischemia in patients with hypertension and left ventricular hypertrophy. *Am Heart J*, **143**, 684-689.

Mombouli J.V. et Vanhoutte P.M. (1999). Endothelial dysfunction: From physiology to therapy. *J Mol Cell Cardiol*, **31**, 61-74.

Monor R.L., Myers P.R., Guerra R., Bates J.N. et Harrison D.G. (1990). Diet-induced atherosclerosis increases the release of nitrogen oxides from rabbit aorta. *J Clin Invest*, **86**, 2109.

Motz W. et Strauer B.E. (1996). Improvement of coronary flow reserve after long-term therapy with enalapril. *Hypertension*, **27**, 1031-1038.

Mueller T.M., Marcus M.L., Kerber R.E., Young J.A., Barnes R.W. et Abboud F.M. (1978). Effect of renal hypertension and left ventricular hypertrophy on the coronary circulation in dogs. *Circ Res*, **42**, 543-549.

Muller J.M., Laughlin M.H. et Myers P.R. (1993). Vasoactivity of isolated coronary arterial microvessels: Influence of albumin. *Microvasc res*, **46**, 107-115.

Murohara T., Kugiyama K. et Yasue H. (1996) Interactions of nitrovasodilators, atrial natriuretic peptide and endothelium-derived nitric oxide. *J Vasc. Res.* **33**, 78-85

Murray P.A. et Vatner S.F. (1981). Reduction of maximal coronary vasodilator capacity in conscious dogs with severe right ventricular hypertrophy. *Circ Res*, **48**, 25-33.

N

Naeye R.L. et Liedtke A.J. (1976). Consequences of intramyocardial arterial lesions in aortic valvular stenosis. *Am J of Pathol*, **85**, 569-580.

Nakano K., Corin W.J., Spann J.F., Biederman R.W.W., Denslow S. et Carabello B.A. (1989). Abnormal subendocardial blood flow in pressure overload hypertrophy is associated with pacing-induced subendocardial dysfunction. *Circ Res*, **65**, 1555-1564.

Nakashima M., Mombouli J.V., Taylor A.A. et Vanhoutte P.M. (1993). Endothelium-dependent hyperpolarization caused by bradykinin in human coronary arteries. *J Clin Invest*, **92**, 2867-2871.

Narayanan J., Imig M., Roman R.J. et Harder D.R. (1994). Pressurization of isolated renal arteries increases inositol triphosphate and diacylglycerol. *Am J Physiol*, **226**, H1840-H1845.

Nguyen T.-D., Véquaud P. et Thorin E. (1999). Effects of endothelin receptor antagonists and nitric oxide on myogenic tone and alpha-adrenergic-dependent contractions of rabbit resistance arteries. *Cardiovasc res*, **43**, 755-761.

Nishikawa Y., Stepp D.W. et Chilian W.M. (2000). Nitric oxide exerts feedback inhibition on EDHF-induced coronary arteriolar dilation in vivo. *Am J Physiol*, **279**, H459-H465.

Nitenberg A., Tavolaro O., Loisance D. et al. (1989). Maximal coronary vasodilator capacity of orthotopic heart transplants in patients with and without rejection. *Am J Cardiol*, **64**, 513-518.

O

O'Gorman D.J. et Sheridan D.J. (1991). Abnormalities of the coronary circulation associated with left ventricular hypertrophy. *Clin Sci*, **81**, 703-713.

O'Gorman D.J., T.P., Turner M.A. et Sheridan D.J., (1992). Investigation of impaired coronary vasodilator reserve in the guinea-pig heart with pressure induced hypertrophy. *Eur Heart J*, **13**, 697-703.

O'Keefe D.D., Hoffmann J.I.E., Cheitlin B., O'Neill M.J., Allard J.R. et Shapkin E. (1978). Coronary blood flow in experimental canine left ventricular hypertrophy. *Circ Res*, **43**, 43-51.

Opherk D., Mall G., Zebe H., Schwarz F., Weihe E., Manthey J. et Kübler W. (1984). Reduction of coronary reserve, a mechanism for angina pectoris in patients with arterial hypertension and normal coronary arteries. *Circulation*, **69**, 1-7.

P

Panza J.A., Quyyumi A.A., Brush J.E. et Epstein S.E. (1990). Abnormal endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension. *New Eng J Med*, **323**, 22-27.

