

Université de Montréal

Le cœur métabolique :
la métabolomique afin de mieux caractériser
l'infarctus du myocarde

Par

Karla N. Samman, M.D.

Département de sciences biomédicales, Faculté de médecine

Mémoire présenté en vue de l'obtention du grade de Maître ès Sciences (M.Sc.)
en sciences biomédicales, option Sciences cardiovasculaires

Décembre, 2019

© Karla N. Samman, 2019

Université de Montréal

Département de sciences biomédicales, Faculté de médecine

Ce mémoire intitulé

**Le cœur métabolique :
la métabolomique afin de mieux caractériser
l'infarctus du myocarde**

Présenté par

Karla N. Samman, M.D.

A été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Dr Jocelyn Dupuis

Président-rapporteur

Dr E. Marc Jolicoeur

Directeur de recherche

Dre Julie Hussin

Co-directrice

Dr Jean G. Diodati

Membre du jury

Résumé

Dans les syndromes coronariens aigus, le ticagrelor améliore la survie comparativement au clopidogrel. Les effets pléiotropiques de ce médicament ne sont pas entièrement compris. La métabolomique non ciblée, couplée avec des analyses computationnelles, a le potentiel d'élucider les changements pathophysiologiques du métabolisme cellulaire associés aux différentes maladies et aux traitements.

L'objectif de cette étude est de dévoiler une signature métabolomique discriminante entre le clopidogrel et le ticagrelor dans le traitement de l'infarctus du myocarde avec élévation du segment ST (STEMI).

La population de l'étude est formée de 175 participants de l'essai PLATO avec STEMI ayant subi une intervention percutanée (PCI), randomisés à recevoir le clopidogrel (n=88) ou le ticagrelor (n=87), appariés pour l'âge, le sexe, le statut de dyslipidémie et de diabète. Un profil métabolomique plasmatique non ciblé, obtenu par spectrométrie de masse (MS), est effectué pour chaque individu à l'état de base (BL; maladie aiguë) et au congé de l'hôpital après en moyenne 4 jours d'hospitalisation (DC; état post-traitement). L'étude des données a été effectuée par une analyse de quantification différentielle, une analyse de la variance, la construction d'un réseau de co-modulation et des techniques d'apprentissage automatique.

Huit (8) métabolites étaient modulés de façon différentielle entre les deux groupes de traitement au congé, dont six (6) appartenant aux voies de biosynthèse des acides gras polyinsaturés omega-3 (n3) et omega-6 (n6). Les participants traités avec ticagrelor présentent des niveaux plasmatiques significativement plus élevés des acides gras suivants : α et de γ -linoléate (n3 and n6), dihomololéate (n6), stéaridonate (n3), docosahexaénoate (DHA; n3), eicosapentaénoate (EPA; n3) et arachidonate (AA; n6).

Chez les patients avec STEMI traités par PCI, des analyses de métabolomique non ciblées révèlent que les métabolites impliqués dans la biosynthèse des omega-3 et des omega-6 sont significativement plus élevés au congé dans le groupe traité par le ticagrelor, comparativement au clopidogrel, suggérant que le remodelage du réseau métabolique après un infarctus du myocarde pourrait interagir avec la réponse aux antiplaquettaires.

Mots-clés : infarctus du myocarde, métabolomique, bio-informatique, antiplaquettaires, clopidogrel, ticagrelor, acides gras polyinsaturés.

Abstract

Background:

In acute coronary syndromes, ticagrelor improved survival compared to clopidogrel. Pleiotropic effects of this drug are not entirely elucidated. Untargeted metabolomics coupled with computational analyses has the potential to help understanding pathophysiological changes of cellular metabolism associated with different disease states and therapies.

Objectives:

The purpose of this study is to unveil a discriminant metabolomics signature comparing ST-elevation myocardial infarction (STEMI) patients treated with clopidogrel and ticagrelor.

Methods:

The study population consists of 175 participants with STEMI from the PLATO Trial who underwent percutaneous coronary intervention (PCI), randomized to receive clopidogrel (n=88) or ticagrelor (n=87), matched for age, sex, dyslipidemia and diabetes status. Untargeted mass spectrometry (MS)-based metabolomics profiling in plasma was performed at baseline (BL; acute disease state) and repeated at hospital discharge after an average of 4 days of hospitalization (DC; post-treatment state), for each individual. Data analysis was done through differential quantification analysis, analysis of variance, co-modulation network construction and machine learning techniques.

Results:

Eight (8) metabolites were differentially modulated by treatment between groups at DC, six (6) of which belong to the polyunsaturated fatty acids omega-3 (n3) and omega-6 (n6) biosynthesis pathways. Participants treated with ticagrelor harbor a significantly higher plasmatic level of α and γ linolenate (n3 and n6), dihomo-linolenate (n6), stearidonate (n3), docosahexaenoate (DHA; n3), eicosapentaenoate (EPA; n3) and arachidonate (AA; n6).

Conclusion:

In patients with STEMI undergoing PCI, untargeted metabolomics reveals that metabolites involved in omega-3 and omega-6 biosynthesis are significantly higher at discharge in the ticagrelor treatment group when compared to clopidogrel, suggesting that the remodeling of the metabolic network after myocardial infarction may interact with the response to antiplatelet drugs.

Keywords: myocardial infarction, metabolomics, bioinformatics, antiplatelet, ticagrelor, clopidogrel, omega fatty acids.

Table des matières

Résumé	3
Abstract	4
Table des matières	5
Liste des tableaux.....	8
Liste des figures.....	9
Liste des sigles et abréviations.....	11
Remerciements	19
Avant-propos	20
Introduction	21
Chapitre 1 – L’infarctus du myocarde.....	23
1.1 La définition de l’infarctus du myocarde	23
1.2 La pathophysiologie de l’infarctus du myocarde	27
1.2.1 La maladie artérielle athérosclérotique.....	27
1.2.2 L’athérombose.....	35
1.2.3 Les biomarqueurs associés à l’ischémie cardiaque	38
1.3 Les facteurs de risque et la présentation clinique des syndromes coronariens aigus	41
1.4 Le traitement et la prévention secondaire des syndromes coronariens aigus	43
1.4.1 Les statines	44
1.4.2 Les inhibiteurs de l’enzyme de conversion de l’angiotensine	46
1.4.3 Les antagonistes du récepteur de l’aldostérone	48
1.4.4 Les β -bloquants	50
1.4.5 Les antithrombotiques.....	51
Chapitre 2 – Les antiplaquettaires : l’aspirine, le clopidogrel, le prasugrel et le ticagrelor ..	54
2.1 L’aspirine	54
2.1.1 Le mécanisme d’action	54

2.1.2 Les indications de traitement	56
2.1.3 Les essais cliniques	57
2.2 Le clopidogrel	58
2.2.1 Le mécanisme d'action	58
2.2.2 Les essais cliniques	59
2.3 Le prasugrel	60
2.3.1 Le mécanisme d'action	60
2.3.2 Les essais cliniques	60
2.4 Le ticagrelor	61
2.4.1 Le mécanisme d'action	61
2.4.2 Les essais cliniques	61
2.4.3 Les effets pléiotropiques	62
Chapitre 3 – Le métabolisme cardiaque	65
3.1 Le métabolisme cardiaque physiologique	65
3.1.1 Le métabolisme des acides gras	70
3.1.2 Le métabolisme des glucides	73
3.2 Les changements métaboliques de l'ischémie	81
3.2.1 Les niveaux d'ischémie	83
3.2.2 Les conséquences métaboliques	83
3.2.3 Les conséquences ioniques.....	86
Chapitre 4 – La métabolomique	88
4.1 Qu'est-ce que la métabolomique?	88
4.1.1 Prélèvements et mesure du métabolome	89
4.1.2 Aperçu de la bio-informatique.....	91
4.2 Les applications de la métabolomique	92
4.2.1 De la recherche vers la clinique	92
4.2.2 Biomarqueurs en cardiologie clinique	95
4.2.3 Ischémie myocardique.....	97
Chapitre 5 – Contribution originale.....	105
5.1 Hypothèses.....	105

5.2 Objectifs	105
5.3 Article.....	106
Chapitre 6 – Discussion.....	159
6.1 Synthèse de l’article	159
6.2 Impact et perspectives.....	160
Chapitre 7 – Conclusion	162
Références bibliographiques	163

Liste des tableaux

Tableau 1.	Classification universelle de l'infarctus du myocarde.	26
Tableau 2.	Biomarqueurs cardiovasculaires.	39
Tableau 3.	Résumé des études métabolomiques en MCAS et SCA (tiré d'un article de revue en préparation) – <i>en anglais</i>	102

Liste des figures

Figure 1.	Pathophysiologie l'infarctus du myocarde de type 1 et 2 en fonction de l'état des artères coronariennes.	25
Figure 2.	Hypothèse <i>Response to Injury</i> (athérosclérose) : la dysfonction endothéliale entraîne le passage de monocytes et lymphocytes sous l'endothélium secondairement à une insulte de l'intima, suivi par la migration de cellules musculaires lisses.....	28
Figure 3.	Athérosclérose et dysfonction endothéliale	29
Figure 4.	Formation d'une strie lipidique (en haut); lésion avancée complexe de l'athérosclérose (en bas).	31
Figure 5.	Plaque fibreuse instable dans l'athérosclérose.....	33
Figure 6.	Pathophysiologie du développement de l'athérosclérose dans les syndromes coronariens aigus	34
Figure 7.	Cascade de coagulation.....	36
Figure 8.	Activation plaquettaire lors de rupture endothéliale.....	37
Figure 9.	Interaction entre les plaquettes via le récepteur GpIIb/IIIa.	38
Figure 10.	Relations hydro-potassiques dans le système rénine-angiotensine-aldostérone	46
Figure 11.	Cibles thérapeutiques des médicaments anti-thrombotiques.....	52
Figure 12.	Mécanisme d'action de l'acide acétylsalicylique.....	55
Figure 13.	Hydrolyse de l'ATP dans le réticulum sarcoplasmique.....	66
Figure 14.	Interactions entre l'expression génique, le métabolisme énergétique et la contractilité cellulaire du cœur.	67
Figure 15.	Cycle du glucose et des acides gras, avec les transporteurs impliqués.....	69
Figure 16.	Absorption et métabolisme du glucose et des acides gras	71
Figure 17.	Métabolisme des acides gras myocardiques.....	73
Figure 18.	Transport cellulaire du glucose	74
Figure 19.	Régulation des phosphofruktokinases (PFK)	75

Figure 20.	Régulation de l'oxydation du glucose et du lactate par la pyruvate dehydrogénase.....	77
Figure 21.	Interactions entre les acides gras et l'oxydation du glucose.....	78
Figure 22.	Inter-régulation des acides gras et de l'oxydation du pyruvate.....	79
Figure 23.	Métabolisme des différents substrats myocardiques	80
Figure 24.	Domage myocardique par ischémie-reperfusion.....	82
Figure 25.	Effets de l'ischémie sur le NADH cytosolique et mitochondrial.	85
Figure 26.	La cascade « omique » de l'approche biologique des systèmes	89
Figure 27.	Proportion de la contribution des matériaux biologiques dans la recherche en métabolomique.....	90
Figure 28.	Stratégies de recherche communément appliquées dans l'approche métabolomique.....	93
Figure 29.	Synthèse de l'article : lien entre les différents effets pléiotropiques décrits du ticagrelor parallèlement aux propriétés des omega-3.....	159

Liste des sigles et abréviations

3-KAT : 3-kétoacyl-CoA thiolase

AA : arachidonate

AAS : acide acétylsalicylique

ACC : acétyl-CoA carboxylase

ADP : adénosine diphosphate

AG : acides gras

AHA : « American Heart Association »

AHB : « 2-hydroxybutyrate »

AIRE: *The Acute Infarction Ramipril Efficacy Trial*

ALA : « α -linoleate »

AMP : adénosine monophosphate

AMPK : protéine kinase activée par l'AMP

ANCOVA: « analysis of covariance »

APC : « adenosine plasma concentration »

ARA (français) : antagoniste du récepteur de l'angiotensine

ARA (anglais) : arachidonate

ASM: « androsteroid monosulfate 2 »

ATP : adénosine triphosphate

AVC : accident vasculaire-cérébral

BL: « baseline »

BNP : « B-type natriuretic peptide » (peptide natriurétique B)

BSTFA : « bistrimethyl-silyl-triflouroacetamide »

CAT : carnitine-acyl translocase

CK-MB : créatinine kinase-MB

CO₂ : dioxyde de carbone

COMMIT: *Clopidogrel and Metoprolol in Myocardial Infarction Trial*

COX-1 et 2 : cyclooxygénase 1 et 2

cPLA₂: « calcium-independent phospholipase A₂ »

CPT-I et II : cartinine-palmitoyl transférase I et II

CRP : « c-reactive protein » (protéine C-réactive)

CURE: *Clopidogrel in Unstable Angina to Prevent Reccurent Ischemie Events*

CURRENT-OASIS 7: *Clopidogrel and Aspirin Optimal Dose Usage to Reduce Recurrent Events-Organization to Assess Strategies in Ischemic Syndromes 7*

DAPT: « double antiplatelet therapy » (double thérapie antiplaquettaire)

DBSCAN: « Density-Based Spatial Clustering of Applications with Noise »

DC: « discharge »

DHA : docosahexaenoate

DPA : docosapentaenoate

ECG : électrocardiogramme

ENT1 : « equilabrative nucleoside transporter 1 »

EPA : eicosapentaenoate

EPC : « endothelial progenitor cells »

EPHESUS: *Eplerenone Post-Acute Myocardial Infarction Heart Failure Efficacy and Survival Study*

ERR : « estrogen-related receptor » (récepteur lié à l'estrogène)

ETC : « electron transport chain » (chaîne de transport d'électrons)

ETE : eicosatrienoate

F1,6BP : fructose-1,6-biphosphate

F2,6BP : fructose-2,6-biphosphate

F6P : fructose-6-phosphate

FA-CoA : « fatty acid acyl-coenzyme A »

FA : « fatty acids »

FABP_{pm} : « plasmalemmal fatty acid-binding protein »

FACS : « fatty acyl-CoA synthase »

FADH₂ : flavine adénine dinucléotide

FAT : « fatty acid translocase »

FC: « fold change »

FDR : « false discovery rate »

FEVG : fraction d'éjection du ventricule gauche

FT-ICR : « Fourier transform ion cyclotron resonance »

G6P : glucose-6-phosphate

GAPDH : glycéraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase

GC : « gas chromatography »

GLUT1et GLUT4 : « glucose transporter 1 » et « glucose transporter 4 »

H₂O : monoxyde de dihydrogène

HDL : « high-density lipoprotein »

HMDB: « Human Metabolome Databases »

HMG-CoA : 3-hydroxy-3-méthylglutaryl coenzyme A

hs-CRP : « high sensitivity c-reactive protein » (protéine C-réactive à haute sensibilité)

HS-troponine : troponine à haute sensibilité

IAM-ST- : infarctus aigu myocarde sans élévation du segment ST

IAM-ST+ : infarctus aigu myocarde avec élévation du segment ST

IECA : inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine

IMPROVE-IT: *Improve Reduction of Outcomes : Vytarin Efficacy International Trial*

IQR : « interquartile range »

I-R : ischémie-reperfusion

IRB : « institutional review board »

IRM: imagerie par résonance magnétique

ISAR-REACT 5: *Intracoronary Stenting and Antithrombotic Regimen: Rapid Early Action for Coronary Treatment 5*

ISIS-1: *First International Study of Infarct Survival*

ISIS-2: *International Study of Infarct Survival*

KS: Kolmogorov-Smirnov

LA : « linoleate »

LC : « liquid chromatography »

LDH : lactate déshydrogénase

LDL : « low-density lipoprotein »

LIT : « linear ion-trap »

LMM: « linear mixed model »

LOGIT: « logistic regression model »

LPL : lipoprotéine lipase

MCAS: maladie coronarienne athérosclérotique

MCD : malonyl-CoA décarboxylase

M-CSF : « macrophage colony-stimulating factor »

MI : « myocardial infarction »

MS: « mass spectrometry » (spectrométrie de masse)

MSEA: « Metabolite Set Enrichment Analysis »

MVO₂ : « myocardial volume oxygen »

n3 : omega-3

NADH : nicotinamide adénine dinucléotide

NEFA : « non-esterified fatty acids »

NMR : « Nuclear Magnetic Resonance »

NNT: « number needed to treat »

NO : « nitric oxide » (monoxyde d'azote)

NSTEMI: « non-ST-elevation myocardial infarction »

NT-proBNP : « N-terminal pro-BNP »

NYHA : « New York Heart Association »

oLDL : « oxydized LDL »

PC : « principal component »

PCA : « principal component analysis »

PCG-1 α : coactivateur-1 α du PPAR γ

PCI: « percutaneous intervention » (intervention percutanée)

PCI-CURE: *Clpidogrel in Unstable Angina to Prevent Reccurent Ischemie Events in Patients Undergoing Percutaneous Coronary Intervention*

PCSK9 : pro-protéine convertase subtilisine–kexine type 9

PDH : pyruvate déshydrogénase

PDK : pyruvate déshydrogénase kinase

PEGASUS-TIMI 54: *Prevention of Cardiovascular Events in Patients with Prior Heart Attack Using Ticagrelor Compared to Placebo on a Background of Aspirin–Thrombosis in Myocardial Infarction 54*

PFK-1 : phosphofructokinase-1

PGI₂ : prostaglandine I₂

PLATO: *Platelet Inhibition and Patient Outcomes*

PMI: infarctus du myocarde prévu

PPAR- α : « peroxisome proliferator-activated receptors »

PROVE-IT: *Pravastatin or Atorvastatin Evaluation and Infection Trial*

PUFAs : « polyunsaturated fatty acids »

QC: « quality control »

RALES: *The Randomised Aldactone Evaluation Study*

ROS : « reactive oxygen species »

SAVE: *The Survival and Ventricular Enlargement Trial*

SCA : syndrome coronarien aigu

SMC : « smooth muscle cells »

SMI: infarctus du myocarde spontané

SRAA : système rénine-angiotensine-aldostérone

STEMI : « ST-elevation myocardial infarction » (infarctus du myocarde avec élévation du segment ST)

t-SNE : « t-distributed stochastic neighbor embedding »

TCA : acide tricarboxylique (« tricarboxylic acid »)

TG : triacylglycérol

TnT : troponine T

TRACE: *The Trandolapril Cardiac Evaluation Trial*

TRITON-TIMI 38: *Trial to Assess Improvement in Therapeutic Outcomes by Optimizing Platelet Inhibition with Prasugrel–Thrombolysis in Myocardial Infarction 38*

Troponines-HS : troponines à haute sensibilité

TXA₂ : thromboxane A₂

UA: « unstable angina »

VALIANT: *Valsartan, Captopril, or Both in Myocardial Infarction Complicated by Heart Failure, Left Ventricular Dysfunction, or Both*

VLDL : « very low density lipoprotein »

WGCNA: « Weighted Gene Correlation Network Analysis »

To my mother and father, for their selfless sacrifices, unconditional love and constant support.

To my sisters, Karol and Kristin, my partners in crime and best friends.

Remerciements

Le premier remerciement s'adresse à mon mentor, le Dr Marc Jolicoeur, qui, il y a 6 ans, m'a pris sous son aile et m'a appris ce que je dois savoir pour avoir une carrière médicale digne de ce nom. Merci pour le généreux temps consacré à m'enseigner et à me guider; merci pour l'écoute, le soutien et les encouragements continuels; merci pour les précieux conseils, sans lesquels je ne serai pas rendue là où je suis. Merci d'être un médecin rigoureux et attentionné, un exemple pour plusieurs d'entre nous.

J'aimerais également remercier ma co-directrice, Julie Hussin et son équipe, pour le travail acharné qui m'a permis de partager ces données avec vous, avec une mention spéciale à Pamela Mehanna, qui a consacré énormément de temps afin de fournir des analyses bio-informatiques essentielles au présent mémoire. Julie, merci pour le dévouement, l'assiduité et le travail exemplaire qui a permis de mener ce projet à terme. Merci à Matthieu Ruiz, *team player* essentiel à notre équipe, toujours disponible pour aider. Merci pour votre collaboration et surtout votre patience; la recherche n'est pas un chemin possible sans le travail d'équipe. J'aimerais adresser un remerciement spécial à tous les collaborateurs locaux et internationaux, qui ont partagé leur expertise pour permettre de produire une contribution scientifique originale.

Merci aux membres du jury pour le temps accordé à examiner mon mémoire. Merci à Luc Harvey, qui est toujours là pour m'aider dans mes moments de détresse. Merci à l'équipe de recherche de l'Institut de cardiologie de Montréal, pour la bourse de formation et pour l'environnement de travail stimulant. Merci à ma famille et à mes amis, de toujours croire en moi et de me supporter dans mes projets fous.

Avant-propos

Tôt dans mon parcours au Doctorat en médecine, je découvre la recherche à travers un projet sur les fuites para-valvulaires auquel je participe à l'Institut de cardiologie de Montréal. Cette première expérience m'a ouvert les yeux sur un monde qui m'était jusqu'à lors inconnu. Dans le but d'explorer la recherche, d'approfondir mes connaissances et surtout d'apprendre une méthodologie rigoureuse, je m'inscris au programme M.D.-M.Sc. À l'automne 2016, je débute le programme de maîtrise en sciences biomédicales avec un nouveau projet. Le désir de relever un défi, de pousser mes limites, guide le choix du sujet de maîtrise : la « métabolomique », une science nouvelle pour moi.

Au fil des 3 dernières années, j'ai découvert le monde de la métabolomique, sa rationnelle, ses enjeux statistiques et son application clinique. Il va de soi que dans un futur proche, cette science, avec les autres approches systémiques, feront partie intégrante des découvertes médicales, de concert à la recherche fondamentale, biologique et clinique, pour permettre de mieux comprendre des enjeux de santé. Une meilleure compréhension des processus pathologiques, tels que les maladies cardiovasculaires, aura sans doute un impact individuel et sociétal non négligeable, étant donnée la prévalence de ces affections.

Maintenant que mon Doctorat en médecine est terminé et ma résidence en médecine interne débutée, je conçois davantage l'intérêt de l'innovation et la curiosité intellectuelle associée à la recherche dans le domaine de la santé. Je désire par conséquent continuer à m'impliquer afin de participer à des avancées en recherche clinique, qui permettront une prise en charge complète des patients et une meilleure qualité de vie.

Introduction

Les maladies cardiovasculaires figurent parmi les principales causes de mortalité et morbidité dans les pays industrialisés¹. En effet, malgré l'amélioration du traitement de l'infarctus aigu du myocarde, les comorbidités associées à la maladie cardiaque ischémique demeurent au premier rang de mortalité². L'impact épidémiologique, sociétal et individuel de ces affections est non négligeable. Ainsi, une meilleure compréhension de la physiologie cardiaque, des processus pathologiques et de la réponse au traitement est primordiale afin de permettre une approche systématique des diverses maladies cardiaques, telles que les syndromes coronariens aigus.

En effet, les sciences fondamentales, cliniques et biologiques ont permis de répondre à de multiples interrogations en lien avec ces pathologies fort prévalentes dans nos sociétés. L'émergence des sciences systémiques, telles que la métabolomique, apporte de l'information additionnelle qui modifie significativement la démarche en recherche clinique. Ces sciences permettront sans doute de mieux caractériser les pathologies courantes, éventuellement dans le but de diminuer la mortalité des patients et d'améliorer le pronostic ainsi que la qualité de vie des personnes atteintes de maladies cardiovasculaires.

L'utilisation de la métabolomique en médecine clinique est associée à de multiples enjeux de collecte, d'analyse et d'interprétation de données. Par conséquent, la bio-informatique et les statistiques appliquées émergent parallèlement aux sciences systémiques, pour permettre une approche compréhensive et rigoureuse des métabolites étudiés. Étant donnée l'évolution rapide des sciences systémiques, soient la génomique, la protéomique et la métabolomique, il est d'autant plus nécessaire que les médecins soient à l'aise à comprendre la méthodologie sous-jacente et à interpréter les résultats émergents de ces sciences. Ce travail s'adresse donc à des scientifiques et à des cliniciens, et tente de relier métabolomique et médecine cardiovasculaire clinique.

Ainsi, le présent mémoire englobe différents aspects de la médecine moderne et inclut une contribution originale qui présente des données métabolomiques dans l'infarctus aigu du

myocarde. À travers ce mémoire, l'infarctus du myocarde clinique est défini et son traitement est abordé dans le **Chapitre 1**. Différents antiplaquettaires sont présentés dans le **Chapitre 2**. Par la suite, le métabolisme cardiaque physiologique et pathologique dans le contexte d'ischémie sont détaillés dans le **Chapitre 3**, pour terminer avec un chapitre sur la métabolomique et la bio-informatique (**Chapitre 4**). Les résultats de l'étude sont présentés à la suite des sections mentionnées. Cette contribution originale permet de distinguer au niveau métabolique le plasma de patients traités avec du clopidogrel comparé au ticagrelor, deux antiplaquettaires utilisés conjointement avec l'aspirine dans la thérapie standard post-infarctus. Les résultats incluent également une signature métabolomique unique de l'infarctus aigu du myocarde avec élévation-ST.

Chapitre 1 – L’infarctus du myocarde

Dans les états occidentaux, les syndromes coronariens aigus sont la principale cause de morbidité et de mortalité. En 2020, l’Organisation de santé mondiale prédit qu’ils seront la cause primaire de décès dans le monde³. En effet, déjà en 2012, les pays en développement rejoignent les pays développés avec les maladies coronariennes au premier rang de mortalité. Le mode de vie sédentaire, le tabac, la malnutrition et l’espérance de vie augmentée expliquent cette tendance^{4,5}. « Une fois l’âge de 40 ans atteint, le risque à vie de développer une maladie coronarienne cliniquement manifeste (angine, infarctus du myocarde ou décès de maladie coronarienne athérosclérotique) est d’environ 50% chez les hommes et 32% chez les femmes⁵. »

1.1 La définition de l’infarctus du myocarde

L’infarctus du myocarde résulte d’une ischémie subite et soutenue du muscle cardiaque. Tel que postulé par Rosano et. al. :

« L’ischémie myocardique est secondaire à un déséquilibre entre le flux sanguin et les exigences métaboliques, quand le taux de livraison d’oxygène et de substrats métaboliques au myocarde est insuffisant pour répondre aux demandes énergétiques myocardiques pour un travail donné⁶. »

Ainsi, l’ischémie survient lors d’un déséquilibre entre les apports et les besoins énergétiques, par augmentation de la demande ou par diminution du flux sanguin secondaire à une thrombose coronarienne, entre autres. L’ischémie du myocarde entraîne différents tableaux cliniques, allant de l’angine instable, à l’infarctus aigu myocarde avec ou sans élévation du segment ST (IAM-ST+ et IAM-ST-, respectivement)⁷. La distinction entre ces 3 présentations cliniques dépend, entre autres, de l’électrocardiogramme (ECG) et des biomarqueurs sanguins libérés lors de la nécrose cellulaire. Lorsque l’ischémie est présumée en provenance d’une plaque coronarienne instable, on dit alors de ces 3 présentations qu’elles sont secondaires à un syndrome coronarien aigu (SCA)⁸.

Dans un contexte de SCA, l'angine instable est définie comme l'apparition d'angine au repos ou d'angine nocturne, d'une diminution du seuil d'angine ou d'un changement de manifestation d'une angine connue^{8,9}. Ainsi, toute angine de novo sera d'emblée considérée comme instable. L'infarctus survient lorsque l'ischémie myocardique est suffisamment sévère et soutenue pour causer une nécrose cellulaire définitive, et donc, irréversible. L'ischémie myocardique, généralement d'origine thrombotique avec occlusion partielle, persiste suffisamment longtemps pour causer la nécrose des cardiomyocytes dans l'IAM-ST-, contrairement à l'angine instable. L'IAM-ST+, quant à lui, implique communément une occlusion artérielle complète et persistante du flux sanguin¹⁰ avec atteinte cellulaire myocardique plus importante, dite transmurale.

À noter qu'il existe une classification des infarctus du myocarde, en fonction du mécanisme sous-jacent. Un IAM de type I est causé par une rupture de plaque, alors que d'autres causes ischémiques non-iatrogéniques sont regroupées dans le type II (**Figure 1**). L'augmentation de la demande du myocarde par une tachyarythmie, les vasospasmes, l'hypertension maligne et l'anémie font partie de cette catégorie⁸. Les groupes III, IV et V sont détaillés dans le **Tableau 1**. Dans la **Section 1.2**, la physiopathologie de l'infarctus du myocarde de type I sera décrite.

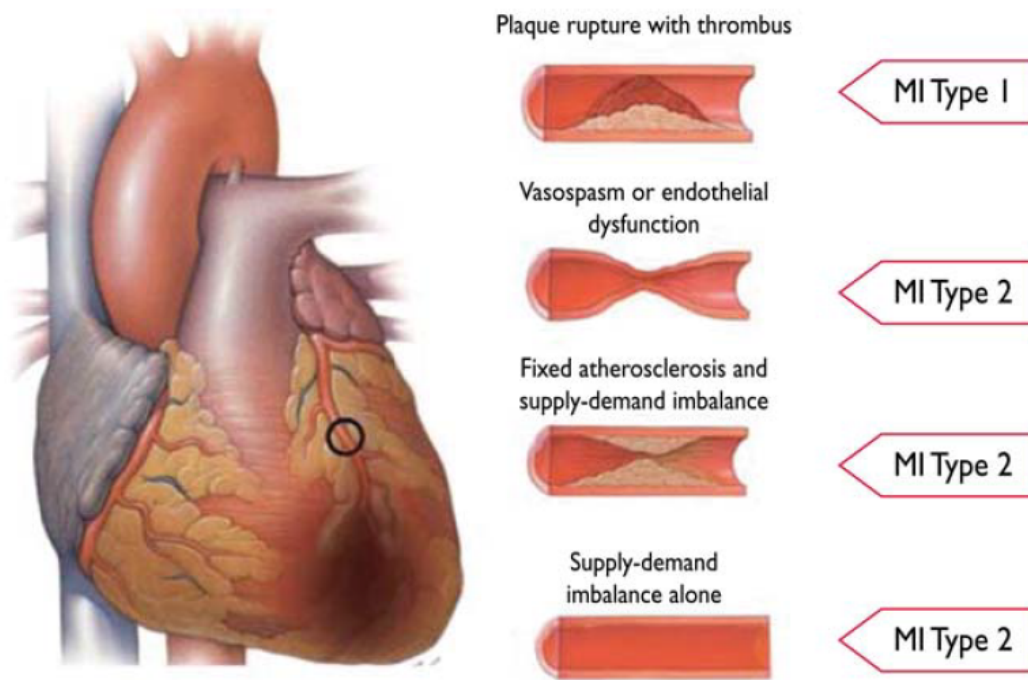


Figure 1. Pathophysiologie l'infarctus du myocarde de type 1 et 2 en fonction de l'état des artères coronariennes.

Figure tirée de Thygesen, 2013¹¹. Reproduction autorisée par « Oxford University Press ». Tous droits réservés.

Type 1: Spontaneous myocardial infarction
Spontaneous myocardial infarction related to atherosclerotic plaque rupture, ulceration, fissuring, erosion, or dissection with resulting intraluminal thrombus in one or more of the coronary arteries leading to decreased myocardial blood flow or distal platelet emboli with ensuing myocyte necrosis. The patient may have underlying severe CAD but on occasion non-obstructive or no CAD.
Type 2: Myocardial infarction secondary to an ischaemic imbalance
In instances of myocardial injury with necrosis where a condition other than CAD contributes to an imbalance between myocardial oxygen supply and/or demand, e.g. coronary endothelial dysfunction, coronary artery spasm, coronary embolism, tachy-/brady-arrhythmias, anaemia, respiratory failure, hypotension, and hypertension with or without LVH.
Type 3: Myocardial infarction resulting in death when biomarker values are unavailable
Cardiac death with symptoms suggestive of myocardial ischaemia and presumed new ischaemic ECG changes or new LBBB, but death occurring before blood samples could be obtained, before cardiac biomarker could rise, or in rare cases cardiac biomarkers were not collected.
Type 4a: Myocardial infarction related to percutaneous coronary intervention (PCI)
Myocardial infarction associated with PCI is arbitrarily defined by elevation of cTn values $>5 \times 99^{\text{th}}$ percentile URL in patients with normal baseline values ($\leq 99^{\text{th}}$ percentile URL) or a rise of cTn values $>20\%$ if the baseline values are elevated and are stable or falling. In addition, either (i) symptoms suggestive of myocardial ischaemia, or (ii) new ischaemic ECG changes or new LBBB, or (iii) angiographic loss of patency of a major coronary artery or a side branch or persistent slow- or no-flow or embolization, or (iv) imaging demonstration of new loss of viable myocardium or new regional wall motion abnormality are required.
Type 4b: Myocardial infarction related to stent thrombosis
Myocardial infarction associated with stent thrombosis is detected by coronary angiography or autopsy in the setting of myocardial ischaemia and with a rise and/or fall of cardiac biomarkers values with at least one value above the 99^{th} percentile URL.
Type 5: Myocardial infarction related to coronary artery bypass grafting (CABG)
Myocardial infarction associated with CABG is arbitrarily defined by elevation of cardiac biomarker values $>10 \times 99^{\text{th}}$ percentile URL in patients with normal baseline cTn values ($\leq 99^{\text{th}}$ percentile URL). In addition, either (i) new pathological Q waves or new LBBB, or (ii) angiographic documented new graft or new native coronary artery occlusion, or (iii) imaging evidence of new loss of viable myocardium or new regional wall motion abnormality.

Tableau 1. Classification universelle de l'infarctus du myocarde.
Tableau tiré de Thygesen, 2013¹¹. Reproduction autorisée par « Oxford University Press ». Tous droits réservés.

1.2 La pathophysiologie de l'infarctus du myocarde

Dans la paroi d'une artère, on distingue trois couches concentriques, séparées par les limitantes élastiques externe et interne. La tunique externe – adventice, est constituée de fibroblastes et de cellules musculaires lisses (*smooth muscle cells*, SMCs), pour former une couche de tissu conjonctif. La média (tunique moyenne), au centre, est conçue de SMCs. Un feuillet de cellules endothéliales forme la tunique interne, appelée intima. Des éléments de la matrice extracellulaire, soient le collagène et les protéoglycanes principalement, sont retrouvés dans l'espace-sous endothélial. Une intima normale contient rarement des SMCs, a une perméabilité sélective grâce aux jonctions serrées et permet un flux sanguin laminaire^{12,13}. L'endothélium normal permet également une vasodilatation et une action anti-thrombotique, via l'inhibition de l'agrégation plaquettaire et l'isolation des facteurs de coagulation⁹.

1.2.1 La maladie artérielle athérosclérotique

L'athérosclérose inclut un processus inflammatoire chronique des artères évoluant sur plusieurs décennies en réponse à différents facteurs de risque intrinsèques et extrinsèques⁴. Cette maladie progressive débute dès l'enfance, où des lésions primaires dans l'aorte sont détectables dès l'âge de 10 ans¹²⁻¹⁴. La théorie « *Response to injury* », initialement proposée en 1973 par Ross, permet d'expliquer l'initiation des plaques athéromateuses (**Figure 2**). Selon celle-ci, l'endothélium développe une réaction inflammatoire fibroproliférative protectrice en réponse aux insultes qu'il subit¹⁴. Cette théorie, apparentée à l'hypothèse de Virchow qui stipule une accumulation de lipides sanguins dans la paroi artérielle, a grandement évolué depuis¹⁴⁻¹⁶. À noter que l'intima constitue la couche artérielle principalement impliquée dans l'athérosclérose. Dans cette maladie, les insultes peuvent être notamment dues à l'hypercholestérolémie ou à des dommages mécaniques, particulièrement aux sites de bifurcation^{12-14,16}. Des atteintes répétitives empêchant une cicatrisation complète sont responsables de la pathologie athérosclérotique¹⁵.

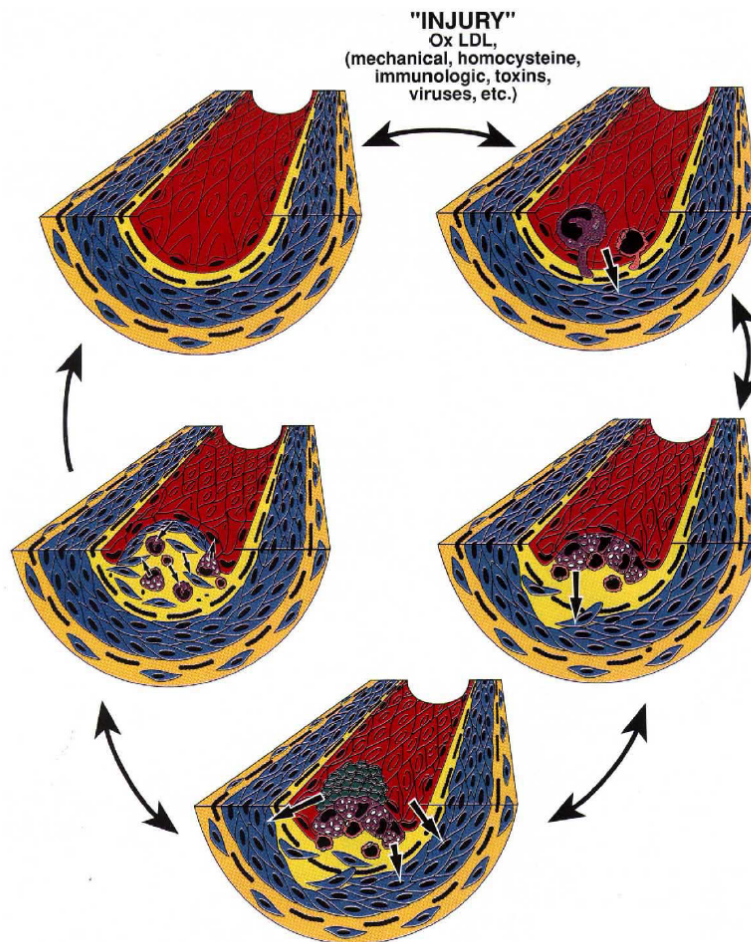


Figure 2. Hypothèse *Response to Injury* (athérosclérose) : la dysfonction endothéliale entraîne le passage de monocytes et lymphocytes sous l'endothélium secondairement à une insulte de l'intima, suivi par la migration de cellules musculaires lisses.
Figure tirée de Ross, 1993¹⁴. Reproduction autorisée par « Spinger Nature ». Tous droits réservés.

Strie lipidique

La première lésion athérosclérotique, nommée strie lipidique, est caractérisée par une accumulation de lipides dans l'espace sous-endothélial¹³. Il s'agit d'une atteinte purement inflammatoire¹⁷. La majorité des lipides sont sous forme de cholestérol ou d'ester de cholestérol. Macroscopiquement, la strie lipidique apparaît comme une tache jaunâtre sur la paroi interne de l'artère¹². L'agrégation de cholestérols à basse densité (*low-density lipoproteins*, LDL) dans la paroi est proportionnelle à l'élévation de leur concentration sanguine. Initialement, leur présence provoque l'expression de molécules d'adhésion et de

substance chimiotactiques permettant la migration de monocytes, essentiellement, et de lymphocytes. Une fois dans l'intima, ces monocytes se différencient en macrophages^{13,14,17}. Les LDL sont modifiés, principalement par oxydation via les dérivés actifs de l'oxygène (*reactive oxygen species*, ROS) et d'autres enzymes, avant d'être capturés par les phagocytes. Ainsi, les macrophages engorgés de cholestérol modifié deviennent des cellules spumeuses (*foam cells*)¹³. Ces dernières sécrètent des substances chimiotactiques, entre autres le *macrophage colony-stimulating factor (M-CSF)*, qui accentuent l'attraction de monocytes¹⁷. À noter que les macrophages sont équipés de récepteurs de type *scavenger* leur permettant de reconnaître efficacement les LDL. Tel que mentionné ci-dessus, l'inflammation est un élément central de la modification des LDL et de la formation de cellules spumeuses. Tout état favorisant l'inflammation, tels que le diabète, une infection invasive et l'élévation des niveaux d'homocystéine, promeut l'athérosclérose. Par ailleurs, les LDL modifiés inhibent également l'oxyde nitrique (*nitric oxide*, NO), un vasodilatateur, ce qui se manifeste par une dysfonction endothéliale¹³ (**Figure 3**).

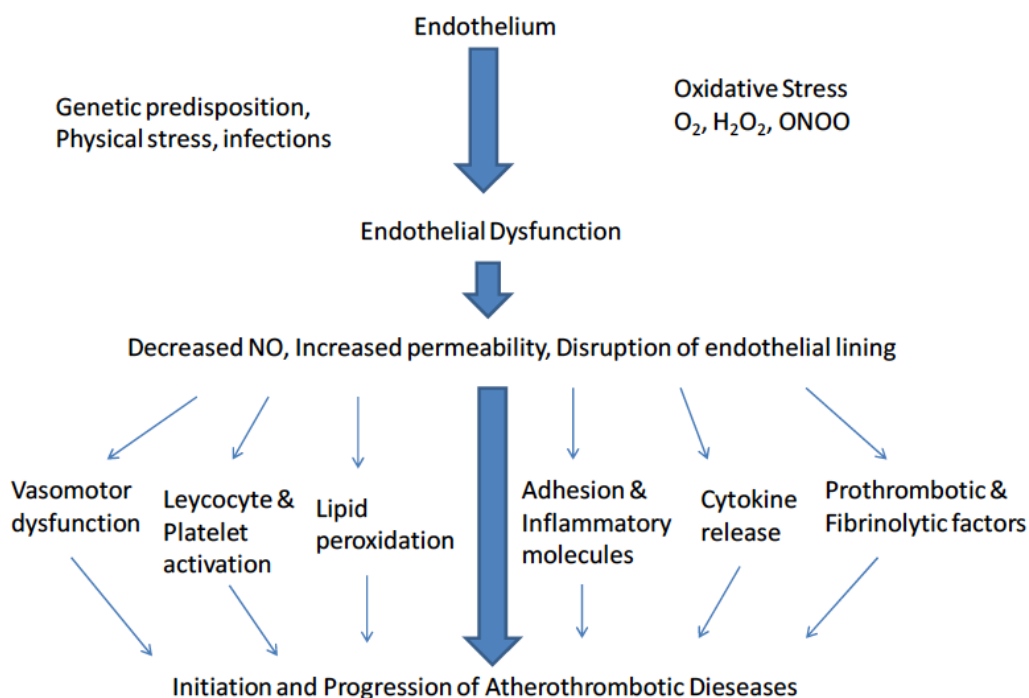


Figure 3. Athérosclérose et dysfonction endothéliale

Figure tirée de Srikanth, 2012⁹. Reproduction autorisée par « Bentham Science Publishers Ltd. ». Tous droits réservés.

Chape fibreuse

Par la suite, la lésion primaire se complique graduellement en chape fibreuse (*fibrous cap*), tel qu'illustré à la **Figure 4**, dont le centre est caractérisé par l'accumulation de SMCs et de débris lipidiques nécrotiques^{12,13}. En effet, la prolifération des cellules musculaires lisses est un élément clé de la pathophysiologie de l'athérosclérose¹⁵. Le noyau nécrotique provient de la mort de certaines cellules spumeuses. La capsule, quant à elle, est formée d'éléments fibreux sécrétés par les SMCs. Les cytokines inflammatoires et les facteurs de croissances libérés par les cellules immunitaires alimentent la migration de SMCs et la prolifération de matrice extracellulaire^{13,14}.

Durant le développement de l'athérosclérose, certaines régions de l'endothélium sont dénudées. Des microthrombi se forment ainsi aux sites de desquamation secondairement aux insultes. Ils sont dissouts dans le vaisseau ou réincorporent la lésion, qui croît progressivement avec la libération de cytokines inflammatoires. D'un autre côté, il est possible qu'un plus gros thrombus occlue significativement l'artère et cause des symptômes^{9,12,14,15}, tel que discuté dans la **Section 1.2.2**. Il s'agit ici d'un autre aspect de la dysfonction endothéliale, essentielle à la progression des plaques d'athérosclérose¹⁷. En effet, les plaquettes activées libèrent des substances inflammatoires et mitogéniques (cytokines, chemokines, facteurs de croissances, molécules d'adhésion et facteurs de coagulation) qui modifient les propriétés chimiotactiques, adhésives et protéolytiques de l'endothélium^{18,19}.