Panza J.A., Casino P.R., Kilcoyne C.M. et Quyyumi A.A. (1993). Impaired endothelium-derived nitric oxide in the abnormal endothelium-dependent vascular relaxation of patients with essential hypertension. *Circulation*, **87**, 1468-1474.

Parmley W.W. (1998). Evolution of angiotensin-converting enzyme inhibition in hypertension, heart failure, and vascular protection. *Am J Med*, **105**, 27S-31S.

Peach M.J. et Loeb A.L. (1987). Changes in vascular endothelium and its function in systemic arterial hypertension. *Am J Cardiol*, **60**, 1101-1151.

Perrault L.P., Bidouard J.-P., Janiak P., Villeneuve N., Bruneval P., Vilaine J.-P. et Vanhoutte P.M. (1997). Time course of coronary endothelial dysfunction in acute untreated rejection after heterotopic heart transplantation. *J Heart Lung Transplant*, **16**, 643-657.

Perrault L.P., Bidouard J.-P., Janiak P., Villeneuve N., Bruneval P., Vilaine J.-P. et Vanhoutte P. (1999). Impairment of G-protein-mediated signal transduction in the porcine coronary endothelium during rejection after heart transplantation. *Cardiovasc res*, **43**, 457-470.

Pichard A.D., Gorlin R., Smith H., Ambrose J. et Meller J. (1981). Coronary flow studies in patients with left ventricular hypertrophy of the hypertensive type. Evidence for an impaired coronary vascular reserve. *Am J Cardiol*, **47**, 547-553.

Pichard A.D., Smith H. et Holt J. (1983). Coronary vascular reserve in left ventricular hypertrophy secondary to chronic aortic regurgitation. *Am J Cardiol*, **51**, 315-320.

Pinsky DJ, Patton S, Mesaros S, Brovkovich V, Kubaszewski E, Grunfeld S et Malinski T. (1997). Mechanical transduction of nitric oxide synthesis in the beating heart. *Circ Res*, **81**.

Pueyo M. et Michel J.B. (1997). Angiotensin II receptors in endothelial cells. *Gen Pharmacol*, **29**, 691-696.

Q

Quillen J.E., Sellke F.W., Brooks L.A. et Harrison D.G. (1990). Ischemia-reperfusion impairs endothelium-dependent relaxation of coronary microvessels but does not affect large arteries. *Circulation*, **82**, 586-594.

Quillen J.E. et Harrison D.G. (1992). Vasomotor properties of porcine endocardial and epicardial microvessels. *Am J Physiol*, **262**, H1143-H1148.

R

Rajappan K., Rimoldi O.E., Dutka D.P., Ariff B., Pennell D.J., Sheridan D.J. et Camici P.G. (2002). Mechanisms of coronary microcirculatory dysfunction in patients with aortic stenosis and angiographically normal coronary arteries. *Circulation*, **105**, 470-476.

Rakusan K. et Wicker P. (1990). Morphometry of the small arteries and arterioles in the rat heart: effects of chronic hypertension and exercise. *Cardiovasc Res*, **24**, 278-284.

Ramsey M.W., Goodfellow J., Jones C.J.H., Luddington L.A., Lewis M.J. et Henderson A.H. (1995). Endothelial control of arterial distensibility is impaired in chronic heart failure. *Circulation*, **92**, 3212-3219.

Rembert J.C., Kleinman L.H., Fedor J.M., Wechsler A.S. et Greenfield J.C. (1978). Myocardial blood flow distribution in concentric left ventricular hypertrophy. *J Clin Invest*, **62**, 379-386.

Rickenbacher P.R., Pinto F.J., Lewis N.P., Hunt S.A., Alderman E.L., Schroeder J.S., Stinson E.B., Brown B.W. et Valentine H.A. (1995). Prognostic importance of intimal thickness as measured by intracoronary ultrasound after cardiac transplantation. *Circulation*, **92**, 3445-3452.

Rizvi M.A., Katwa L., Spadone D.P. et Myers P.R. (1996) The effects of endothelin-1 on collagen type I and type III synthesis in cultured porcine coronary artery vascular smooth muscle cells. *J Mol Cell Cardiol*, **28**, 243-252.

Roberts W.C. (1973). Valvular, subvalvular and supra-valvular aortic stenosis. Morphologic features. *Cardiovasc. Clin.*, **5**, 97.

Rosen G.M. et Greeman B.A. (1984). Detection of superoxide generated by endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, **81**, 7269-7273.

Ronson R.S., Nakamura M. et Vinten-Johansen J. (1999). The cardiovascular effects and implications of peroxynitrite. *Cardiovasc Res*, **44**, 47-59.