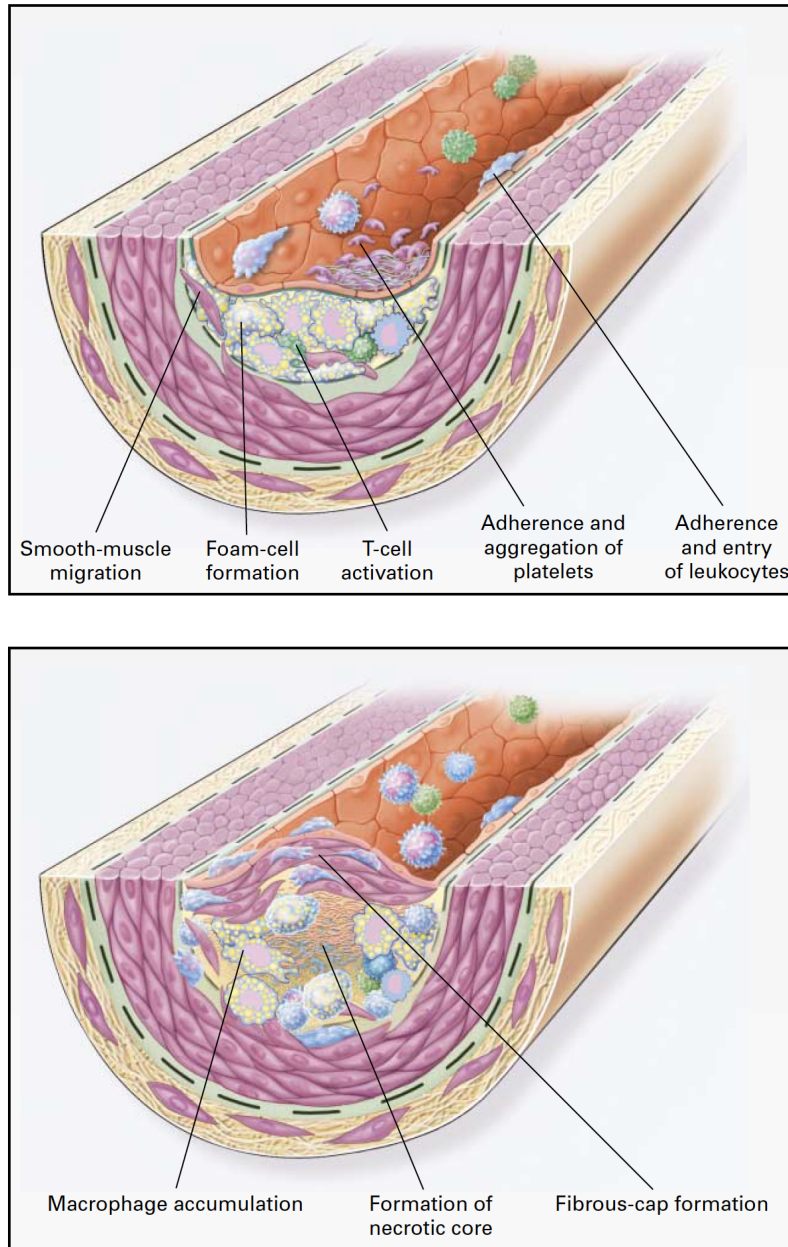


Figure 4. Formation d'une strie lipidique (en haut); lésion avancée complexe de l'athérosclérose (en bas).
 Reproduced with permission from R. Ross, 1999¹⁷, Copyright Massachusetts Medical Society.

Lésion avancée

La chape fibreuse continue de croître et se transforme en lésion dite avancée ou compliquée (**Figure 4**). Cette dernière est caractérisée par des calcifications, des ulcérations et des hémorragies intra-lésionnelles provenant de la néovascularisation^{12,13}. En plus de ces complications, il existe des événements aigus de thrombose, entre autres dans les artères coronaires, pouvant occasionner des infarctus du myocarde¹⁰. Fait intéressant, les lésions athérosclérotiques associées aux SCA n'engendrent pas nécessairement de sténose artérielle significative avant leur rupture et sont généralement peu calcifiées. Également, elles ont une chape fibreuse mince contenant un centre riche en lipides et en cellules inflammatoires^{10,20}. Les plaques responsables des SCA sont dites vulnérables (**Figure 5**), du fait qu'elles subissent davantage de dégradation par les métalloprotéinases matricielles que de production de matrice extracellulaire. La rupture se produit surtout sur les côtés des lésions athéromateuses, régions riches en macrophages spumeux appelées sites d'épaulement (*shoulders*)^{9,13,17,20}. L'inflammation systémique et locale, par les cytokines pro-inflammatoires des cellules spumeuses, déstabilisent les plaques et augmentent l'incidence de SCA. Les plaques stables, quant à elles, ont une capsule fibreuse épaisse et un petit noyau lipidique. Elles sont davantage associées à une obstruction chronique et à des symptômes d'angine stable²⁰.

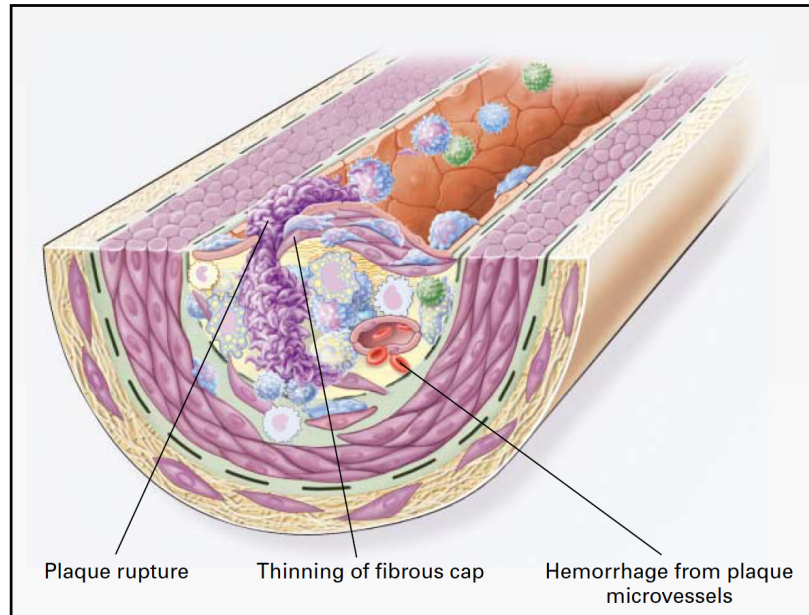


Figure 5. Plaque fibreuse instable dans l'athérosclérose.

Reproduced with permission from R. Ross, 1999¹⁷, Copyright Massachusetts Medical Society.

Initialement, la lésion athérosclérotique ne cause pas d'obstruction de la lumière du vaisseau, puisqu'il y a compensation avec élargissement de la paroi vers l'extérieur²¹. Les jeunes plaques sont cliniquement non perceptibles et peuvent donc être non détectable en angiographie standard^{10,13}. Au-delà de l'expansion maximale de l'artère et au fur et à mesure que la lésion prend de l'ampleur, il y a une sténose graduelle de la lumière artérielle avec perturbations hémodynamiques, se produisant relativement tard^{10,21}. Ainsi, la très grande majorité des plaques athéromateuses sont asymptomatiques^{9,12}. Il est intéressant de noter que la pathophysiologie de l'athérosclérose est semblable d'une ethnie à l'autre et d'un sexe à l'autre²².

La majorité des événements aigus associés à la maladie coronarienne athérosclérotique sont associés à une rupture (environ 70%) ou à une érosion (environ 30%) de la plaque avec athérothrombose subséquente, et non à une sténose par la plaque athéromateuse en soi. Les nodules calcifiés et l'hémorragie au sein de la plaque sont beaucoup moins fréquemment la cause de syndromes coronariens aigus^{9,10,14}. Bref, il existe des déterminants permettant de

mieux prédire la survenue de SCA. Entre autres, la vulnérabilité, la taille et la proximité de la plaque dans l'arbre coronarien, le type et la taille du thrombus, en plus de l'état inflammatoire systémique et sanguin peuvent être corrélés aux conséquences cliniques de l'athérosclérose⁹. La **Figure 6** décrit les étapes physiologiques menant aux syndromes cardiaques cliniques mentionnés.

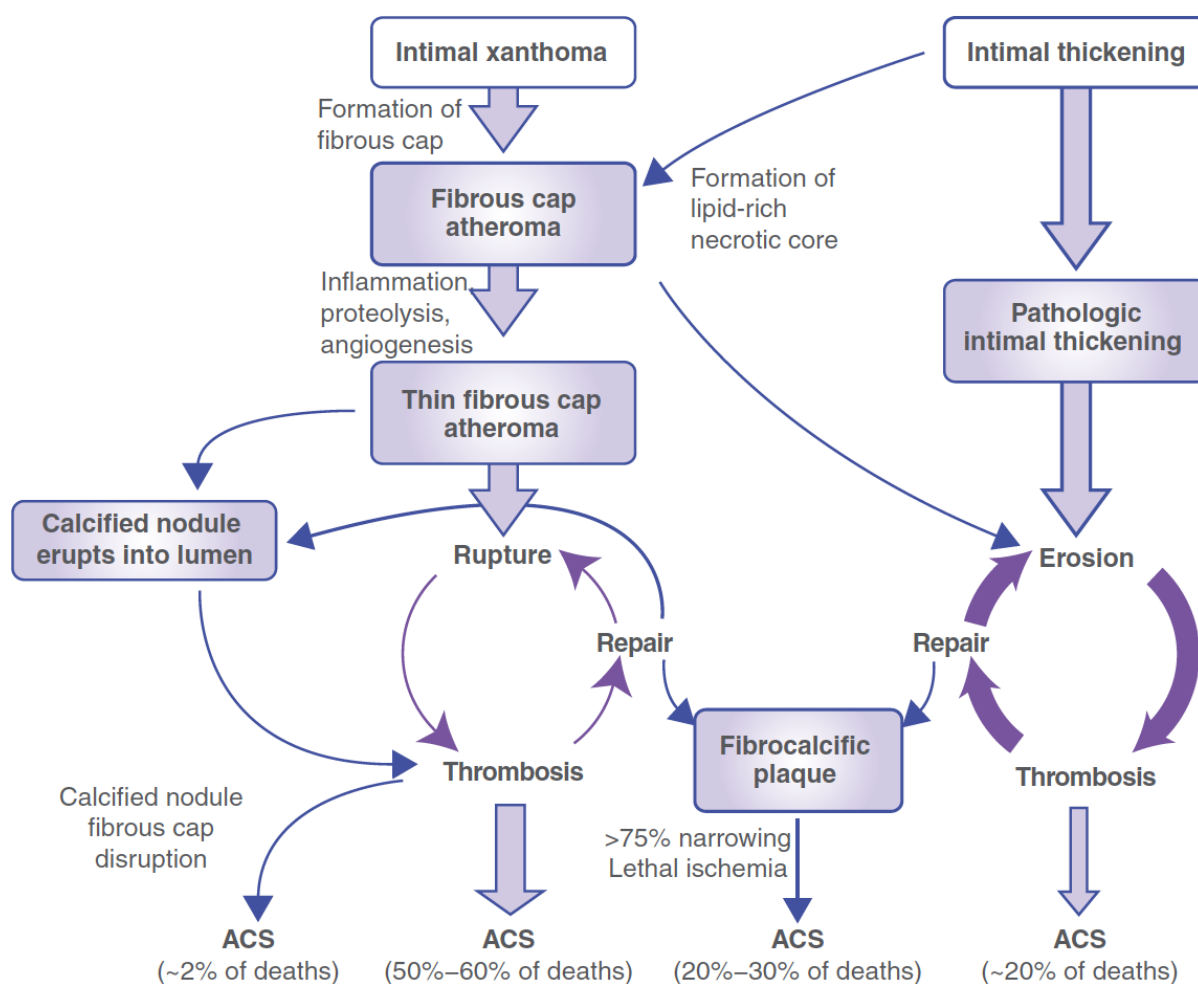


Figure 6. Pathophysiologie du développement de l'athérosclérose dans les syndromes coronariens aigus

Figure tirée de Insull, 2009²². Reproduction autorisée par « Elsevier ». Tous droits réservés.

En résumé, les cellules endothéliales activées par les LDL modifiés permettent l'adhésion de monocytes, qui sont transformés en macrophage dans l'espace sous-endothélial. Ces derniers accumulent des LDL modifiés et deviennent des cellules spumeuses. Les différents marqueurs inflammatoires impliqués causent une accumulation de cellules musculaires lisses et de matrice extracellulaire (collagène) dans l'espace sous-endothélial. Un centre nécrotique se développe au sein de la lésion secondaire à l'apoptose des macrophages, ce qui exacerbe davantage la réaction inflammatoire. Une rupture de la plaque d'athérosclérose avancée libère des substances pro-coagulantes menant à la formation d'un thrombus⁴. Bref, le développement de l'athérosclérose est un cercle vicieux; l'inflammation alimente constamment la pathologie¹⁷.

1.2.2 L'athérombose

L'endothélium athérosclérotique est dysfonctionnel, c'est-à-dire qu'il manifeste un état de vasoconstriction paradoxale et un état pro-thrombotique, entre autres via une adhérence augmentée des plaquettes^{9,17,23}. D'ailleurs, en plus du type de plaque, la dysfonction endothéliale prédit indépendamment le risque d'événements cardiovasculaires aigus. Ces derniers se produisent avec l'action des métalloprotéinases et la perturbation de la plaque, entraînant l'exposition du collagène sous-endothélial et l'initiation de la coagulation^{9,17}.

En bref, la réponse hémostatique englobe l'hémostase primaire et la cascade de coagulation, se produisant en parallèle. La première dépend d'une interaction entre les plaquettes et l'endothélium exposé. La seconde, quant à elle, implique plusieurs facteurs de coagulation sanguins, recrutés par les plaquettes ou le facteur tissulaire sous-endothélial (*tissue factor*) exposé. La cascade de coagulation (**Figure 7**) permet de stabiliser le caillot tout en limitant son expansion, par un système anticoagulant et fibrinolytique¹⁹.

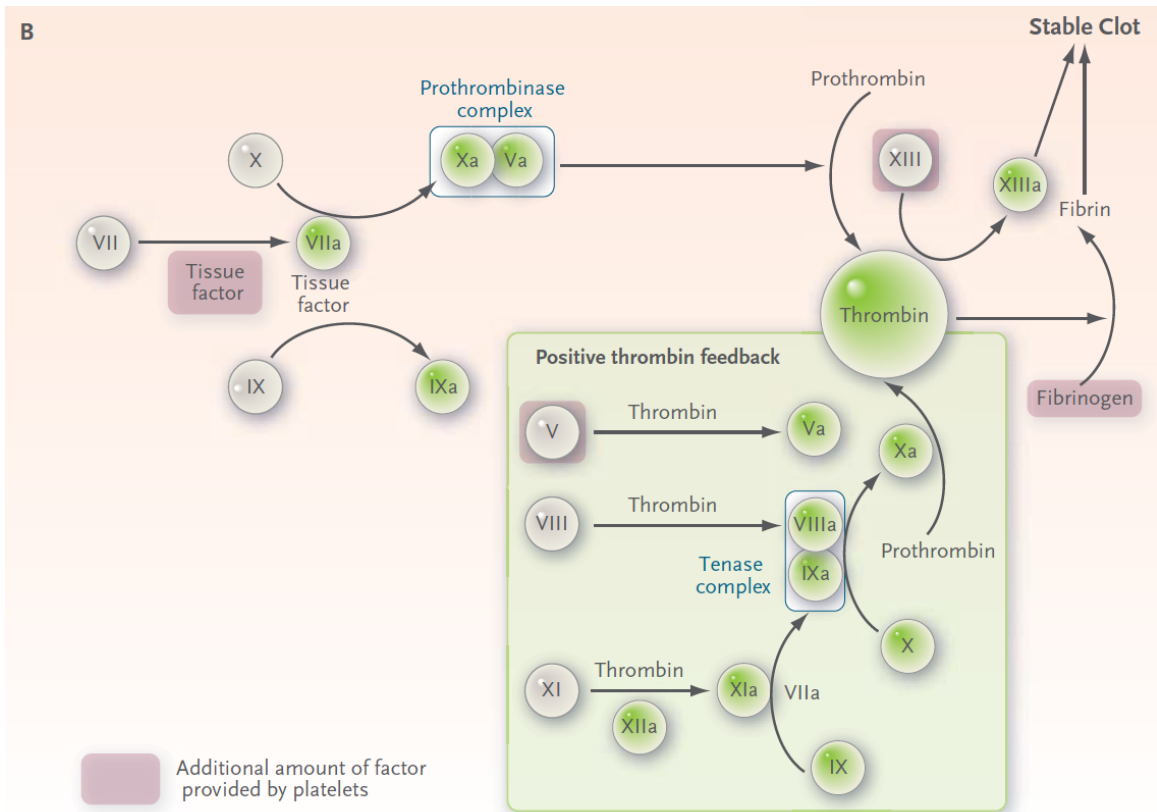


Figure 7. Cascade de coagulation.

Reproduced with permission from Borisoff, 2011¹⁹. Copyright Massachusetts Medical Society.

L'hémostase primaire implique une adhésion, une activation et une sécrétion plaquettaire (**Figure 8**). Elle permet une protection physiologique contre l'hémorragie associée à un dommage vasculaire^{18,19}. L'adhésion se produit lorsque les plaquettes sanguines s'accrochent à la matrice sous-endothéliale exposée. En effet, les cellules endothéliales endommagées expriment le facteur de von Willebrand reconnu par la glycoprotéine GpIb/V/IX plaquettaire. Il y a donc activation des plaquettes⁹. Celles-ci relâchent le contenu de leurs granules, dont la sérotonine, l'adénosine diphosphate (ADP), la thromboxane A₂ (TXA₂), l'endothéline et le facteur activateur de plaquettes. L'ADP et la TXA₂ ont un rôle particulièrement important. Également, les plaquettes expriment deux récepteurs à ADP, soient P2Y₁ et P2Y₁₂¹⁸. L'activation plaquettaire est donc stimulée de façon autocrine et paracrine par les diverses molécules libérées. Le tout stimule une agrégation plaquettaire subséquente et une

vasoconstriction. Avec la cascade de coagulation, il y a formation de thrombus qui peut gêner le flux sanguin et devenir cliniquement manifeste⁹. À noter que différentes substances neurohormonales libérées, dont l'endothéline, créent une vasoconstriction et contrent l'effet vasodilatateur de la prostacycline et de le monoxyde d'azote (NO)¹⁹.

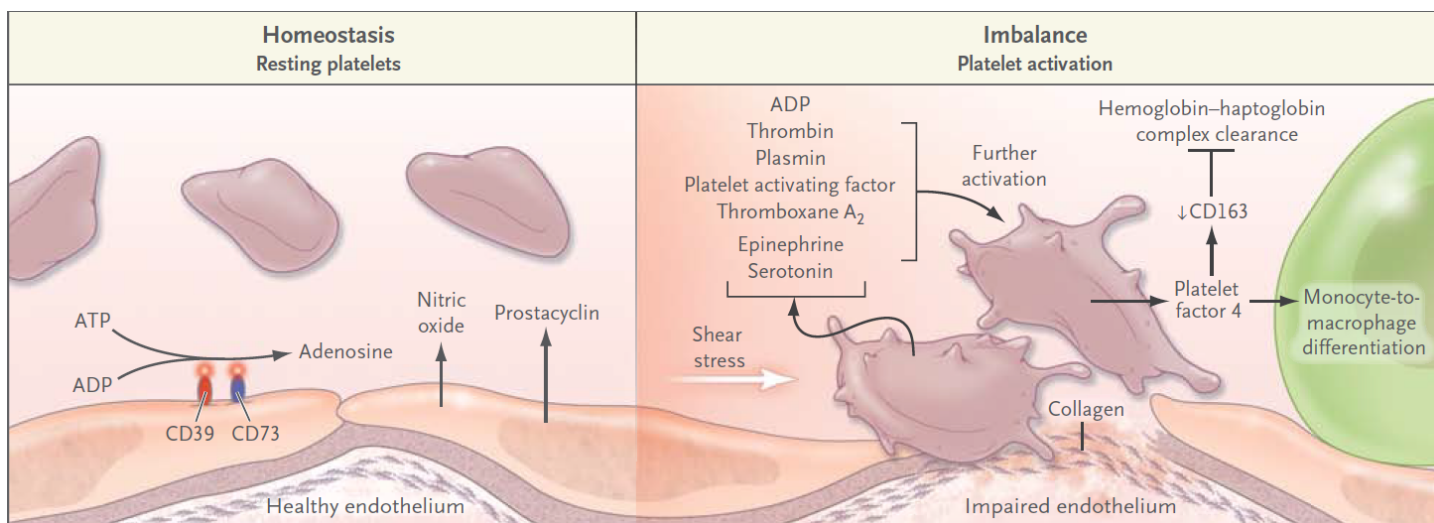


Figure 8. Activation plaquettaire lors de rupture endothéliale.
 Reproduced with permission from Borisoff, 2011¹⁹. Copyright Massachusetts Medical Society.

Fait intéressant, les différentes voies de l'hémostase convergent vers l'activation d'un récepteur particulier, GpIIb/IIIa. En effet, la glycoprotéine IIb/IIIa (**Figure 9**) est le principal récepteur impliqué dans l'adhésion et l'activation des plaquettes durant la thrombose, entre autres via le fibrinogène, stabilisateur^{17,18}. La cellule endothéliale joue un rôle important dans la formation de thrombus, notamment via la voie de l'acide arachidonique. Ce dernier est transformé en prostacycline par l'endothélium grâce à COX-1 ou COX-2 (cyclooxygénase). La prostacycline, quant à elle, inhibe la fonction plaquettaire¹⁸, permettant de créer un équilibre. En résumé, les plaquettes jouent un rôle crucial dans le développement de l'athérosclérose, via leurs médiateurs inflammatoires, et des syndromes coronariens aigus, via leur place centrale dans l'initiation de l'athéromatose^{18,19}. Les mécanismes de l'hémostase primaire ainsi que de la cascade de coagulation constituent des cibles thérapeutiques intéressantes, dont certaines seront abordées dans le **Chapitre 2**.

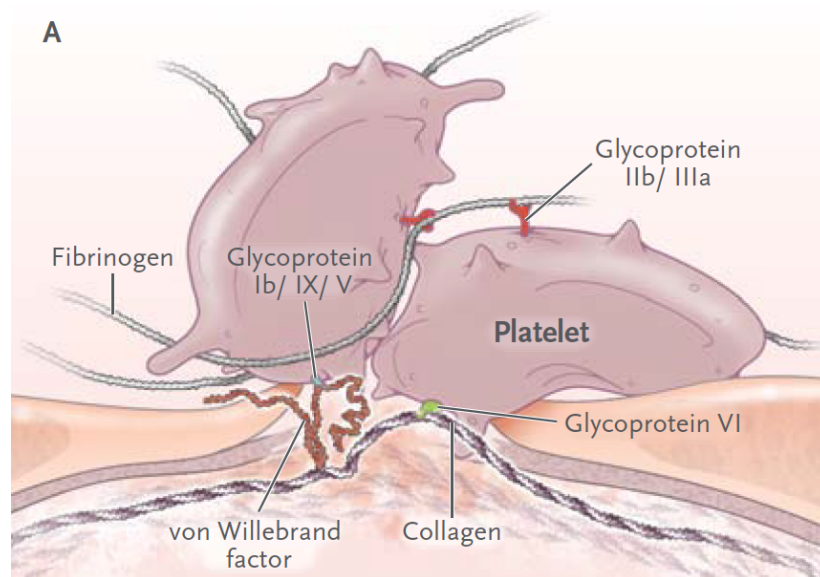


Figure 9. Interaction entre les plaquettes via le récepteur GpIIb/IIIa.
Reproduced with permission from Borissoff, 2011¹⁹. Copyright Massachusetts Medical Society.

1.2.3 Les biomarqueurs associés à l'ischémie cardiaque

Il existe différents biomarqueurs pour la maladie cardiaque athérosclérotique et les SCA. Dans le **Tableau 2**, une brève liste des biomarqueurs d'intérêt clinique est présentée.

Tableau 2. Biomarqueurs cardiovasculaires.

	BIOMARQUEUR	CARACTÉRISTIQUE PRINCIPALE	COMMENTAIRES
INSULTE CELLULAIRE	Troponine et troponine-HS	Protéines impliquées dans le complexe de contraction cellulaire cardiaque. Élévation des troponines 4 à 6 heures après l'ischémie cardiaque et demeurent élevées pendant près d'une semaine. Troponines à haute sensibilité (troponines-HS) sont détectables 1h après l'IAM, même après un dommage myocardique mineur ^{8,24} .	<p><i>Étalon-or</i> pour la détection du dommage myocardique²⁵.</p> <p>Spécifique au muscle cardiaque. Permet de distinguer l'angine instable de l'infarctus aigu du myocarde²⁴.</p> <p>Spécificité limitée chez sujets avec insuffisance rénale^{8,24}.</p> <p>Élévation lors de dissection aortique et d'embolie pulmonaire, entre autres⁸.</p> <p>Indicateur du pronostic, proportionnelle à la taille de l'insulte myocardique (en lien avec la mortalité à court et long terme)⁸.</p>
	Créatine kinase-MB (CK-MB)	Enzyme du muscle cardiaque qui s'élève rapidement après l'infarctus ²⁴ . Diminution rapide après IAM ⁸ .	Permettent de détection des ré-infarction grâce à leur déclin rapide. Possibles faux positifs chez les sujets avec trauma ou dommage musculaire ²⁴ .

INFLAMMATION	<p>Protéine C-réactive (CRP)</p>	<p>Marqueur inflammatoire synthétisé par le foie, qui semble être corrélé aux premiers signes d'athérosclérose¹⁷. Marqueur inflammatoire non spécifique²⁶; prédicteur indépendant d'événements cardiovasculaires et de progression d'athérosclérose coronarienne²⁶.</p>	<p>Reconnue comme un prédicteur indépendant de maladie cardiaque athérosclérotique chez les sujets sains. Prédicteur adverse chez individus avec IAM^{25,27}. Utilisation limitée par sa faible spécificité.</p>
	<p>Homocystéine</p>	<p>Acide aminé qui endommage les cellules endothéliales^{12,13} et qui exacerbe la prolifération de SMCs dans la chape fibreuse¹³. Substance prothrombotique¹⁷.</p>	<p>Facteur de risque additionnel pour l'athérosclérose.</p>
AUTRES	<p><i>Brain natriuretic peptide (BNP) et n-terminal proBNP (NT-proBNP)</i></p>	<p>Neuro-hormone myocardique synthétisée au niveau auriculaire et ventriculaire. Libérée en cas de pression sur la paroi, auriculaire et ventriculaire, et lors d'ischémie cardiaque²⁴.</p>	<p>Utilisés principalement en insuffisance cardiaque²⁵. Indicateur de pronostic, avec la troponine⁸. BNP : élévation associée à une récurrence d'événements augmentée²⁴. NT-proBNP : demi-vie plus longue que BNP; fortement lié à la mortalité; stratification du risque plus précise²⁴; permet</p>

		amélioration du diagnostic d'infarctus conjointement avec TnT ²⁸ .
LDL oxydés	Médiateurs inflammatoires fortement liés aux événements cardiovasculaires ²⁵ et à l'athérosclérose sous-jacente.	Diminution des oLDL avec un traitement de statines ²⁵ .
Lipoprotéine(a)	Lipoprotéine avec chaîne homologue au plasminogène, causant un état pro-thrombotique ²⁹ ; associée à un effet pro-inflammatoire ²⁰ .	Présence indique un risque élevé de maladie coronarienne athérosclérotique (MCAS) via une dysfonction endothéliale supérieure aux LDL natifs oxydés ²⁹ .
Ratio apolipoprotéine B/apolipoprotéine A-1²⁶	Plus précis que le ratio cholestérol total/HDL ²⁶ .	50% du risque d'infarctus du myocarde est attribuable à ce ratio ²⁶ .

1.3 Les facteurs de risque et la présentation clinique des syndromes coronariens aigus

L'étiologie de l'athérosclérose, responsable de l'IAM de type I⁸, dépend d'éléments environnementaux et génétiques. L'interaction et la synergie entre ceux-ci rendent l'étude épidémiologique des SCA fort complexe. Certains facteurs sont davantage liés à une prédisposition génétique, alors que d'autres s'avèrent purement environnementaux, tels que le tabac, la diète grasse et la sédentarité. L'élévation des LDL, la diminution de HDL,

l'hypertension, le diabète, le syndrome métabolique et l'histoire familiale font partie des facteurs de risque avec forte composante génétique, liée pour la majorité à multiples loci^{13,17}. À noter que l'étude cas-témoins « INTERHEART »³⁰ s'est penchée sur la question des facteurs de risque de maladie cardiovasculaire en 2004. Elle démontre que la majorité d'entre eux sont environnementaux et qu'ils ont un effet additif sur l'incidence.

Les facteurs de risque des maladies cardiovasculaires sont mieux connus depuis 1976 grâce à l'étude « Facteurs de risque du développement de maladie cardiaque coronarienne » sur la cohorte de *Framingham* au Massachussets. Dans cette étude, l'hypertension et l'élévation du cholestérol sanguin font partie des éléments directement associés aux infarctus du myocarde. D'ailleurs, ces découvertes ont permis de mieux comprendre la pathophysiologie de la maladie athérosclérotique. Différents stressors, qu'ils soient oxydatifs, hémodynamiques, biochimiques (tabac, dyslipidémie) ou inflammatoires, promeuvent l'initiation de l'athérosclérose via une augmentation de la perméabilité de l'endothélium, tel que mentionné dans la **Section 1.2.1**⁴.

Le taux de LDL circulant dans le sang est un des facteurs de risque les plus importants. En effet, dès l'enfance, les plaques athéromateuses sont proportionnelles à l'élévation de LDL sanguin⁵. De nos jours, les lignes directrices recommandent des taux de LDL de plus en plus bas pour la prévention cardiovasculaire primaire et secondaire^{31,32}. D'un autre côté, le niveau sanguin de cholestérols à haute densité (*high-density lipoproteins*, HDL) protège contre l'athérosclérose⁴. En effet, les HDL permettent d'éliminer l'excès de cholestérol des tissus périphériques¹³. Il semble que ces derniers diminuent l'incidence d'événements cardiovasculaires majeurs même chez les sujets ayant un niveau optimal de LDL avec un traitement avec des statines³³. À noter également que le rôle protecteur des HDL est quantitatif et qualitatif. En effet, la capacité d'efflux des HDL est inversement proportionnelle au développement d'athérosclérose dans la carotide, indépendamment de la concentration sanguine de HDL³⁴.

1.4 Le traitement et la prévention secondaire des syndromes coronariens aigus

Le traitement de l'infarctus du myocarde vise à rétablir le flux circulatoire artériel dans un premier temps, puis à long terme, modifier les facteurs de risque ainsi que prévenir les récurrences d'événements coronariens aigus et l'incidence d'insuffisance cardiaque.

En phase aiguë, la prise en charge de l'infarctus vise à diminuer l'ischémie en rétablissant l'équilibre entre l'apport d'oxygène et les besoins myocardiques. Ceci permet de diminuer la nécrose^{8,10} avec différents traitements, dont la thrombolyse et les antithrombotiques. Les traitements invasifs, tels que l'angioplastie primaire, permettent une destruction mécanique du thrombus et stabilisent la plaque responsable de l'occlusion. Ces derniers préviennent également la survenue d'événements cardiaques adverses, tels la défaillance cardiaque et les besoins en revascularisation subséquente³⁵. Selon la stratification du risque, les procédures percutanées peuvent être faites immédiatement pour l'IAM-ST+^{36,37} ou précocement, c'est-à-dire moins de 72h après l'événement pour un IAM-ST-^{38,39}. La thrombolyse, les anticoagulants ainsi que les aspects techniques et hémodynamiques de la prise en charge de l'IAM ne sont pas mis de l'avant dans le présent mémoire et sont discutés dans différentes lignes directrices^{8,40}.

Une fois la phase aiguë contrôlée, la modification des facteurs de risque de la MCAS occupera une place essentielle dans la prise en charge. Entre autres, l'activité physique, la cessation tabagique et l'équilibre alimentaire font partie des choix sains à adopter. Outre les interventions non-pharmacologiques, plusieurs médicaments ont modifié la mortalité et la morbidité associées à l'IAM à travers les années. En effet, l'utilisation des statines permet de diminuer la progression des plaques d'athérosclérose et de les stabiliser. Le contrôle de l'hypertension, quant à lui, est également prouvé efficace pour modifier la progression de l'athérosclérose^{8,22}. Finalement, l'utilisation d'antiplaquettaires diminue la récurrence d'infarctus du myocarde^{8,41}.

1.4.1 Les statines

La première statine (inhibiteur de la HMG-CoA réductase) a été décrite en 1976⁴. L'enzyme 3-hydroxy-3-méthylglutaryl coenzyme A (HMG-CoA) catalyse l'étape limitante de la biosynthèse de cholestérol au foie. L'inhibition de la synthèse de LDL entraîne une réduction de la concentration de LDL intrahépatique. Ceci induit l'activation des récepteurs LDL à la surface du foie, augmentant le catabolisme des LDL dans les hépatocytes⁴². Par conséquent, les statines diminuent le LDL sanguin et sont associées à une réduction de l'incidence de MCAS ainsi que d'IAM chez les sujets à risque⁴³. Parmi les multiples médicaments diminuant le cholestérol sanguin, les statines sont les plus utilisées, de par leur innocuité et leur efficacité.

Ainsi, les statines permettent de diminuer le risque cardiovasculaire de 20% à 40%, autant pour le premier événement que pour les récurrences de SCA^{4,10,22,29}. L'effet clinique des statines est décelable aussi précocement que quatre mois après leur initiation²². Il est également postulé que les statines modifient qualitativement les plaques athéromateuses et les stabilisent, via une diminution de la thrombogénicité et une augmentation de la composante fibreuse. Ce médicament permet donc une amélioration de la plaque via sa taille, sa composition cellulaire et chimique ainsi que ses activités biologiques d'inflammation et de métabolisme du cholestérol. En outre, la dysfonction endothéliale est prévenue par les statines. En revanche, si les statines peuvent effectivement freiner la progression de l'athérosclérose, leur capacité à faire régresser la plaque demeure controversée. Ainsi, la diminution des LDL permet de moduler l'inflammation, la thrombose et la fonction vasomotrice^{29,44}. Certaines études démontrent également une amélioration de la perfusion cardiaque avec traitement de statines²⁹. La diminution du risque relatif, quant à elle, est proportionnelle à la diminution des concentrations de LDL²². En effet, il n'est pas rare que les cliniciens aient recouru à un traitement agressif pour les sujets à risque, puisque ce dernier a fait ses preuves²⁶.

D'ailleurs, il est postulé que les statines ont des effets pléiotropiques LDL-indépendants, tels qu'une action anti-inflammatoire par les ROS ou le NO^{27,29,42}. Ainsi, en plus de l'effet direct sur la plaque d'athérome, les statines modulent les marqueurs inflammatoires, permettant une diminution de la CRP chez les sujets à haut risque, les patients avec angine stable et ceux avec

SCA^{44,45}. À noter que le traitement répandu avec les statines ne fait pas l'unanimité dans la communauté scientifique⁴⁶. Par contre, ce débat dépasse le cadre de ce travail.

Quelques essais cliniques

Il existe de multiples études sur les statines en prévention primaire et en prévention secondaire, chez les patients à haut risque et même à risque intermédiaire⁴⁷. Le traitement hypolipémiant intensif a également été étudié dans divers essais cliniques. Entre autres, l'essai *Pravastatin or Atorvastatin Evaluation and Infection Trial* (PROVE-IT) compare un traitement de statines à doses élevées au régime courant à doses standards chez des patients ayant récemment subi un SCA. Une amélioration de la mortalité ainsi que de l'incidence d'événement cardiovasculaires majeurs est notée dans la population sous traitement intensif⁴⁸. À noter que le traitement agressif de la dyslipidémie ne se résume pas uniquement aux statines. En effet, l'étude *Improve Reduction of Outcomes : Vytorin Efficacy International Trial* (IMPROVE-IT) ajoute l'ezetimibe à un traitement intensif de statines chez des individus au congé d'une hospitalisation pour SCA. Cette molécule permet de réduire l'absorption intestinale de cholestérol. L'étude démontre une diminution du risque cardiovasculaire associée à une baisse de 24% du taux sanguin de LDL permise grâce à l'ajout du second médicament⁴⁹.

Inhibiteurs du PCSK9

Il va de soi de mentionner les inhibiteurs de la pro-protéine convertase subtilisine–kexine type 9 (PCSK9) qui ont vu le jour dans les dernières années. La PCSK9 est une enzyme qui se lie aux récepteurs LDL et mène à leur dégradation. Les anticorps monoclonaux contre la PCSK9 empêchent cette enzyme de se lier aux récepteurs. Ils permettent donc d'augmenter les récepteurs LDL à la surface de l'hépatocyte et d'accroître l'élimination des LDL par le foie. Ainsi, différents inhibiteurs du PCSK9 (alirocumab⁵⁰, bococizumab⁵¹ et evolocumab⁵²) ont été étudiés chez les patients sous statines à haut risque cardiovasculaire et ont démontré un bénéfice supplémentaire.

1.4.2 Les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine

Le système rénine-angiotensine-aldostérone (SRAA) est important pour le contrôle de la tension artérielle et a un rôle dans le remodelage vasculaire. Ce système module la tension artérielle en fonction des pressions dans l'artère rénale afférente⁵³. Une diminution de pression de perfusion est détectée par les cellules juxtaglomérulaires rénales, qui à leur tour sécrètent la rénine, une hormone et enzyme produite par le rein. Via le SRAA, elle permet un contrôle de la pression ainsi qu'une homéostasie sodique et hydrique. En effet, la rénine, étape limitante, initie une cascade enzymatique menant à l'angiotensine II⁵⁴. Tout d'abord, la rénine clive son substrat, l'angiotensinogène hépatique pour donner de l'angiotensine I. Cette angiotensine est par la suite convertie en angiotensine II par l'enzyme de conversion de l'angiotensine I⁵⁵. L'angiotensine II ainsi produite stimule la sécrétion d'aldostérone par les surrénales. Ce minéralocorticoïde agit au niveau rein et permet de rétablir le volume sanguin via une rétention sodique rénale, qui engendre la réabsorption secondaire d'eau. Le système rénine-angiotensine-aldostérone permet donc d'augmenter la pression artérielle⁵³ (**Figure 10**).

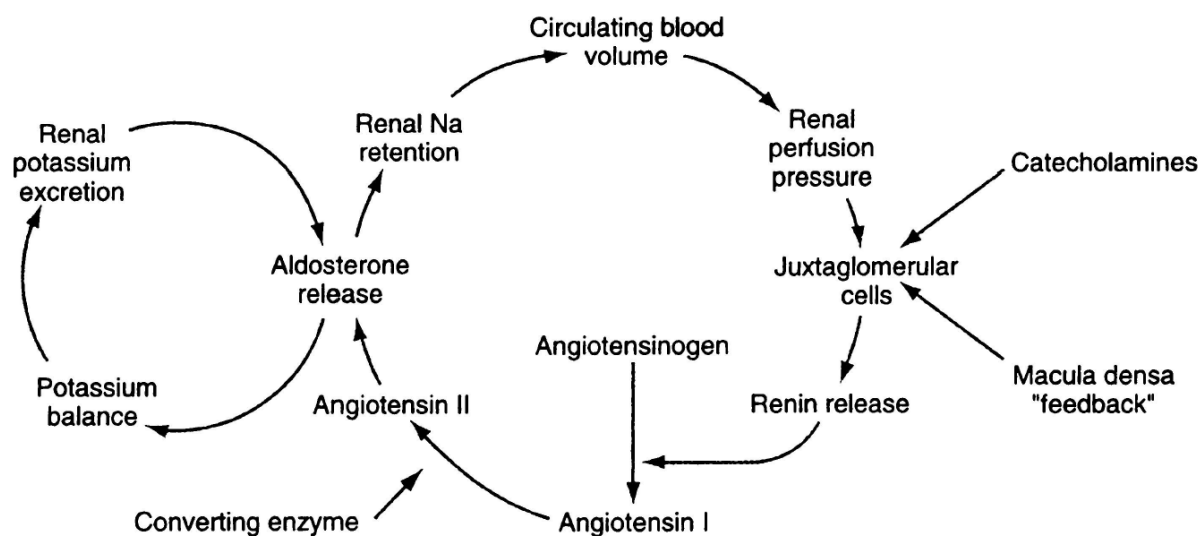


Figure 10. Relations hydro-potassiques dans le système rénine-angiotensine-aldostérone

Figure tirée de Williams, 2005⁵³. Reproduction autorisée par « Springer Nature ». Tous droits réservés.

Il existe 2 classes de médicaments régulant à la baisse du SRAA : les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (IECA) et les antagonistes du récepteur de l'angiotensine (ARA). Les bienfaits de ces agents pharmacologiques sur le développement de l'athérosclérose et des SCA sont liés à 2 mécanismes. Tout d'abord, l'hypertension en soi est un facteur de risque pour l'athérosclérose, par dommage mécanique à l'endothélium secondaire au cisaillement (*shear stress*)¹⁵. L'IECA diminue ainsi la pression artérielle en inhibant l'angiotensine II, un vasopresseur menant à une vasoconstriction¹⁷. D'un autre côté, l'angiotensine II stimule directement la prolifération et la migration des SMCs au foyer athérosclérotique^{13,29}. De plus, cette hormone exacerbe l'inflammation par la formation de radicaux libres, ce qui augmente l'oxydation des LDL¹⁷. Ainsi, outre la prévention primaire de l'hypertension et la diminution de la mortalité dans la population à haut risque d'événements cardiovasculaires⁵⁶, les IECA améliorent la survie des individus avec dysfonction ventriculaire gauche post-infarctus⁴. Cette molécule est utilisée en première ligne à moins d'intolérance du sujet traité. Dans ce cas, les ARA sont prescrits²⁶ (**Section 1.4.3**). Bref, selon plusieurs sources, ces médicaments agissant sur le SRAA permettent également de diminuer la mortalité et les événements cardiovasculaires, via leur action sur la tension artérielle et leur effet antiathérosclérotique^{26,56}.

Quelques essais cliniques

Depuis plus de 25 ans, les IECA font partie d'études cliniques en post-infarctus afin de déterminer l'effet sur la survie des patients. La modulation du remodelage ventriculaire par ce médicament rend son utilisation clinique fort intéressante après ischémie cardiaque. Les IECA et les ARA sont également bien établis en insuffisance cardiaque d'étiologies diverses, sujet non abordé dans le présent mémoire.

L'essai *The Survival and Ventricular Enlargement Trial (SAVE)* étudie l'impact de l'utilisation à long terme d'un IECA (captopril) sur la mortalité et morbidité post-infarctus chez les patients avec une dysfonction ventriculaire asymptomatique (fraction d'éjection du ventricule gauche, FEVG<40%). Pfeffer et. al. démontrent une amélioration de la survie de ces patients peu importe les autres molécules administrées conjointement. L'effet sur la mortalité est noté

aussitôt tôt qu'un an après le début de l'étude⁵⁷. L'étude *The Trandolapril Cardiac Evaluation Trial* (TRACE), quant à elle, relève d'un autre IECA utilisé à long terme dans une population similaire, avec dysfonction ventriculaire systolique. La conclusion de l'étude, après un suivi de 24 à 50 mois, révèle également « une diminution significative du risque de mortalité total, de la mortalité de cause cardiovasculaire, de la mort subite et du développement d'une insuffisance cardiaque sévère »⁵⁸. Finalement, l'essai clinique *The Acute Infarction Ramipril Efficacy Trial* (AIRE) étudie une population avec insuffisance cardiaque symptomatique post-infarctus (*New Year Heart Association*, NYHA grade IV), groupe exclus des 2 autres études et de la plupart des grandes cohortes randomisées. Les investigateurs démontrent une amélioration de la survie générale, avec une diminution de la mortalité de toute cause. L'effet de la molécule est rapidement noté, moins de 30 jours après le début de son utilisation⁵⁹.

1.4.3 Les antagonistes du récepteur de l'aldostérone

Les ARA sont des antihypertenseurs, tel que décrit précédemment. Fait intéressant : une pression systolique augmentée est nettement plus dommageable que la pression diastolique. Outre les effets bénéfiques sur l'athérosclérose et les SCA, un contrôle de la tension artérielle permet également de diminuer l'incidence d'insuffisance cardiaque et de sa décompensation⁵⁶. L'utilisation des ARA demeure somme toute limitée vu les risques accrus d'hyperkaliémie arythmogène lors de combinaison avec d'autres bloqueurs du SRAA, tels les IECA.

Quelques essais cliniques

L'étude *The Randomised Aldactone Evaluation Study* (RALES) regarde l'effet d'un ARA chez des patients souffrant d'insuffisance cardiaque avec une FEVG de moins que 35%. Les patients avaient déjà un traitement d'IECA, entre autres. Cet essai démontre une diminution du décès par défaillance cardiaque terminale et par mort subite cardiaque, et donc une augmentation de la survie dans la population sous aldactone. Une réduction du taux d'hospitalisation et de la mortalité est notée aussi tôt que 2 à 3 mois après le début du traitement. Dans cette étude,

aucune différence dans l'incidence d'hyperkaliémie sévère est présente entre l'aldactone et le placebo, contrairement à la croyance courante⁶⁰.