Ross J. et Braunwald E. (1968). Aortic stenosis. *Circulation*, **38**, 61.

Rubanyi G.M. et Vanhoutte P.M. (1985). Hypoxia releases a vasoconstrictor substance from the canine vascular endothelium. *J physiol*, **364**, 45-56.

S

Sabata M., Manito N., Cequier A. et al. (1995). Acute rejection, cytomegalovirus infection and endothelial dysfunction early after heart transplantation. *Transplant Proceed*, **27**, 2346-2348.

Sabbah H.N. et Stein P.D. (1988). Reduction of systolic coronary blood flow in experimental left ventricular outflow tract obstruction. *Am Heart J*, **116**, 806-811.

Savage D.D., Garrison R.J., Kannel W.B., Levy D., Anderson S.J., Stokes J., Feinleib M. et Castelli W.P. (1987). The spectrum of left ventricular hypertrophy in a general population sample: the Framingham study. *Circulation*. **75** (Suppl I), I26-I33.

Sawada Y., Sakamaki Nakamura T., Sato K., Ono Z. et Murata K. (1994). Release of nitric oxide in response to acetylcholine is unaltered in spontaneously hypertensive rats. *J Hypertens*, **12**, 745-750.

Schiffrin E.L. (2001 A). Role of endothelin-1 in hypertension and vascular disease. *AJH*, **14**, 83S-89S.

Schiffrin E.L. (2001 B). A critical review of the role of endothelial factors in the pathogenesis of hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol.*, **38** (Suppl 2), S3-S6.

Schini V.B. et Vanhoutte P.M. (1991). Endothelin-1: A potent vasoactive peptide. *Pharm Toxicol*, **69**, 303-309.

Schubert R. et Mulvany M.J. (1999). The myogenic response: established facts and attractive hypotheses. *Clin sci*, **96**, 313-326.

Schwartzkopff B., Frenzel H., Dieckerhoff J., Betz P., Flasshove M., Schulte H.D., Mundhenke M., Motz W. et Strauer B.E. (1992). Morphometric investigation of human myocardium in arterial hypertension and valvular aortic stenosis. *Eur Heart J*, **13**, 17-23.

Schwartzkopff B., Motz W., Frenzel H., Vogt M., Knauer S. et Strauer B.E. (1993). Structural and functional alterations of the intramyocardial coronary arterioles in patients with arterial hypertension. *Circulation*, **88**, 993-1003.

Sellke F.W., Armstrong M.L. et Harrison D.G. (1990) Endothelium-dependent vascular relaxation is abnormal in the coronary microcirculation of atherosclerotic primates. *Circulation*, **81**, 1586-1593.

Sellke F.W., Wang S.Y., Friedman M., Harada K., Edelman E.R., Grossman W. et Simons M. (1994). Basic FGF enhances endothelium-dependent relaxation of the collateral-perfused coronary microcirculation. *Am J Physiol*, **267**, H1303-H1311.

Shannon R.P., Komamura K., Shen Y.-T., Bishop S.P. et Vatner S.F. (1993). Impaired regional subendocardial coronary flow reserve in conscious dogs with pacing-induced heart failure. *Am J Physiol*, **265**, H801-H809.

Shiba R., Yanagisawa M., Miyauchi T. et coll. (1989) Elimination of intravenously injected endothelin-1 from the circulation of the rat. *J Cardiovasc Pharmacol*, **13** (Suppl 5), S98-S101.

Shimamatsu M. et Toshima H. (1987). Impaired coronary vasodilatory capacity after dipyridamole administration in hypertrophic cardiomyopathy. *Jpn Heart J*, **51**, 387-401.

Shimokawa H. et Vanhoutte P.M. (1989). Impaired endothelium-dependent relaxation to aggregating platelets and related vasoactives substances in porcine coronary arteries in hypercholesterolemia and in atherosclerosis. *Circ Res*, **64**, 900.

Sigmon D.H. et Beierwaltes W.H. (1995). Endothelium-derived constricting factor in renovascular hypertension. *Hypertension*, **25**, 803-808.

Spaan J.A.E., Breuls N.P.W. et Laird J.D. (1981). Diastolic-systolic coronary flow differences are caused by intramyocardial pump action in the anesthetized dog. *Circ Res*, **49**, 584-593.

Stevenson L.W. et Foranow G.C. (1992). Endothelin and the vascular choir in heart failure. *J Am Coll Cardiol*, **20**, 854-857.