L'essai clinique *Eplerenone Post-Acute Myocardial Infarction Heart Failure Efficacy and Survival Study* (EPHESUS), quant à lui, tente de démontrer les bienfaits d'un traitement avec un ARA après un IAM, en plus du traitement usuel. Cette étude s'adresse aux patients ayant une dysfonction ventriculaire et une insuffisance cardiaque secondaire à leur SCA. Bertram et al. confirment une amélioration de la survie par diminution de mortalité de toute cause⁶¹.

À noter que la combinaison d'un IECA (captopril) avec un ARA (valsartan) a été comparée à l'utilisation de chacune des molécules seules dans l'étude *Valsartan, Captopril, or Both in Myocardial Infarction Complicated by Heart Failure, Left Ventricular Dysfunction, or Both* (VALIANT). Cet essai démontre que, chez des individus à haut risque de complications cardiovasculaires après un IAM, la combinaison des deux molécules augmente le taux de complications et n'a aucun effet de diminution de mortalité. Le valsartan utilisé seul, quant à lui, montre des bénéfices dans cette population, similaires à l'IECA en monothérapie⁶².

1.4.4 Les β -bloquants

Les β -bloquants diminuent la mortalité après un infarctus transmural⁴. Leur mécanisme d'action dépend du système nerveux sympathique, plus précisément des récepteurs β -adrénergiques cardiaques (β_1 et β_2). À l'état physiologique, ces derniers répondent à une stimulation par la noradrénaline. Il s'en suit, entre autres, une augmentation de la force de contraction du myocarde. Cette action, dite inotrope positive, est induite principalement par une augmentation du calcium intracellulaire via les récepteurs calciques membranaires. Ainsi, les β -bloquants engendrent un effet inverse, inotrope négatif, notamment par une modulation de l'homéostasie calcique⁶³. Ils ont également un effet chronotrope négatif, c'est-à-dire qu'ils diminuent la fréquence cardiaque. Ces actions permettent une diminution de la consommation d'oxygène par les cardiomyocytes⁶⁴. Au niveau métabolique, les β -bloquants diminuent la lipolyse induite par les catécholamines, ce qui réduit la concentration sanguine d'acides gras libres. Une régulation à la baisse de la β -oxydation des acides gras se produit secondairement à la diminution de la concentration de ce substrat. Il existerait également une inhibition de l'activité de la CPT-1 par ce médicament. Ainsi, les cellules cardiaques redirigent leur métabolisme vers l'oxydation du glucose, ce qui permet une meilleure efficacité énergétique traduite par un meilleur ratio dioxyde de carbone produit sur oxygène consommé⁶⁴. Le métabolisme cardiaque est abordé en détail dans le **Chapitre 3**. À noter qu'il s'agit ici d'un bref résumé du mécanisme d'action de ces antagonistes β -adrénergiques cardiaques⁶³.

Les β -bloquants ont plusieurs indications. Entre autres, ils peuvent être utilisés pour contrôler l'hypertension. Par contre, ils ont été surpassés par d'autres antihypertenseurs avec moins d'effets indésirables²⁶. Ce médicament est également prescrit en insuffisance cardiaque et en post-infarctus, où il a fait ses preuves depuis plusieurs années^{26,65}. En post-IAM, les β -bloquants sont utilisés chez les patients avec dysfonction ventriculaire, notamment une FEVG inférieure à 40%⁸. En outre, chez les insuffisances cardiaques, les β -bloquants limitent l'activation réflexe du système sympathique, qui devient délétère à long-terme. Ceci permet d'améliorer la fonction cardiaque et de limiter le remodelage ventriculaire⁶³.

Quelques essais cliniques

Avant l'avènement des interventions coronariennes percutanées, certains essais cliniques regardent l'effet de β -bloquants sélectifs β_1 immédiatement après un infarctus aigu du myocarde. Parmi ceux-ci, l'étude *First International Study of Infarct Survival* (ISIS-1) administre de l'aténolol intraveineux dans les 12 premières heures puis par voie orale sur 7 jours suivant un IAM-ST+. La majorité des patients recevait également un traitement prolongé de β -bloquants. Cette étude démontre une amélioration de la survie à 7 jours et à 1 an, avec diminution des événements cardiaques fatals⁶⁶. Plusieurs années plus tard, le groupe du *Clopidogrel and Metoprolol in Myocardial Infarction Trial* (COMMIT) démontre que l'utilisation d'un β -bloquant par voie intraveineuse en IAM-ST+ améliore le taux de ré-infarctus et de fibrillation ventriculaire. Par contre, cette étude déconseille l'utilisation chez les patients en choc cardiogénique⁶⁷.

1.4.5 Les antithrombotiques

Étant donné le rôle de l'athérombose dans les SCA, il est bien établi que les antithrombotiques (antiplaquettaires et anticoagulants) sont essentiels dans les stratégies de traitement des IAM⁴¹. L'image ci-dessous présente les principales cibles pharmacologiques de médicaments utilisés pour le contrôle de l'athérombose (**Figure 11**). Certaines molécules antiplaquettaires d'intérêt seront abordées en détail dans le présent mémoire (**Chapitre 2**).

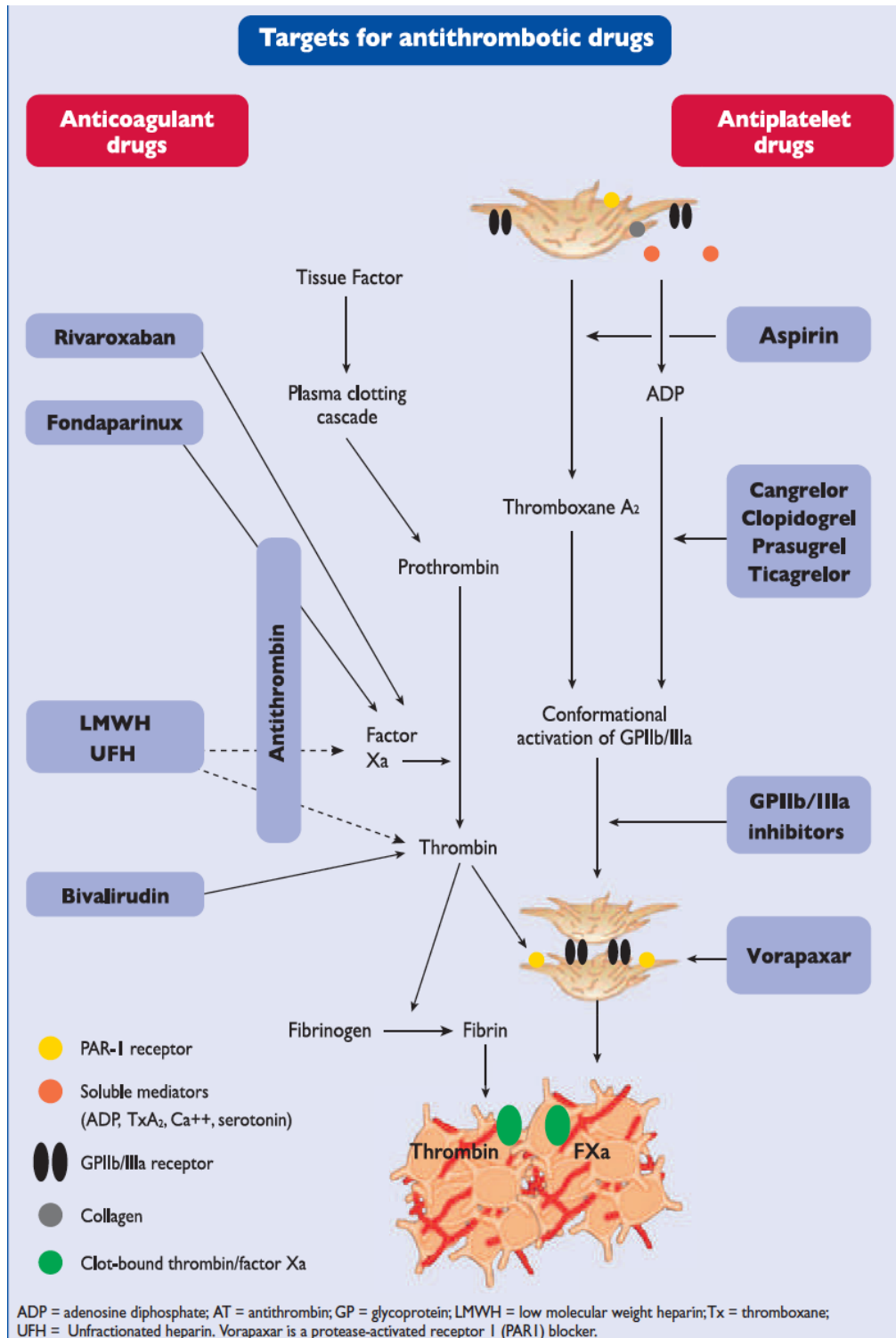


Figure 11. Cibles thérapeutiques des médicaments anti-thrombotiques
 Figure tirée de Roffi, 2016⁸. Reproduction autorisée par « Oxford University Press ». Tous droits réservés.

Les antiplaquettaires sont utilisés en phase aiguë et pour le traitement préventif dans les SCA. Ils permettent une diminution de 22% du risque relatif d'événements vasculaires⁷. Leur interaction avec l'hémostase physiologique prévient l'athérombose¹⁸. De plus, leur mécanisme d'action permet de contrôler l'état pro-thrombotique présent après l'événement cardiaque⁷. Les antiplaquettaires peuvent être utilisés en prévention primaire, c'est-à-dire avant toute manifestation clinique de maladie athérosclérotique, ou en prévention secondaire, dans le but d'éviter des récurrences. L'utilisation des antiplaquettaires en prévention primaire demeure controversée. Le **Chapitre 2** aborde quatre antiplaquettaires ainsi que les essais cliniques d'intérêt pour ce mémoire.

À noter que les anticoagulants ont un rôle central dans le traitement des SCA. Leur action principale est de diminuer l'activité de la thrombine ou d'inhiber sa création⁸. Entre autres, l'héparine non-fractionnée est utilisée dans la phase aiguë des soins hospitaliers pour les IAM. L'héparine à bas poids moléculaire a également été étudiée en SCA, avec une supériorité de l'effet, mais quelques contre-indications à considérer. Les études suivantes abordent les héparines : ESSENCE⁶⁸, TIMI-11B⁶⁹ et SYNERGY⁷⁰. Les anticoagulants ne seront pas traités en détail.

Chapitre 2 – Les antiplaquettaires : l’aspirine, le clopidogrel, le prasugrel et le ticagrelor

Ce chapitre traite de quatre antiplaquettaires d’intérêt pour le présent mémoire. Leur mécanisme d’action et leurs indications cliniques sont présentés, en plus d’études cliniques comparant ces médicaments. Le premier, l’aspirine, a des effets anti-inflammatoires et antiplaquettaires, alors que le clopidogrel, le prasugrel et le ticagrelor s’avèrent plus sélectifs dans leur action antiplaquettaire¹⁹. À noter que le double traitement antiplaquettaire est recommandé par les lignes directrices Canadiennes⁷¹, Américaines⁷² et Européennes⁷³. D’autres molécules inhibitrices de l’agrégation des thrombocytes, tels que les inhibiteurs des glycoprotéines IIb/IIIa, sont discutés ailleurs^{8,74}.

2.1 L’aspirine

L’aspirine constitue le choix primaire pour le traitement antiplaquettaire chez les individus avec SCA⁷. Il s’agit également de l’antiplaquettaire le plus utilisé⁷⁵, en plus d’être bien toléré et abordable⁷. Ses effets thérapeutiques semblent dépendre de composantes inflammatoires et antiplaquettaires.

2.1.1 Le mécanisme d’action

Les plaquettes s’activent en réponse à différents agonistes, tels que l’ADP et la thrombine (**Section 1.2.2**). Une fois ces derniers liés aux thrombocytes, les cyclooxygénases, COX-1 et COX-2, sont stimulées. Tel qu’illustré à la **Figure 12**, ces enzymes catalysent la production de différentes substances à partir de l’acide arachidonique contenu dans les phospholipides membranaires, dont la thromboxane A₂ (TXA₂) et la prostaglandine I₂ (PGI₂). La première engendre une agrégation plaquettaire irréversible ainsi qu’une vasoconstriction. La seconde présente des effets opposés, c’est-à-dire une inhibition de l’agrégation plaquettaire et une vasodilatation. À noter que la TXA₂ est principalement générée par la COX-1 dans les thrombocytes alors que la PGI₂ dépend davantage de la COX-2 des cellules endothéliales⁷⁶.

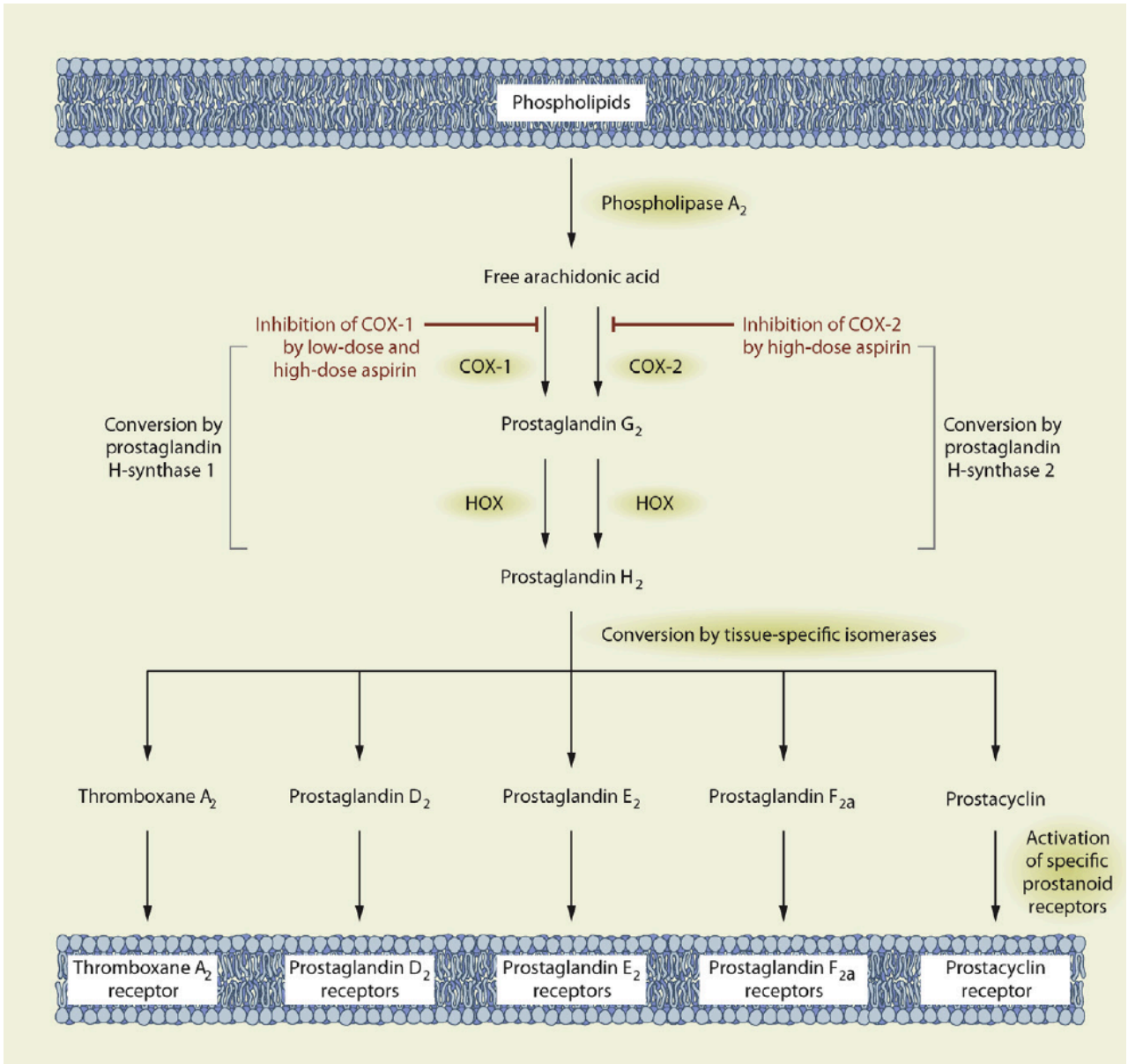


Figure 12. Mécanisme d'action de l'acide acétylsalicylique

Figure tirée de Berger, 2013⁷⁷. Reproduction autorisée par « Elsevier ». Tous droits réservés.

L'aspirine, acide acétylsalicylique (AAS), inhibe irréversiblement les deux cyclooxygénases plaquettaires. Par conséquent, cette inhibition se maintient dix (10) jours, soit la durée de vie typique des thrombocytes⁸. À faibles doses, l'aspirine agit principalement sur la COX-1, alors que les hautes doses permettent d'inhiber la COX-2. Ceci explique l'effet antiplaquettaire retrouvé à faibles doses et la composante davantage anti-inflammatoire des doses plus élevées⁷⁶.

2.1.2 Les indications de traitement

L'AAS garde plusieurs indications de traitement en cardiovasculaire, incluant la MCAS stable, les SCA, les accidents vasculaire-cérébraux (AVC) et l'artériopathie périphérique⁷⁶. Lors d'un SCA, l'aspirine est prescrite en phase aiguë et dans le cadre de prévention secondaire d'événements cardiovasculaires. L'utilisation de l'aspirine à dose élevée dans les 24 heures suivant un infarctus présumé permet une diminution de 25% de la mortalité à cinq (5) semaines. Les sujets avec angine instable, quant à eux, voient une diminution de 50% du risque d'IAM avec traitement d'aspirine^{8,18}. À noter que le rôle de l'AAS est mieux établi dans la prévention secondaire, alors qu'il demeure controversé en prévention primaire⁷⁶, débat qui dépasse le cadre de ce mémoire.

En prévention secondaire chez les sujets à haut risque, l'aspirine diminue les infarctus non-fatals, les ACV et le décès par cause vasculaire de 25%²⁶. Actuellement, selon les données du *US Preventive Services Task Force 2016*, les experts cliniques suggèrent l'utilisation de l'aspirine à faible dose en prévention cardiovasculaire primaire chez les patients de 50 à 59 ans avec un risque cardiovasculaire sur 10 ans de plus de 10% (tel que calculé par l'*American Heart Association-AHA*), sans toutefois avoir de risque de saignement accru⁷⁸. Par contre, ce médicament doit être pris pendant une décennie pour avoir un effet significatif. De plus, chez les personnes plus âgées, il est nécessaire d'évaluer le risque individuellement, selon la fragilité du patient et les données pour le groupe d'âge en question⁷⁸.

Pour ce qui est des effets indésirables occasionnés par l'action antiplaquettaire, l'aspirine augmente d'environ deux fois les complications de saignement majeur, surtout gastro-intestinaux¹⁸. Ce risque de saignement justifie l'utilisation d'aspirine à faible dose, sachant que l'incidence d'effets adverses est proportionnelle à la dose administrée⁷. En 2012, en raison de saignements majeurs, la Société Européenne de Cardiologie ne recommande pas l'aspirine ou d'autres antiplaquettaires en prévention primaire, d'où la controverse mentionnée ci-haut.

2.1.3 Les essais cliniques

Fait intéressant, l'aspirine est le médicament le mieux étudié de tous les temps⁷⁶. Ainsi, ce qui suit n'est qu'un bref survol des différentes études liées aux SCA. En 1998, l'étude *International Study of Infarct Survival (ISIS-2)* démontre que l'aspirine diminue la mortalité en IAM. À cinq (5) semaines, la mortalité était de 11,8% dans le groupe placebo et de 9,4% dans le groupe traité avec 160 mg d'aspirine ($p < 0,00001$). Cette différence statistiquement significative était maintenue à 15 mois post-IAM^{76,79}.

Plus récemment, différentes études cliniques ont démontré un avantage à court et à long terme de l'utilisation de l'aspirine dans les SCA. Publié en 2010, l'essai *Clopidogrel and Aspirin Optimal Dose Usage to Reduce Recurrent Events-Organization to Assess Strategies in Ischemic Syndromes 7 (CURRENT-OASIS 7)* s'est penché sur différentes issues cliniques dans les 30 jours suivant une intervention coronarienne percutanée primaire post-AMI. Dans cette étude, les patients recevaient le clopidogrel à dose conventionnelle (300 mg le premier jour puis 75mg par jour) ou à dose doublée, avec de l'aspirine à haute dose (300 à 325 mg par jour) ou à faible dose (75 à 100 mg par jour). La comparaison des 4 groupes de patients démontre aucune différence significative entre les hautes doses de clopidogrel et les doses élevées d'aspirine comparativement à leurs groupes respectifs à plus faible doses. Bref, il n'y a pas de différence de mortalité cardiovasculaire, d'IAM ou d'AVC entre une faible ou une haute dose d'aspirine. L'incidence de saignements majeurs ne diffèrent pas entre les deux groupes mais le taux de saignements mineurs est plus fréquent avec une dose élevée du médicament^{80,81}.

L'essai clinique *Clopidogrel in Unstable Angina to Prevent Recurrent Ischemic Events (CURE)* publié en 2001, discuté dans la **Section 2.2.2**, s'est penché, entre autres, sur la dose optimale d'aspirine à utiliser sur une période de trois (3) à 12 mois après un SCA. L'utilisation de doses élevées d'AAS ne démontre pas d'efficacité significative, pour le traitement à simple ou à double antiplaquettaire avec le clopidogrel. Au contraire, il y a une augmentation dose-dépendante de l'incidence de saignements majeurs dans ces deux groupes^{80,82}. L'étude *Clopidogrel in Unstable Angina to Prevent Recurrent Ischemic Events in Patients Undergoing Percutaneous Coronary Intervention (PCI-CURE)*, également publiée en 2001, mène à des

résultats similaires, c'est-à-dire l'absence de bénéfice additionnel et davantage de saignements majeurs avec des doses élevées d'aspirine. Également, cet essai clinique conclut que, dans le cadre de PCI primaire, l'aspirine à faible dose est favorable pour les événements cliniques indésirables, tels que décès, IAM et AVC⁸⁰.

Bref, il semble que passé la phase aiguë, l'utilisation d'aspirine à faible dose soit préférable à l'AAS à haute dose, à cause d'une incidence moindre de saignement pour une efficacité similaire.

2.2 Le clopidogrel

Avec l'aspirine, le clopidogrel était l'antiplaquettaire oral le plus prescrit. Il est utilisé seul dans les rares cas d'allergie à l'aspirine. Autrement, il est prescrit conjointement à l'aspirine⁷ pour les SCA, en double thérapie antiplaquettaire (DAPT), tel que mentionné précédemment.

2.2.1 Le mécanisme d'action

Le clopidogrel bisulfate est un dérivé de la thiéno-pyridine, qui agit comme antagoniste des récepteurs P2Y₁₂. Il permet donc de limiter l'activation par l'agoniste ADP sur les plaquettes, et conséquemment de réduire l'agrégation plaquettaire. Ce médicament est initialement inactif. La pro-drogue est métabolisée et oxydée par les enzymes du cytochrome P450 du foie après son absorption pour devenir pharmacologiquement active. Ceci implique un délai d'action par rapport à certains autres inhibiteurs des récepteurs P2Y₁₂. L'action du clopidogrel sur le récepteur des plaquettes est irréversible, contrairement au ticagrelor présenté ci-dessous⁷⁴.

La pharmacodynamie de cette molécule implique une variabilité individuelle de son efficacité, entre autres dépendante d'une prédisposition génétique. Certains ont une réponse exagérée, secondaire à un métabolisme rapide de la pro-drogue. Plus souvent, d'autres sont des « hypo-répondeurs », à cause d'une oxydation limitée du cytochrome hépatique⁸³. L'effet pharmacologique du clopidogrel provient du 15% métabolisé en molécule active. Ce processus nécessite 2 séquences de réactions via les CYP hépatiques. Le CYP2C19 fait partie de ces 2

cascades. Différents polymorphismes de ce cytochrome engendrent une variation de la concentration du métabolite actif du clopidogrel dans le sang. Par conséquent, les individus affectés par un polymorphisme qui diminue l'activité du cytochrome voient principalement une baisse de l'inhibition l'agrégation plaquettaire médiée par l'ADP⁷⁵. À noter qu'il existe une interaction entre le clopidogrel et certains inhibiteurs de la pompe à protons fréquemment utilisés pour réduire la production d'acide dans l'estomac⁸³.

Cette hétérogénéité interindividuelle est décrite pour plusieurs antiplaquettaires et anticoagulants, via différents polymorphismes génétiques⁷⁵. Cependant, la pharmacogénomique dépasse le cadre du présent travail.

2.2.2 Les essais cliniques

Le clopidogrel est principalement utilisé pour la prévention d'événements secondaires et après l'installation d'un tuteur coronarien (*stent*)⁷⁵. Il a également été démontré que la DAPT diminue la récurrence d'événements ischémiques⁸. Différentes études cliniques ont documenté l'effet clinique du clopidogrel en ajout au traitement conventionnel avec l'aspirine dans les SCA. L'étude CURE a recruté une population de patients avec symptômes de SCA depuis moins de 24h, excluant ceux avec IAM-ST+. Cet essai a démontré une diminution de la mortalité cardiovasculaire, des IAM et des AVC avec l'ajout de clopidogrel pour les SCA. Par contre, il y a significativement plus de saignements majeurs dans le groupe traité par rapport au groupe placebo⁸².

PCI-CURE (2001) est un essai clinique étudiant une population avec IAM-ST- recevant du clopidogrel avant une PCI, qui maintient ce traitement à long terme (3 à 12 mois), en plus de l'aspirine. L'étude démontre une diminution des événements cardiovasculaires majeurs (décès cardiovasculaire, IAM ou AVC) à court et à long terme. Par contre, encore une fois, une augmentation de l'incidence de saignement majeurs non mortel est notée avec l'utilisation de ce médicament^{84,85}.

L'essai clinique *Clopidogrel and Metoprolol in Myocardial Infarction Trial* (COMMIT) en 2005 recrute de patients avec un IAM-ST+, un IAM-ST- ou un bloc de branche gauche de novo. À

noter que contrairement aux études présentées ci-haut, celle-ci inclut les infarctus de type ST+. Également, les patients éligibles pour un PCI sont exclus puisque la double thérapie antiplaquettaire est d'emblée recommandée, basée sur les données du PCI-CURE. Ainsi, per-hospitalisation, une diminution des événements vasculaires majeurs ainsi que de la mortalité est démontrée avec l'ajout du clopidogrel au traitement établi avec l'aspirine et les autres thérapies standards, telles que la fibrinolyse⁸⁶.

Finalement, l'étude CURRENT-OASIS 7 (2010) a été présentée dans la **Section 2.1.3**. En bref, elle ne démontre aucune amélioration des *outcomes* avec l'utilisation d'une dose de clopidogrel supérieure.

2.3 Le prasugrel

2.3.1 Le mécanisme d'action

Le prasugrel est également un antagoniste des récepteurs P2Y₁₂, qui s'y lie façon irréversible⁸⁷. Il a des propriétés pharmacologiques comparables au ticagrelor⁸⁸. En effet, l'action de ces molécules est démontrée plus prédictible, plus puissante et plus rapide que le clopidogrel⁸⁹. Cependant, il persiste une controverse quant à la réelle supériorité et à la sécurité du ticagrelor comparativement au prasugrel, tel que décrit ci-dessous.

2.3.2 Les essais cliniques

L'essai clinique *Trial to Assess Improvement in Therapeutic Outcomes by Optimizing Platelet Inhibition with Prasugrel–Thrombolysis in Myocardial Infarction 38* (TRITON-TIMI 38)⁹⁰ compare le clopidogrel au prasugrel chez les patients avec SCA traités par PCI. La seconde molécule démontre une réduction des paramètres cardiovasculaires composites (décès d'origine cardiovasculaire, IAM non-mortel et AVC non-mortel), mais aucune différence significative du taux de mortalité global en raison d'une augmentation des saignements majeurs. Donc, de par l'effet antiplaquettaire puissant, les lignes directrices récentes (Canadiennes⁷¹, Américaines⁷² et Européennes⁷³) préconisent l'utilisation du prasugrel (ou du ticagrelor, tel que présenté à la **Section 2.4.2**) chez les patients avec SCA qui subiront une

intervention percutanée ainsi que chez les PCI électives, si le médicament n'est pas contre-indiqué.

Une étude plus récente, *Intracoronary Stenting and Antithrombotic Regimen: Rapid Early Action for Coronary Treatment 5 (ISAR-REACT 5)*⁹¹, compare le ticagrelor et le prasugrel en tête à tête. Les patients atteints de SCA (IAM-ST- ou IAM-ST+) traité par intervention percutanée ont été randomisés pour recevoir l'une des thiénopyridines. Les résultats montrent qu'à un an de suivi, les patients traités avec le prasugrel ont une incidence significativement réduite de mortalité, d'IAM et d'AVC, sans augmentation significative des saignements majeurs⁹¹. Dans cet essai clinique, le nombre nécessaire à traiter (*number needed to treat*, NNT) associé à l'utilisation du prasugrel est de 42. Ces résultats modifieront potentiellement les stratégies thérapeutiques de la pratique médicale actuelle⁹² et mèneront sans doute à d'autres études randomisées.

2.4 Le ticagrelor

Le ticagrelor, anciennement appelé AZD6140, est l'antiplaquettaire oral le plus récemment développé, parmi ceux présentés ci-haut⁸³.

2.4.1 Le mécanisme d'action

Le ticagrelor est un antagoniste réversible du récepteur P2Y₁₂. Il s'agit d'un dérivé de la thiénopyridine, soit la cyclopentyl-triazolopyrimidine. En termes de mécanisme d'action, cet antiplaquettaire inhibe également la réabsorption d'adénosine par son transporteur («*equilibrative nucleoside transporter 1* », ENT1). Contrairement au clopidogrel, il est actif à l'absorption intestinale et présente un effet antiplaquettaire plus important^{8,83,93}.

2.4.2 Les essais cliniques

Le *Platelet Inhibition and Patient Outcomes* (PLATO) est un essai clinique qui compare la double thérapie antiplaquettaire avec le ticagrelor au traitement conventionnel au moment de l'étude (clopidogrel et aspirine) sur une période de 12 mois. Des patients avec un IAM (ST+ ou ST-)

sont randomisés pour recevoir le clopidogrel ou le ticagrelor, en plus de l'aspirine. Après 1 an, cette étude démontre une diminution significative de la mortalité cardiovasculaire (IAM ou AVC) et de la mortalité toute cause dans le groupe traité avec le ticagrelor. Pour ce qui est des effets secondaires, il n'y a pas d'augmentation significative des saignements majeurs. Par contre, une augmentation des saignements non-procéduraux mineurs, des saignements mineurs, de l'acide urique, de la dyspnée et des pauses ventriculaires asymptomatiques est constatée dans le groupe traité avec le ticagrelor⁹³. De ce fait, les lignes directrices récentes (Canadiennes⁷¹, Américaines⁷² et Européennes⁷³) préconisent l'utilisation du ticagrelor (ou du prasugrel) chez les patients avec SCA qui subiront une intervention percutanée ainsi que chez les PCI électives, si le médicament n'est pas contre-indiqué.

L'essai *Prevention of Cardiovascular Events in Patients with Prior Heart Attack Using Ticagrelor Compared to Placebo on a Background of Aspirin–Thrombolysis in Myocardial Infarction 54* (PEGASUS-TIMI 54) quant à lui étudie les bienfaits du ticagrelor sur une durée d'un à trois ans. Avec un suivi moyen de 33 mois, on démontre une diminution de mort cardiovasculaire, d'IAM ou d'AVC et qu'un risque de saignement majeur augmenté⁹⁴.

2.4.3 Les effets pléiotropiques

Les effets cardiovasculaires protecteurs du ticagrelor ont longtemps été associés à des actions qui vont au-delà d'une meilleure inhibition plaquettaire seule. De multiples propriétés pléiotropiques ont été explorées à travers les années.

Adénosine

L'hypothèse initiale d'une propriété pléiotropique potentielle du ticagrelor était liée à l'adénosine. En effet, la concentration plasmatique d'adénosine (*adenosine plasma concentration*, APC) s'est avérée significativement supérieure dans le groupe de patients sous ticagrelor par rapport au clopidogrel⁹⁵. Il a été stipulé que le mécanisme d'action s'explique par une inhibition de l'absorption d'adénosine dans les globules rouges secondairement au blocage de l'ENT-1⁹⁶ ainsi que par une libération accrue liée à la dose d'adénosine triphosphate cellulaire des érythrocytes in vitro⁹⁷. À noter que certaines études ont réfuté ces résultats et ne montrent aucun effet du ticagrelor sur le transport de l'adénosine ni sur l'APC^{98,99}.

Au niveau systémique, de multiples propriétés liées à l'augmentation de l'APC sont décrites dans la littérature⁹⁶. En médecine cardiovasculaire, l'usage à long terme du ticagrelor a démontré une activation du récepteur d'adénosine, avec régulation subséquente à la hausse de la synthèse de NO dans l'endothélium, menant à une diminution de la taille de l'infarctus¹⁰⁰. Au niveau coronarien, des études sur des participants en santé¹⁰¹ et des patients avec un IAM-ST-¹⁰² traités avec le ticagrelor démontrent une augmentation de la vélocité du flux sanguin par vasodilatation supérieure, en réponse à une infusion exogène d'adénosine. Cette découverte laisse sous-entendre un effet agoniste du ticagrelor sur le récepteur de l'adénosine augmentant ses propriétés biologiques intrinsèques, en plus d'augmenter les niveaux endogènes d'APC. À noter que l'expérimentation avec l'adénosine *in vivo* s'accompagne d'enjeux liés au fait qu'il s'agit d'un métabolite très transitoire⁹⁶. Des méthodes spécifiques sont nécessaires pour permettre une mesure appropriée et une interprétation ultérieure¹⁰³.

Dysfonction endothéliale

Chez les patients traités avec le ticagrelor, l'adénosine présente des avantages sur la fonction endothéliale artérielle. Dans les SCA, l'augmentation des taux plasmatiques d'adénosine était associée à une diminution de la dysfonction endothéliale mesurée par l'indice d'hyperémie réactive, couramment utilisé pour évaluer la fonction microvasculaire¹⁰⁴. D'un autre côté, une étude multicentrique randomisée plus récente utilisant trois inhibiteurs de P2Y₁₂ n'a montré aucune amélioration de la fonction endothéliale ni augmentation de la concentration d'adénosine avec le ticagrelor par rapport au clopidogrel et au prasugrel⁹⁹.

Régénération endothéliale

En plus de l'amélioration de la fonction endothéliale, un effet du ticagrelor indépendant des plaquettes a été démontré, en lien avec une quantité accrue de cellules progénitrices endothéliales (*endothelial progenitor cells*, EPC) par rapport au clopidogrel. Ceci a également un impact favorable sur la condition de l'endothélium. En effet, ces cellules progénitrices sont essentielles à l'homéostasie vasculaire, à la régénération endothéliale et à la réduction de l'hyperplasie, tous des processus associés à la cicatrisation vasculaire et à de meilleurs résultats cardiovasculaires¹⁰⁵. Plus récemment, une augmentation de l'expression des cellules

progénitrices endothéliales, plus prononcée dans le groupe ticagrelor, a également été observée chez les patients atteints de SCA et de dyslipidémie¹⁰⁶.

Autres effets pléiotropiques

En termes d'effets antithrombotiques, le ticagrelor semble avoir des propriétés additionnelles dans l'endocarde auriculaire gauche des patients atteints de fibrillation auriculaire, non observées dans le métabolite actif du clopidogrel. Ces propriétés pourraient mener à un autre effet pléiotropique du médicament, lui permettant potentiellement de réduire les événements thromboemboliques¹⁰⁷. Des propriétés pléiotropiques supplémentaires du ticagrelor^{108,109}, telles que la modulation de l'inflammation⁹⁶, la mortalité liée au sepsis¹¹⁰ et un effet antithrombotique supérieur¹¹¹, ont été documentées. À noter que les niveaux d'adénosine et ses effets, ainsi que la fonction endothéliale¹¹² ne sont pas unanimement acceptés comme propriétés pléiotropiques du ticagrelor dans la communauté scientifique.

Chapitre 3 – Le métabolisme cardiaque

3.1 Le métabolisme cardiaque physiologique

Chez l'être humain, le cœur bat à partir du 21^e jour post-conception. Ce battement continu et vigoureux nécessite une importante quantité d'énergie, fournie par le métabolisme de différents substrats produisant de l'adénosine triphosphate (ATP)¹¹³. En effet, le cœur est l'organe qui consomme le plus d'énergie par unité de masse¹¹⁴. Les fibres contractiles myocardiques transforment l'énergie chimique en énergie mécanique en hydrolysant cette ATP¹¹⁵ via la phosphorylation oxydative mitochondriale¹. L'utilisation de l'énergie se fait par la créatine kinase, qui transfère un phosphate à haute énergie de l'ATP à la créatine pour former une phosphocréatine et une ADP. À l'état physiologique adulte, les acides gras fournissent plus de 60% de l'énergie consommée par le myocarde. Le reste du support énergétique (jusqu'à 40%) est assuré par les glucides, principalement le glucose, et par le lactate^{1,113}.

En revanche, le cœur fœtal utilise le glucose comme substrat primaire. Il s'agit du carburant le plus efficace énergiquement par rapport à la quantité d'oxygène requise, ce qui concorde avec l'hypoxie relative du milieu fœtal¹¹⁶. À la naissance, il se produit une maturation cellulaire, via une régulation à la hausse de l'ATP, des enzymes et intermédiaires ainsi que des éléments régulateurs de la respiration cellulaire. En outre, il est important de noter que les substrats disponibles changent chez le nouveau-né. En effet, ce dernier ne reçoit plus les lactates maternels et réoriente son métabolisme cardiaque vers les acides gras, dont la quantité augmente graduellement avec l'introduction du lait maternel et de l'alimentation orale¹¹³. Cette tendance se maintient dans le myocarde en santé. À noter qu'un stress physiologique peut réactiver le métabolisme fœtal¹¹⁶.

Dans le cœur adulte, la phosphorylation oxydative mitochondriale génère ultimement l'énergie à partir des électrons des substrats de carbones, soient les acides gras et les glucides. En effet, il y a production d'éléments réducteurs, la nicotinamide adénine dinucléotide réduite (NADH) et la flavine adénine dinucléotide réduite (FADH₂). L'oxydation des substrats génère

également de l'acétyl-CoA à 2 carbones qui entre dans le cycle de l'acide tricarboxylique générant davantage de NADH, principalement. Les éléments réducteurs sont par la suite envoyés dans la chaîne de transport d'électrons (ETC), dans la membrane interne de la mitochondrie, et utilisés pour la phosphorylation oxydative, générant de l'ATP et de l'eau (H₂O)^{1,113}. À noter que l'adénosine triphosphate générée via phosphorylation de l'adénosine diphosphate et grâce à un phosphate inorganique^{117,118}, réaction inverse de l'hydrolyse de l'ATP (**Figure 13**).

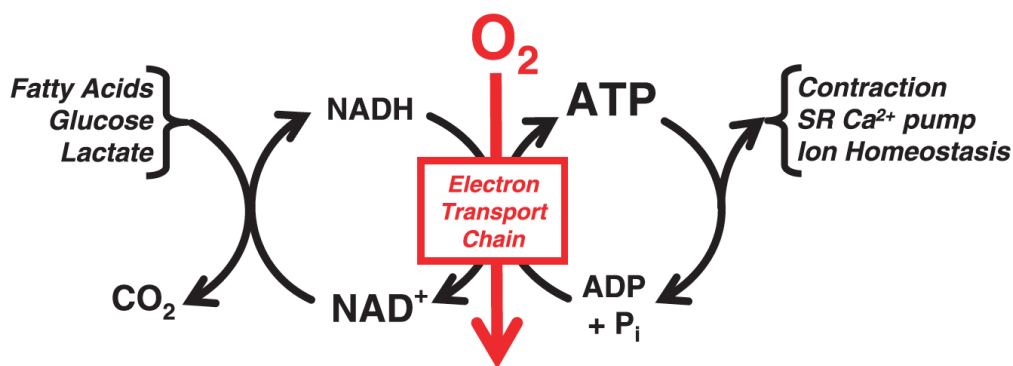


Figure 13. Hydrolyse de l'ATP dans le réticulum sarcoplasmique

Figure tirée de Stanley, 2005¹. Reproduction autorisée par « The American Physiology Society ». Tous droits réservés.

Le métabolisme énergétique cardiaque est étroitement régulé et s'active au gré de l'inotropie myocardique, en fonction de l'état nutritionnel, soit la concentration plasmatique des substrats de carbone, des hormones et catécholamines circulantes ainsi que du flux coronaire. En effet, le cœur peut varier considérablement sa production énergétique. Au repos, cet organe utilise 15% à 25% de sa capacité oxydative mitochondriale maximale alors qu'il atteint 80 à 90% de cette capacité dans un état de travail contractile maximal¹. Il est intéressant de noter que les adaptations immédiates du métabolisme dépendent des substrats et des enzymes du système en place. À l'inverse, les adaptations à long-terme impliquent des variations génomiques avec modulation de l'expression génique (**Figure 14**). Elles permettent

par exemple à un athlète d'avoir un niveau de performance non atteignable par une individu normal. En effet, à long-terme, l'adaptation cardiaque permet de modifier l'expression de différents gènes pour répondre aux demandes, sujet dépassant le cadre de ce travail¹¹⁹.

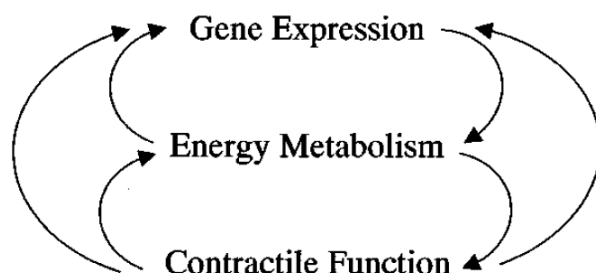


Figure 14. Interactions entre l'expression génique, le métabolisme énergétique et la contractilité cellulaire du cœur.

Figure tirée de Taegtmeyer, 2001¹¹⁹. Reproduction autorisée par « Springer Nature ». Tous droits réservés.

Par ailleurs, le métabolisme cardiaque est soumis à différents mécanismes de contrôle. Le premier dépend du cycle d'alimentation, fonction de l'état nutritionnel du corps, nourri ou à jeun¹²⁰. Par exemple, au courant de la journée, le taux d'oxydation d'acides gras varie. Il diminue après un repas et augmente durant les périodes de jeûne¹¹⁸. La disponibilité des substrats et le contrôle neuro-hormonal font partie du contrôle extrinsèque du métabolisme cardiaque. D'un autre côté, il existe un contrôle intrinsèque. En effet, Young et al. ont décrit des variations circadiennes du métabolisme cardiaque et de la fonction contractile¹²¹. L'horloge circadienne du cardiomyocyte fait varier le métabolisme sur une période de vingt-quatre heures grâce à des mécanismes de rétroaction positive et négative¹²⁰. Entre autres, il y a une augmentation de la consommation de glucose, d'oxygène et de la fonction contractile durant la nuit, dite phase sombre, pour répondre aux demandes augmentées en lien avec les changements hormonaux¹²¹.

Ainsi, l'équilibre énergétique du cœur est primordial, pour la fonction du myocarde et pour la perfusion du corps entier. Le cœur est donc équipé d'une flexibilité métabolique, lui donnant le titre d'organe omnivore, c'est-à-dire qu'il peut utiliser différents substrats en même temps (glucose, lactate, corps cétoniques, acides gras, acides aminés) en fonction de leur

disponibilité^{114,116,122}. À noter qu'étant donnée la réserve limitée d'ATP, les changements du métabolisme cardiaque peuvent avoir des effets sur la fonction contractile. Il y a roulement de la réserve d'ATP aux dix secondes¹. En effet, la réserve d'ATP cardiaque s'épuise en moins d'une minute¹²³ et toute une modification du type de substrat ou de la quantité d'ATP produite engendre rapidement des dommages aux cellules myocardiques¹¹³, sujet abordé dans la **Section 3.2**. Les **Sections 3.1.1** et **3.1.2** décrivent le détail du métabolisme des acides gras et des glucides, respectivement, tel que résumé à la **Figure 15**.