Stepp D.W., Nishikawa Y. et Chilian W.M., (1999). Regulation of shear stress in the canine coronary microcirculation. *Circulation*, **100**, 1555-1561.

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

Strauer B.E. (1979). Ventricular function and coronary haemodynamics in hypertensive heart disease. *Am J Cardiol*, **18**, S20-S27.

Strauer B.E. et Schwartzkopff B. (1997). Left ventricular hypertrophy and coronary microcirculation in hypertensive heart disease. *Blood Press*, **6**, 6-12.

Sudhir K., MacGregor J.S., DeMarco T. et al. (1994). Cyclosporine impairs release of endothelium-derived relaxing factors in epicardial and resistance coronary arteries. *Circulation*, **90**, 3018-3023.

Symons J.D., Gunawardena S., Kappagoda C.T. et Dhond M.R. (2001). Volume overload left ventricular hypertrophy: effects on coronary microvascular reactivity in rabbits. *Exp Physiol*, **86**, 725-732.

T

Thorin É., Meerkin D., Bertrand O.F., Paiement P., Joyal M. et Bonan R. (2000). Influence of postangioplasty β -irradiation on endothelial function in porcine coronary arteries. *Circulation*, **101**, 1430-1435.

Tillmanns H., Neumann F.J., Parekh N., Zimmermann R., Tiefenbacher C., Dorigo O. et Steinhausen M. (1990). Microcirculation in the hypertrophic and ischemic heart. *Eur J Clin Pharmacol*, **39**, S9-S12.

Tomanek R.J., Wangler R.D. et Bauer C.A. (1985). Prevention of coronary vasodilator reserve decrement in spontaneously hypertensive rat. *Hypertension*, **7**, 533-540.

Tomanek R.J. (1990). Response of the coronary vasculature to myocardial hypertrophy. *JACC*, **15**, 528-533.

Treasure C.B., Vita J.A., Cox D.A., Fish R.D., Gordon J.B., Mudge G.H., Colucci W.S., St. John Sutton M.G., Selwyn A.P., Alexander R.W. et Ganz P. (1990). Endothelium-dependent dilatation of the coronary microvasculature is impaired in dilated cardiomyopathy. *Circulation*, **81**, 772-779.

Treasure C.B., Klein J.L., Vita J.A., Manoukian S.V., Renwick G.H., Selwyn A.P. Ganz P. et Alexander R.W. (1993). Hypertension and left ventricular hypertrophy are associated with impaired endothelium-mediated relaxation in human coronary resistance vessels. *Circulation*, **87**, 86-93.

U

Ueno M., Kawashima S., Tsumoto S., Morita M. et Iwasaki T. (1994). Impaired endothelium-dependent vasodilatory responses in hindlimb blood flow in dogs with congestive heart failure. *Jpn Circ J*, **58**, 778-786.

V

Vanhoutte P.M. et Shimokawa H. (1989 A). Endothelium-derived relaxing factor and coronary vasospasm. *Circulation*, **80**, 1-9.

Vanhoutte P.M. (1989 B). Endothelium and control of vascular function. *Hypertension (dans section State of the art lecture)*, **13**, 658-667.

Vanhoutte P.M. (1993). Other endothelium-derived vasoactive factors. *Circulation*, **87** (suppl. V), V9-V17.

Vanhoutte P.M., Boulanger C. et Mombouli J. (1995). Endothelium-derived relaxing factors and converting enzyme inhibition. *Am J Cardiol*, **76**, 3E-12E.

Vanhoutte P.M. (1996 A). Endothelial dysfunction in hypertension. *J of hypert*, **14**, S83-S93.

Vanhoutte P.M. (1996 B). *Endothelium-derived hyperpolarizing factor*. The Netherlands.

Vanhoutte P.M. (1996 C). Endothelium-dependent responses in congestive heart failure. *J Mol Cell Cardiol*, **28**, 2233-2240.

Vanhoutte P.M. (2000). Say NO to ET. *J Autonom Nerv Syst*, **81**, 271-277.

Veinot J.P. et Walley V.M. (1995). Cardiac transplant arteriopathy. *Am J Surg Pathol*, **19**, 727-734.

Véquaud P. (1998). Étude des mécanismes à l'origine des régulations intrinsèques et extrinsèques du tonus vasomoteur sur les lits artériels coronaire et pulmonaire de rat. pp. 242. France: Université Victor Segalen Bordeaux II.