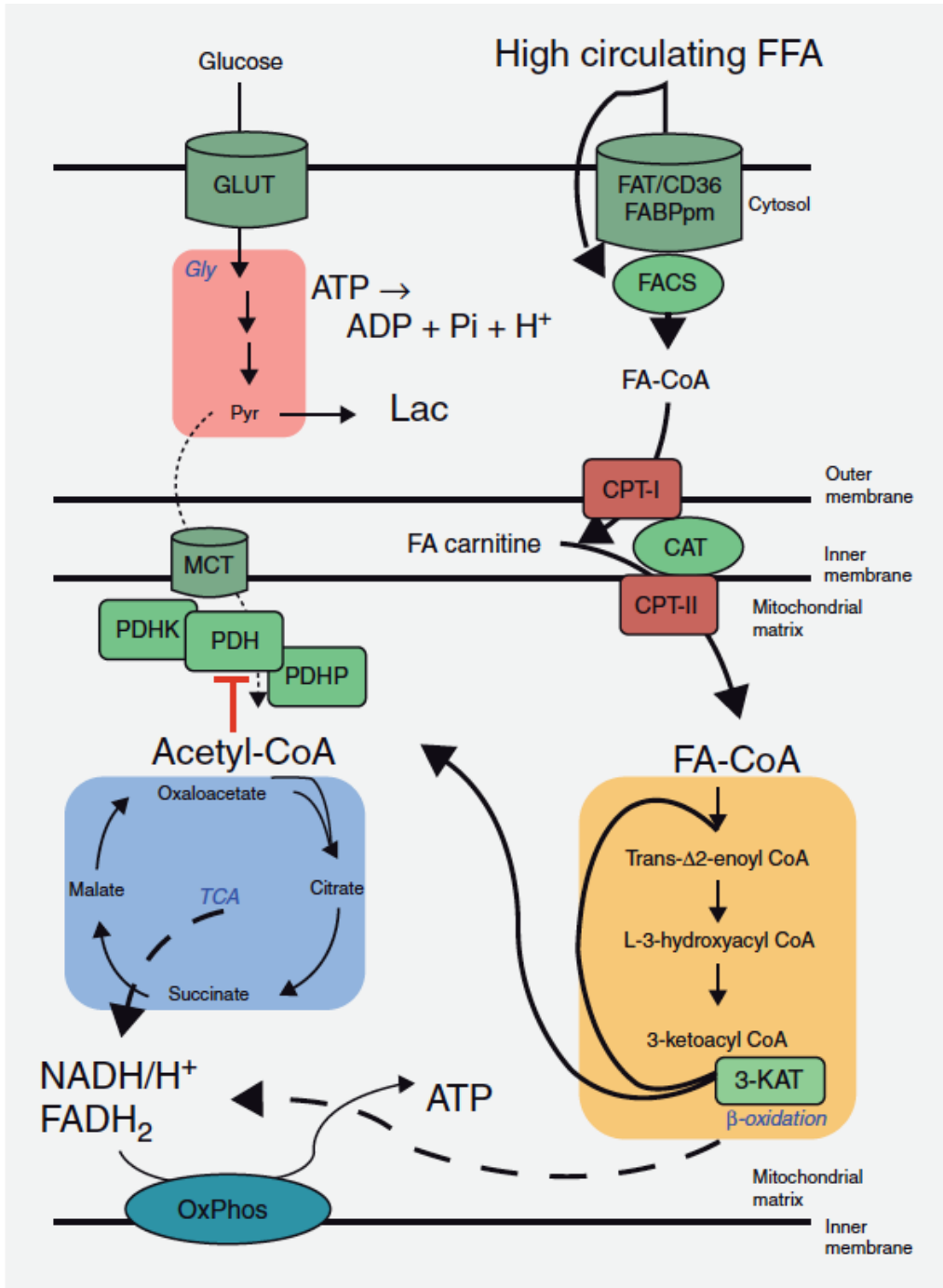


Figure 15. Cycle du glucose et des acides gras, avec les transporteurs impliqués. Figure tirée de Jaswal, 2008⁶⁴. Reproduction autorisée par le Dr Gary Lopaschuk. Tous droits réservés.

3.1.1 Le métabolisme des acides gras

Source

Le plasma constitue la principale source d'acides gras (*fatty acids*, FA) du myocarde. Il fournit plus précisément des acides gras à longue chaîne, soient l'oléate et le palmitate¹¹⁸, qui se trouvent sous forme non-estérifiée¹. À noter que le cardiomyocyte contient malgré tout une réserve d'acide gras sous forme de triacylglycérol (TG)¹¹³. Une fois dans la cellule, près de 30% des acides gras sont stockés en TG alors que le reste est oxydé en CO₂, tel qu'expliqué ci-dessous¹¹⁸.

Transport

Étant donnée la nature très hydrophobe des acides gras, ils sont transportés dans le sang liés à l'albumine ou par des lipoprotéines riches en triglycérides, telles que les VLDL (*very low density lipoprotein*) du foie et les chylomicrons des intestins¹²⁴. Leur concentration plasmatique dépend de la libération de TG par le tissu adipeux. En postprandial, les lipoprotéines sont les principaux transporteurs d'acides gras. Ces derniers sont libérés par la lipoprotéine lipase (LPL) membranaire au site d'arrivée^{1,113,116}. Cette LPL hormono-sensible est inhibée par l'insuline et activée par les catécholamines. De ce fait, lors d'un état de jeûne, le transfert d'acide gras vers les cardiomyocyte est plus important qu'en post-prandial¹. Outre la diffusion passive, la majorité (80%) des acides gras traverse la membrane du cardiomyocyte grâce à des protéines, soit la *fatty acid translocase* (FAT, CD36 en forme prédominante) et la *plasmalemmal fatty acid-binding protein* (FABP_{pm})^{1,113,124}. Cette dernière se trouve également au niveau du cytosol et permet l'ancrage des molécules d'acide gras. À noter qu'il se produit une estérification du substrat grâce à la *fatty acyl-CoA synthase* (FACS) pour donner des acides gras acyl-coenzyme A (FA-CoA)^{1,113} (**Figure 16**). Une fois dans la cellule, le FA-CoA peut être oxydé (70 à 90%) ou stocké (10-30%) sous forme de triglycéride par la glycérolphosphate acyl-transférase¹.

L'oxydation des acides gras, nommée β -oxydation, se produit principalement dans la mitochondrie. Pour permettre le passage de ces molécules dans l'organelle, trois (3) enzymes

dépendantes de la cartinine sont nécessaires et sont également représentées à la **Figure 16**. Le transport des FA-CoA à travers la membrane externe est assuré par la CPT-I (carnitine palmitoyl transférase). L'acyl-carnitine ainsi formée peut traverser la membrane interne grâce à la carnitine acyl translocase (CAT). La troisième enzyme, CPT-II, permet de reformer l'acide gras acyl-CoA. Ce dernier est donc prêt pour oxydation au sein de la mitochondrie. Parmi ces enzymes, CPT-1 a un rôle régulateur^{1,113}. Fait intéressant, ces molécules sont toutes des cibles thérapeutiques pour le traitement des sujets avec angine à médiation métabolique. En effet, différents inhibiteurs partiels de l'oxydation des acides gras sont utilisés pour le traitement de l'angine réfractaire, en plus du régime thérapeutique usuel¹²⁵.

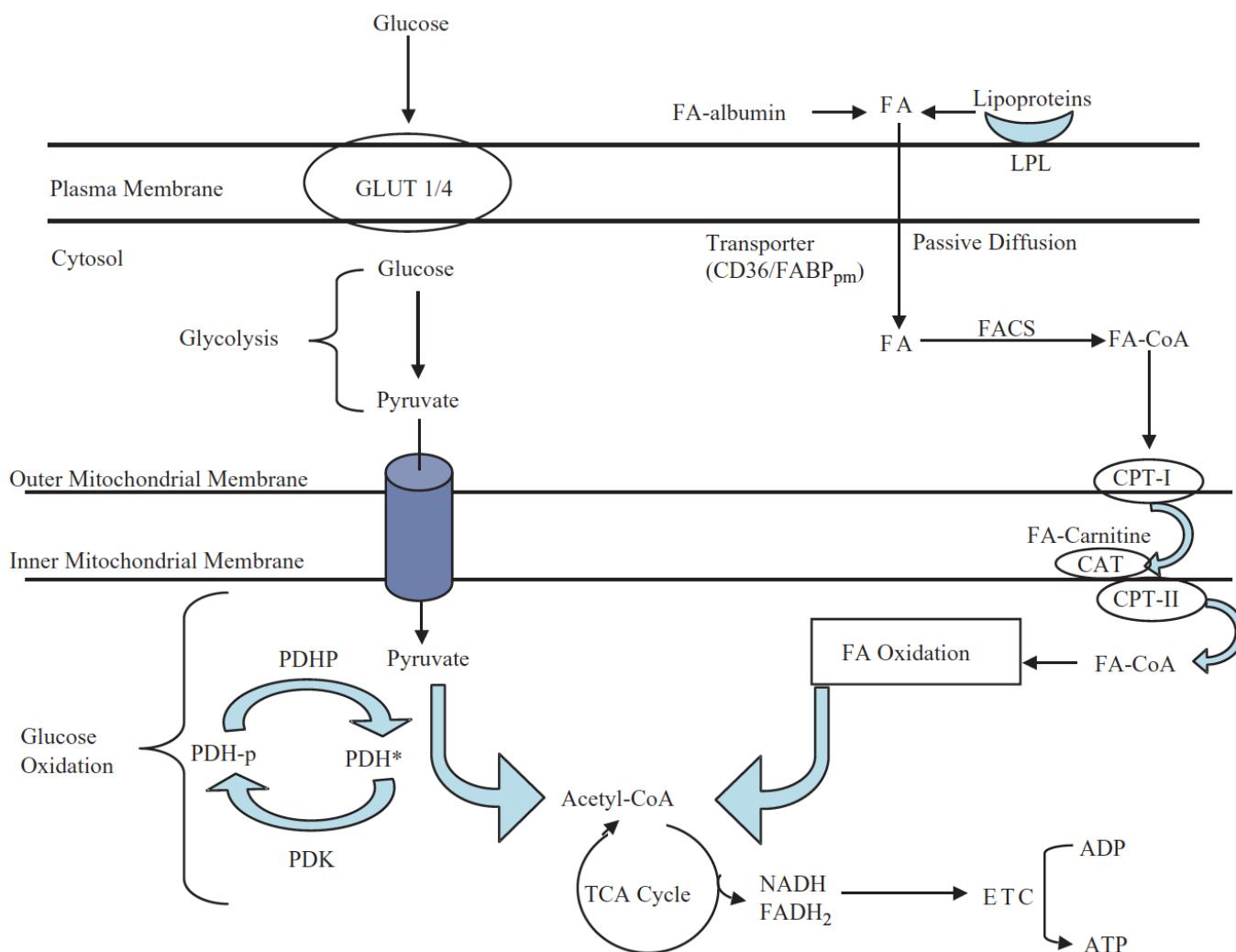


Figure 16. Absorption et métabolisme du glucose et des acides gras
Figure tirée de Taha, 2007¹¹³. Reproduction autorisée par « Taylor & Francis. ». Tous droits réservés.

Oxydation

L'oxydation de l'acide gras acyl-CoA libère de l'acétyl-CoA ainsi que des éléments réducteurs (NADH et de FADH₂). L'acétyl-CoA à son tour entre dans le cycle de l'acide tricarboxylique (TCA), aussi appelé le cycle de Krebs (**Figure 16**). Ce dernier engendre davantage de molécules de NADH et de FADH₂¹¹³. La production d'acétyl-CoA requiert 4 enzymes : acyl-CoA déshydrogénase, 2-enoyl-CoA hydratase, 3-hydroxyacyl-CoA déshydrogénase et 3-kétoacyl-CoA thiolase (3-KAT). Ces 4 enzymes produisent de l'acyl-CoA, qui subit une seconde β -oxydation avant de donner de l'acétyl-CoA¹.

Régulation

La régulation de l'oxydation des acides gras se fait tout d'abord par l'apport du substrat au cœur (**Figure 17**). Entre autres, l'inhibition du CPT-I par le malonyl-CoA diminue l'apport mitochondrial d'acide gras. D'ailleurs, la carboxylation de l'acétyl-CoA par l'acétyl-CoA carboxylase (ACC) produit le malonyl-CoA. La réaction inverse est catalysée par le malonyl-CoA décarboxylase (MCD). Ainsi, l'activation de MCD stimule la β -oxydation alors que son inhibition stimule l'oxydation du glucose, en situation ischémique par exemple. De plus, l'ACC est inhibée par l'AMPK (protéine kinase activée par l'AMP), ce qui augmente l'oxydation des acides gras par diminution du malonyl-CoA. Il y a également un contrôle allostérique et transcriptionnel des enzymes. Ce dernier se fait par des facteurs de transcription qui agissent en augmentant l'expression de gènes liés au métabolisme des acides gras, incluant le transport et toutes les réactions menant à l'oxydation. Le principal régulateur transcriptionnel est le PPAR- α (*peroxisome proliferator-activated receptors*)^{1,113,116}. Finalement, l'oxydation des acides gras est également contrôlée par le récepteur lié à l'estrogène (ERR) et par le coactivateur-1 α du PPAR γ (PCG-1 α), qui régulent l'expression de différentes enzymes^{6,114,122}.

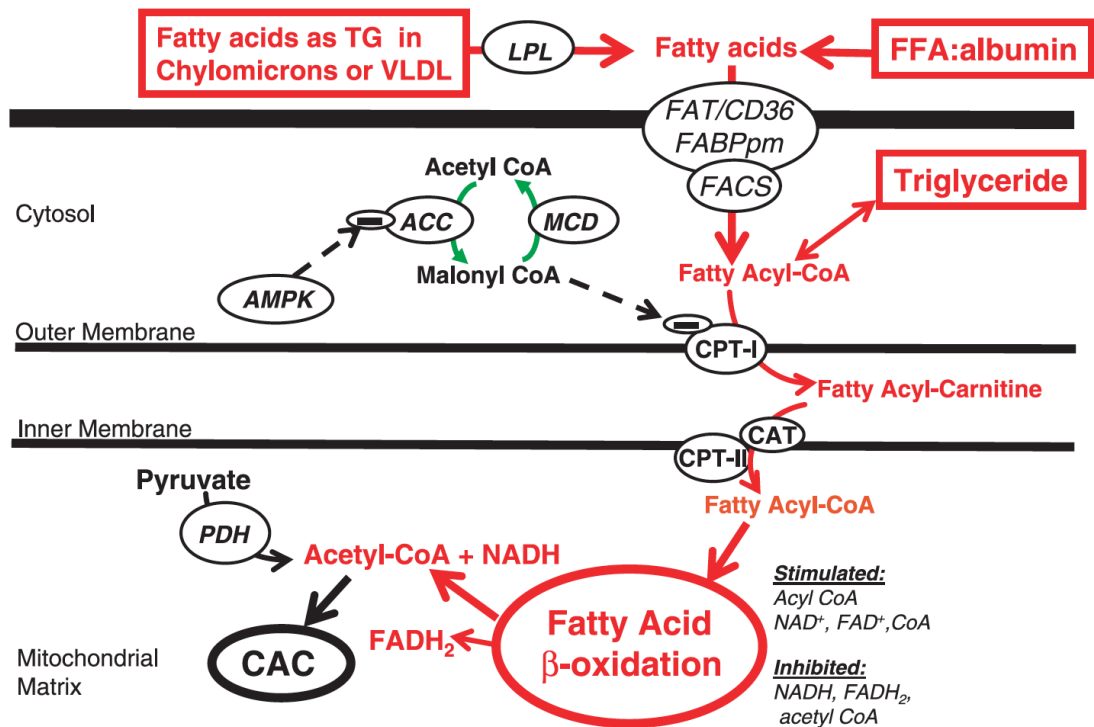


Figure 17. Métabolisme des acides gras myocardiques
 Figure tirée de Stanley, 2005¹. Reproduction autorisée par « The American Physiology Society ». Tous droits réservés.

3.1.2 Le métabolisme des glucides

Source

Le glucose est le principal hydrate de carbone consommé par le cœur à l'état physiologique, dont la grande majorité provient du plasma. En effet, la réserve cardiaque en sucre, sous forme de glycogène, diminue grandement en post-natal pour constituer seulement 2% du poids du myocyte. Le glycogène est utilisé davantage dans les états de stress, tels que la stimulation adrénérigique et l'ischémie^{113,126}. Le cœur est également un consommateur de lactate à l'état physiologique¹¹³.

Transport

En plus du gradient transcellulaire, le glucose exogène entre dans la cellule myocardique grâce à des transporteurs, *glucose transporters*, principalement GLUT1 et GLUT4 contenus dans des

vésicules intracellulaires (**Figure 18**). GLUT4 est le principal transporteur, grandement affecté par l'insuline¹²². GLUT1 quant à lui maintient un niveau basal de glucose intracellulaire et est surtout retrouvé sur la membrane lipidique^{113,126}. Alors que GLUT1 est le transporteur principal chez le foetus, GLUT4 devient le plus important après la naissance¹²⁶. Plusieurs stimuli, tels que l'insuline, l'augmentation du travail cardiaque ainsi que l'ischémie, provoquent une augmentation du transport de glucose vers la cellule via translocation des transporteurs. À noter que GLUT4 est également stimulé par l'AMPK, protéine clé dans le transport de glucose insulino-indépendant du cœur ischémique^{1,116}.

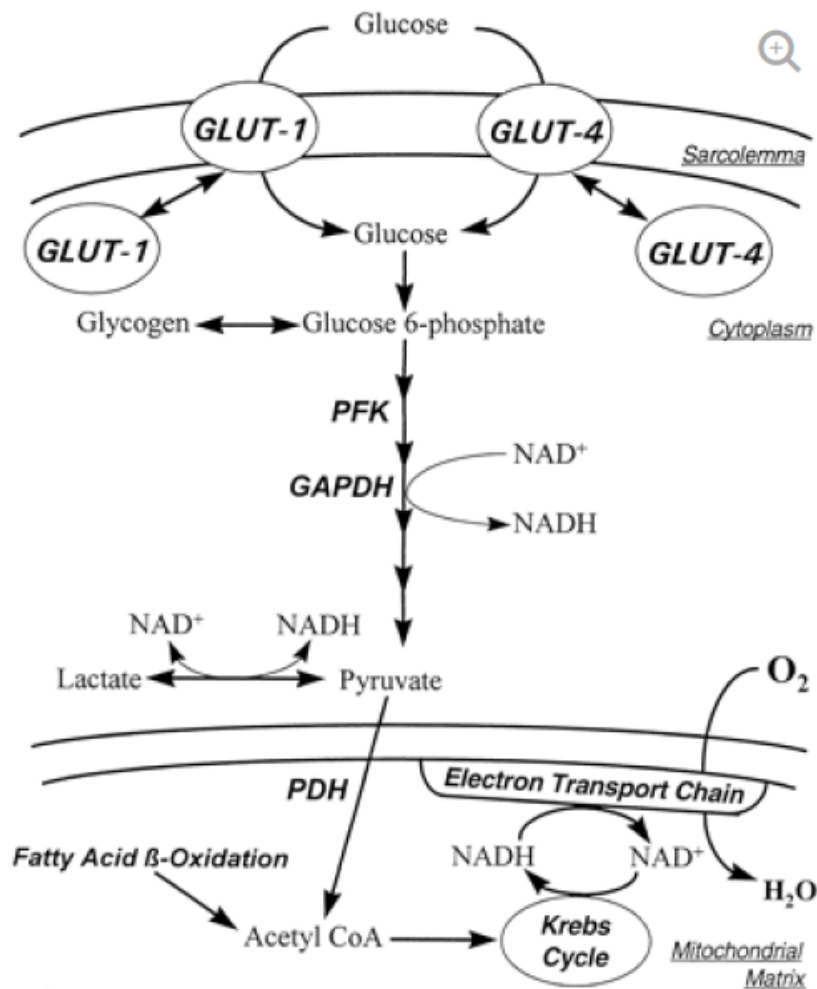


Figure 18. Transport cellulaire du glucose
 Figure tirée de Lopaschuck, 1997¹²⁷. Reproduction autorisée par « Walter Kluwer Health Inc. ». Tous droits réservés.

Oxydation

Dans le cytosol, le glucose et le lactate sont convertis en pyruvate par glycolyse¹¹³ (**Figure 16**). En effet, le glucose intracellulaire est transformé en glucose-6-phosphate (G6P) par l'hexokinase. Ce dernier peut être oxydé pour produire de l'énergie ou stocké en glycogène par la glycogène synthase^{117,126}. La voie glycolytique utilise un glucose-6-phosphate¹¹⁴ et une NAD⁺ pour former du pyruvate et du NADH, générant 2 ATP¹. Une des enzymes impliquées dans les réactions, soit la phosphofructokinase-1 (PFK-1), catalyse la réaction fructose-6-phosphate (F6P) à fructose-1,6-biphosphate (F1,6BP) (**Figure 19**). Ce dernier est par la suite transformé en pyruvate. Il pénètre dans la mitochondrie pour être transformé en acétyl-CoA et en CO₂ par la pyruvate déshydrogénase (PDH). L'oxydation du glucose se poursuit avec l'entrée de l'acétyl-CoA dans le cycle de Krebs, pour produire des éléments réducteurs, soit le NADH et le FADH₂ (**Figure 16**).¹¹³

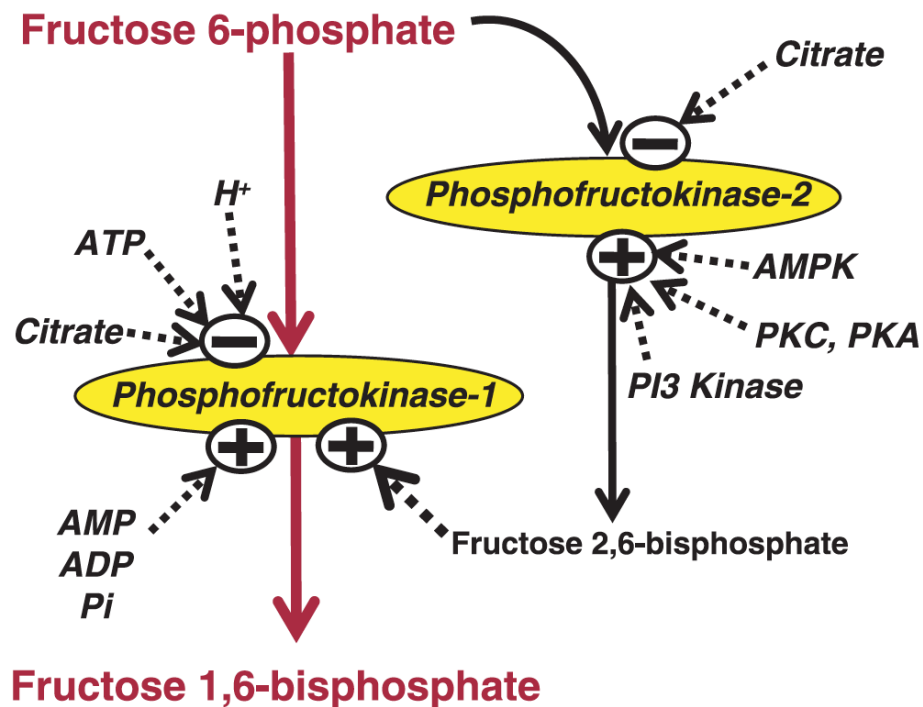


Figure 19. Régulation des phosphofructokinases (PFK)

Figure tirée de Stanley, 2005¹. Reproduction autorisée par « The American Physiology Society ». Tous droits réservés.