Véquaud P. et Thorin É. (2001). Endothelial G protein beta-subunits trigger nitric oxide-but not endothelium-derived hyperpolarizing factor-dependent dilation in rabbit resistance arteries. *Circ Res*, **89**, 716-722.

Vogt M. et Strauer B.E. (1995 A). Response of hypertensive left ventricular hypertrophy and coronary microvascular disease to calcium antagonists. *Am J Cardiol*, **76**, 24D-30D.

Vogt M. et Strauer B.E. (1995 B). Systolic ventricular dysfunction and heart failure due to coronary microangiopathy in hypertensive heart disease. *Am J Cardiol*, **76**, 48D-53D.

W

Wambolt R.B., Grist M., Bondy G.P. et Allard M.F. (2001). Accelerated glycolysis and greater post-ischemic dysfunction in hypertrophied rat hearts are independent of coronary flow. *Can J Cardiol*, **17**, 889-894.

Wang J., Seyedi N., Xu X.B., Wolin M.S. et Hintze T.H. (1994). Defective endothelium-mediated control of coronary circulation in conscious dogs after heart failure. *Am J Physiol*, **266**, H670-H680.

Watanabe H., Kakihani M., Ohtsuka S. et Sugishita Y. (1997) Randomized, double-blind, placebo-controlled study of supplemental vitamin E on attenuation of the development of nitrate tolerance. *Circulation*. **96**, 2545-2550.

Watanabe H., Kakihani M., Ohtsuka S. et Sugishita Y. (1998) Randomized, double-blind, placebo-controlled study of supplemental vitamin C on attenuation of the development of nitrate tolerance. *Circulation*. **97**, 886-891.

Wattanapitayakul S.K., Weinstein D.M., Holycross B.J. et Bauer J.A. (2000). Endothelial dysfunction and peroxynitrite formation are early events in angiotensin-induced cardiovascular disorders. *Faseb J*, **14**, 271-278.

Weiss H.R. et Sinha A.K. (1978). Regional oxygen saturation in small arteries in the canine myocardium. *Circ Res*, **42**, 119-126.

Weiss S.J., Young J., LoBuglio A.F., Slivka A. et Nimeh N.F. (1981). Role of hydrogen peroxide in neutrophil-mediated destruction of cultured endothelial cells. *J Clin Invest*, **68**, 714-722.

Weitzberg E., Ahlborg G. et Lundberg J.M. (1991). Long-lasting vasoconstriction and efficient regional extraction of endothelin-1 in human splanchnic and renal tissues. *Biochem Biophys Res Commun.* **180**, 1298-1303.

Wright C.E. et Angus J.A. (1986). Effects of hypertension and hypercholesterolemia on vasodilatation in the rabbit. *Hypertension*, **8**, 361-371.

Y

Yada T., Hitamatsu O., Tachibana H., Toyota E. et Kajiya F. (1999). Role of NO and K⁽⁺⁾(ATP) channels in adenosine-induced vasodilation on in vivo canine subendocardial arterioles. *Am J Physiol*, **277**, H1931-H1939.

Yamashita T., Kawashima S., Ohashi Y., Ozaki M., Rikitake Y., Inoue N., Hirata K., Akita H. et Yokoyama M. (2000). Mechanisms of reduced nitric oxide/cGMP-mediated vasorelaxation in transgenic mice overexpressing endothelial nitric oxide synthase. *Hypertension*, **36**, 97-102.

Yamori Y., Mori C., Nishio T., Ooshima A., Horie R., Ohtaka M., Sveda T., Saito M., Abe K., Nora Y., Nakao Y. et Kihard. (1979). Cardiac hypertrophy in early hypertension. *Am J Cardiol*, **44**, 964-969.

Yanagisawa W., Kurihara H., Kimura S., Tomobe Y., Kobayashi M., Mitsui Y., Yazaki Y., Goto K. et Masaki T. (1988) A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature*. **332**, 411-415.

Yeung A.C., Anderson T., Meredith I., Uehata A., Ryan T.J., Selwyn A.P., Mudge G.H. et Ganz P. (1992). Endothelial dysfunction in the development and detection of transplant coronary artery disease. *J Heart Lung Transplant*, **11**, S69-S73.

Ylä-Herttuala S., Paliuski W., Rosenfeld M.E., Parthasarathy S. et Carew T. (1989). Evidence for the presence of oxidatively modified low-density lipoproteins in atherosclerotic lesions of rabbit and man. *J Clin Invest*, **84**, 1086.