Régulation

La régulation des substrats des glucides se fait à plusieurs niveaux, entre autres via les transporteurs. En effet, la translocation de GLUT4 à partir de réserves intracellulaires du transporteur en réponse à divers stimuli fait varier le flux de glucose dans le cardiomyocyte, tel que mentionné précédemment¹. Le gradient transmembranaire de glucose influence aussi la quantité de glucose absorbée, de façon proportionnelle. Ainsi, une diminution de la concentration de glucose extracellulaire, en cas d'ischémie par exemple, réduit l'apport de glucose au cardiomyocyte. De plus, l'expression des gènes de ce transporteur est également diminuée par l'expression de PPAR- α associée à une augmentation de l'oxydation d'acides gras¹²⁶.

Il y a également un contrôle de la glycolyse via la PKF-1, dont la phosphorylation est une étape limitante et irréversible. Cette enzyme est inhibée par l'ATP, le fructose-1,6-biphosphate (F1,6BP), le pH bas ainsi que le citrate¹¹³. Ce dernier s'accumule dans la cellule avec une augmentation de la β -oxydation. À l'inverse, elle est activée par l'ADP, l'AMP (adénosine monophosphate) et le phosphate inorganique. Il y a donc accélération de la glycolyse avec une diminution de la phosphorylation produisant l'ATP. En outre, une rétroaction positive est exercée sur PFK-1 par le fructose-2,6-biphosphate (F2,6BP), qui induit un changement de conformation de PFK-1. Le F2,6BP produit grâce à la PFK-2 diminue l'affinité de PFK-1 à l'ATP et augmente son affinité à son substrat, soit le F6P¹.

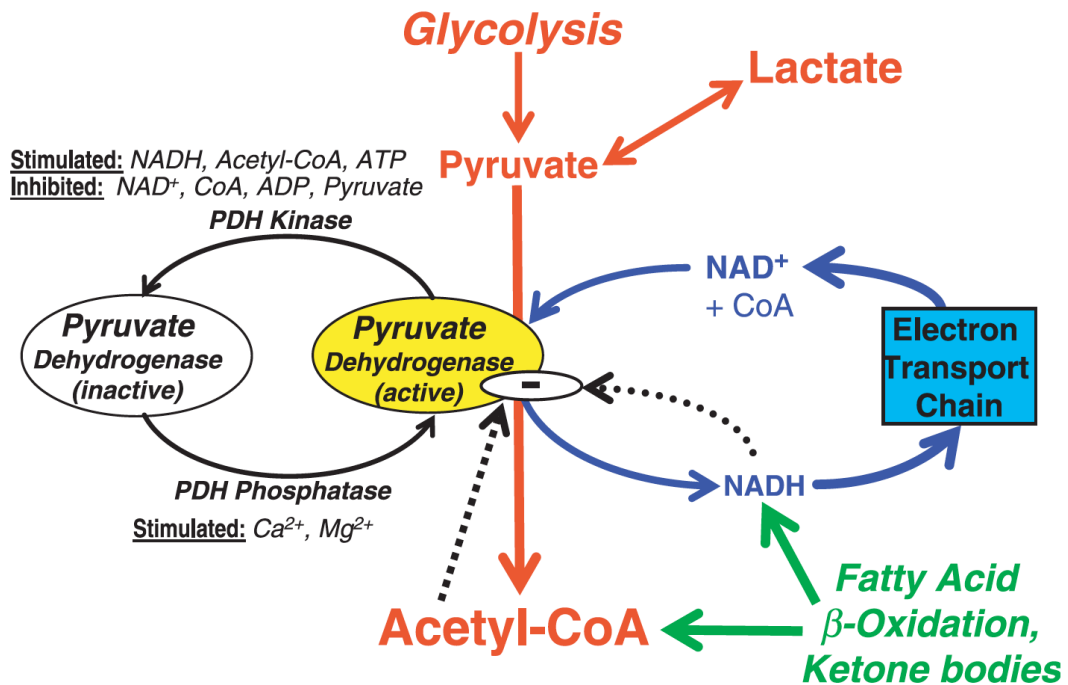


Figure 20. Régulation de l'oxydation du glucose et du lactate par la pyruvate dehydrogénase

Figure tirée de Stanley, 2005¹. Reproduction autorisée par « The American Physiology Society ». Tous droits réservés.

Ensuite, l'oxydation du pyruvate est contrôlée par le niveau plasmatique et le métabolisme des acides gras (**Figure 20**). Ce sont les métabolites dérivés de la dégradation des substrats qui déterminent le choix du carburant¹¹⁶. En effet, dans le cœur, les 2 principaux substrats d'énergie sont complémentaires, c'est-à-dire qu'une augmentation de la β -oxydation inhibe la glycolyse via une diminution de l'activité de la PDH (**Figure 21**). L'activation de PPAR- α augmente la transcription de PDK. La phosphorylation de PDH par la pyruvate déshydrogénase kinase (PDK) inhibe la décarboxylation du pyruvate en acétyl-CoA. Ainsi, une élévation de la concentration plasmatique d'acide gras et de l'oxydation d'acide gras engendre une inhibition de PDH via activation de son inhibiteur, PDK. La β -oxydation engendre une augmentation des ratios acétyl-CoA:CoA et NADH:NAD⁺ et stimulent la PDK. À l'inverse, la PDK est inhibée par l'ADP et le pyruvate intra-mitochondrial^{1,113}. La PDH phosphatase quant à elle active PDH.

Ainsi, l'oxydation du pyruvate dépend des substrats et des produits de cette réaction, en plus de la PDH¹. Il est intéressant de noter que l'oxydation d'acide gras affecte principalement l'oxydation du glucose, puis la glycolyse et finalement l'absorption de glucose¹²³.

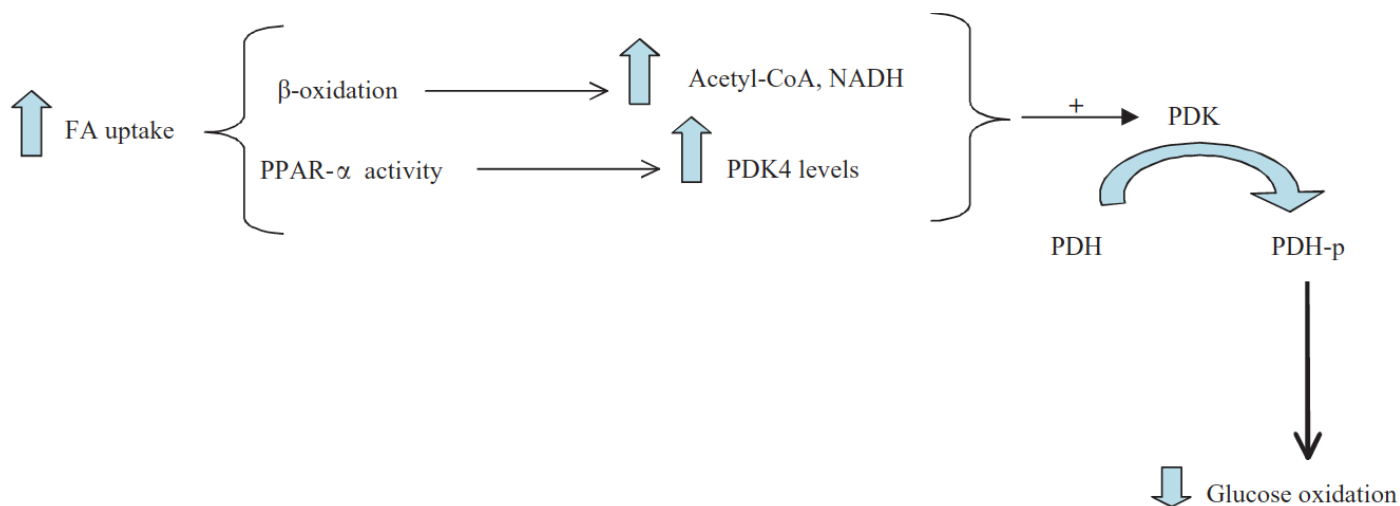


Figure 21. Interactions entre les acides gras et l'oxydation du glucose
Figure tirée de Taha, 2007¹¹³. Reproduction autorisée par « Taylor & Francis. ». Tous droits réservés.

De la même manière, une inhibition de l'oxydation des acides gras engendre une élévation de la glycolyse aérobie, par plusieurs mécanismes. Premièrement, la diminution de l'acétylCoA et de NADH enlève l'inhibition sur PDH (**Figure 22**). Ensuite, la concentration moindre de citrate permet d'inhiber PDK. GAPDH (glycéraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase) exerce également une régulation de l'oxydation du glucose. Cette enzyme est responsable de la production du NADH provenant de la glycolyse (glucose en pyruvate). En effet, l'accumulation du substrat NAD⁺ dans le cytoplasme active GAPDH alors que son produit, NADH, l'inhibe. L'excès de lactate a également un feedback négatif sur cette enzyme, ne permettant pas de produire du NAD⁺ à partir de NADH¹.

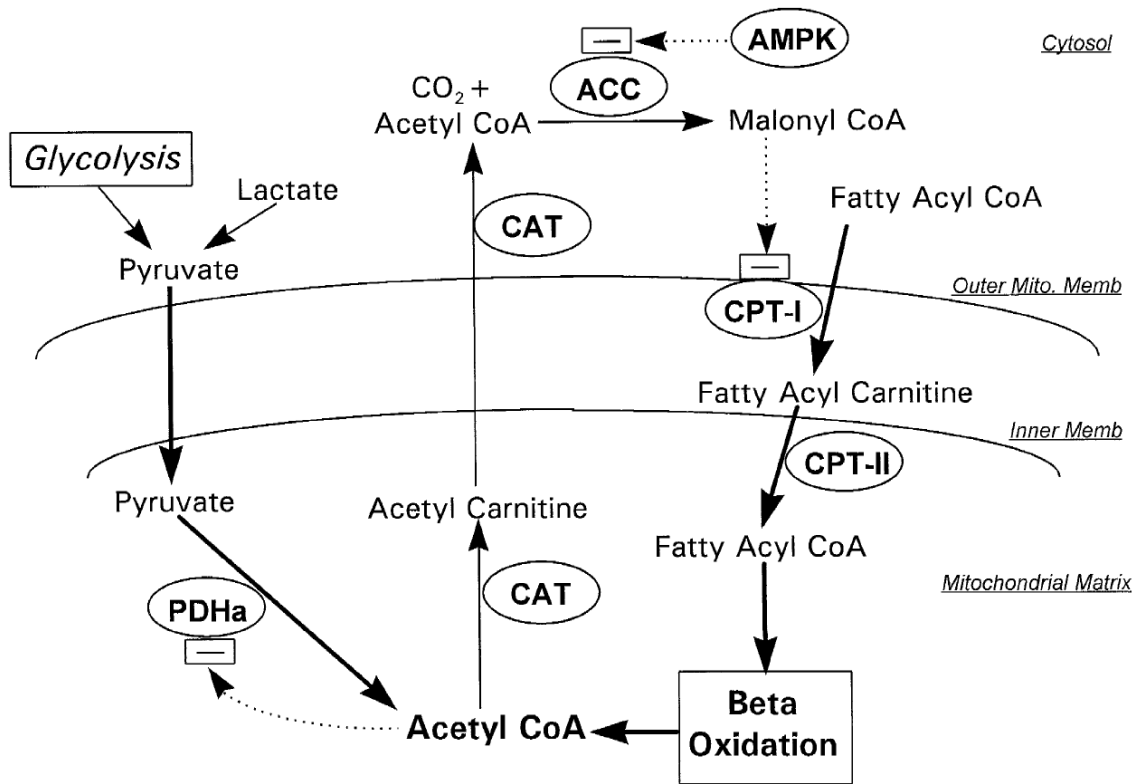


Figure 22. Inter-régulation des acides gras et de l'oxydation du pyruvate.

Figure tirée de Stanley, 1997¹¹⁷. Reproduction autorisée par « Oxford University Press ». Tous droits réservés.

Bref, le métabolisme cardiaque dépend de deux carburant principaux, soit les acides gras et les glucides (**Figure 23**). Par contre, le cœur peut utiliser les corps cétoniques, les acides aminés et d'autres substrats dans des conditions de stress. Le choix du substrat dépend de l'apport mais aussi de l'état du cardiomyocyte. Ainsi, une cellule fœtale est différente d'une cellule adulte, pouvant elle-même modifier ces besoins selon la condition métabolique dans laquelle elle se trouve¹. Par exemple, il est démontré que l'utilisation de lactate et de glucose comme carburant cardiaque est plus efficace que les acides gras pour une quantité d'oxygène donnée. En d'autres termes, les glucides consomment moins d'oxygène (MVO_2). Ils sont capables de produire 3,0 ATP par atome d'oxygène, alors que le taux pour les acides gras à longue chaîne est de 2,6 ATP¹¹⁸. Ainsi, une augmentation de la concentration plasmatique d'acide gras et l'ischémie modérée, induisant une inhibition de l'oxydation des glucides, diminuent l'efficacité du métabolisme cardiaque¹. Le tout sera expliqué en détail dans la **Section 3.2**.

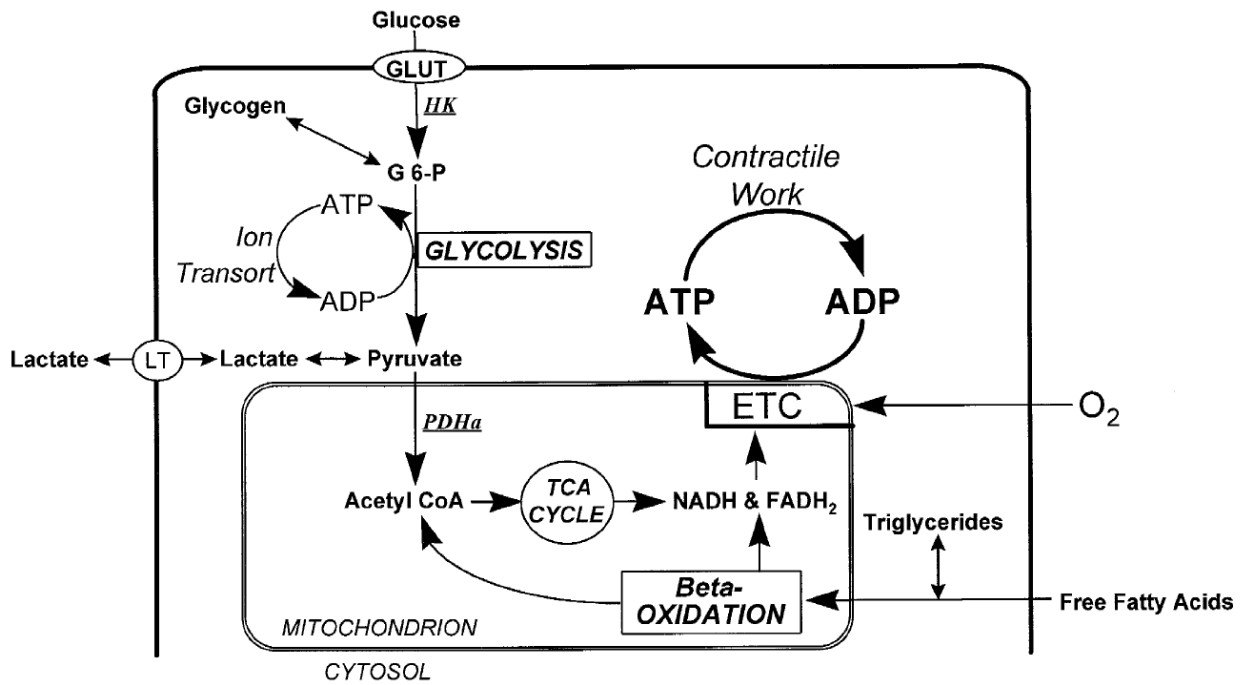


Figure 23. Métabolisme des différents substrats myocardiques
 Figure tirée de Stanley, 1997¹¹⁷. Reproduction autorisée par « Oxford University Press ». Tous droits réservés.

3.2 Les changements métaboliques de l'ischémie

Le métabolisme présenté ci-haut illustre le système de réactions complexe assurant l'inotropie cardiaque. Il est impossible de discuter du métabolisme cardiaque sans mentionner la circulation coronarienne, qui fournit les substrats et l'oxygène au cœur. Ainsi, il existe une intime relation entre le flux coronaire, le métabolisme oxydatif et la fonction cardiaque¹¹⁹. Par ailleurs, une altération du métabolisme cardiaque peut engendrer des atteintes permanentes au parenchyme. En effet, plusieurs maladies, telles que la cardiomyopathie ischémique, sont liées à des anomalies du métabolisme cardiaque physiologique. L'ischémie consiste en une diminution du niveau ou de la distribution de substrats métaboliques, incluant l'oxygène. Elle est due principalement à une maladie artérielle coronarienne qui diminue le flux sanguin¹¹³. Les conséquences de l'ischémie (**Figure 24**) dépendent de plusieurs aspects, tels que son degré, sa durée et sa rapidité d'apparition (aiguë vs chronique), de même que l'état physique (fréquence cardiaque, post-charge et contractilité) et métabolique du myocarde sous-jacent^{6,123}.

Selon Taegtmeyer, l'ischémie myocardique est avant tout un événement métabolique, qui est traduit par un déséquilibre entre la phosphorylation oxydative de l'ADP et l'hydrolyse de l'ATP. Ce roulement de l'ATP, extrêmement rapide dans le cœur, détermine l'état énergétique cellulaire. L'hydrolyse d'ATP utilise un ADP et un proton en plus d'un phosphate inorganique pour former l'ATP¹²³. La restauration d'un ATP à partir de la phosphocréatine est catalysée par la créatine kinase⁶. Cette même enzyme est nécessaire pour la conversion d'énergie chimique en énergie mécanique pour la contraction. Elle transfère un phosphate à haute énergie de l'ATP vers la créatine pour former l'ADP et une phosphocréatine³. En bref, le manque d'oxygène et de substrats entraîne une diminution de l'oxydation des acides gras, qui elle consomme l'oxygène inefficacement et qui inhibe l'oxydation du pyruvate¹¹⁸.

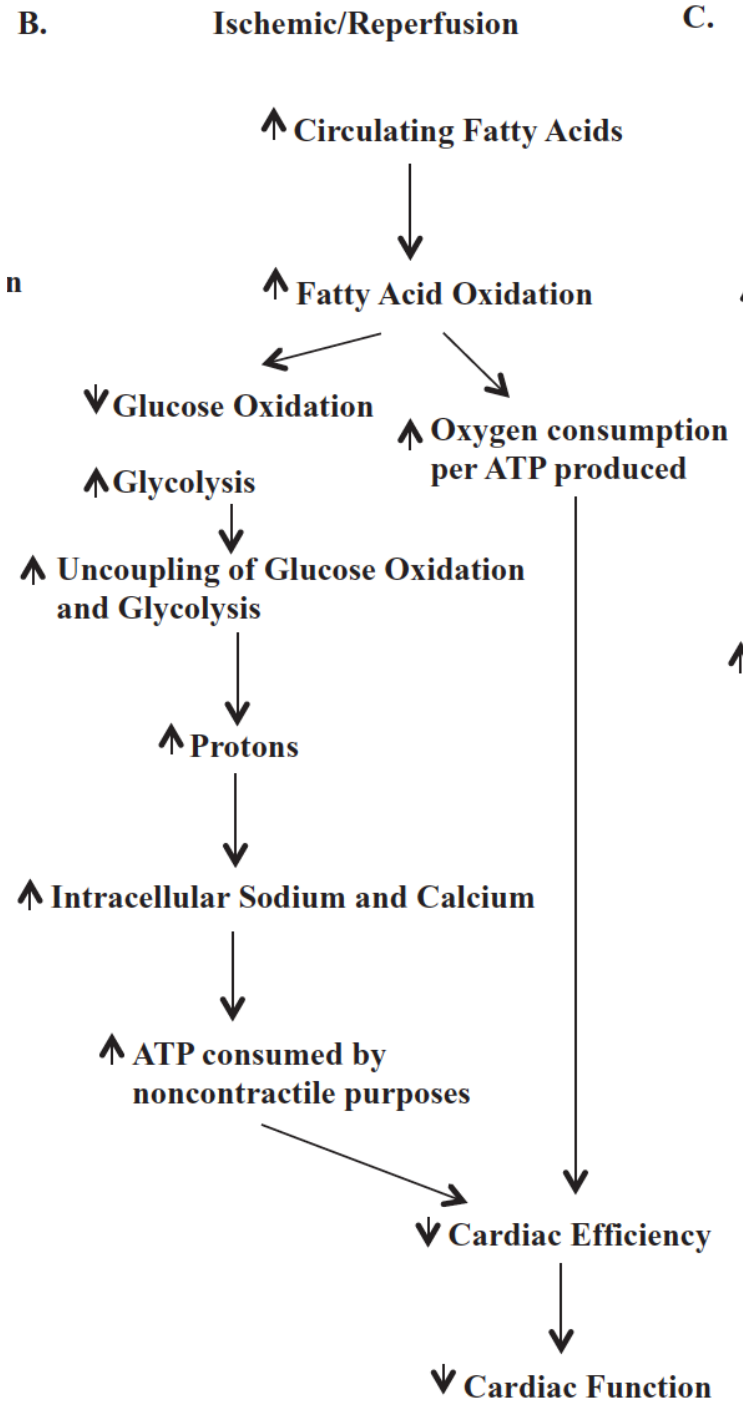


Figure 24. Dommage myocardique par ischémie-reperfusion
 Figure tirée de Fillmore, 2014¹²⁸. Reproduction autorisée par « John Wiley and Sons ». Tous droits réservés.

3.2.1 Les niveaux d'ischémie

Les conséquences d'une ischémie sur le myocarde dépendent du degré d'occlusion artérielle. Le premier événement qui se produit en cas d'un déséquilibre de l'apport et du besoin sanguin, c'est l'accumulation de lactate et le déficit phosphate à haute énergie proportionnels au niveau d'ischémie. Étant donné que la contraction du myocarde est dépendante de l'ATP, une ischémie sévère entraîne une hypokinésie pouvant évoluer en akinésie¹¹⁷, d'abord diastolique, puis systolique⁶. Les changements métaboliques sont initialement réversibles, mais une hypoxie soutenue peut engendrer une nécrose des cardiomyocytes, couramment appelée un infarctus du myocarde.

Tout d'abord, en cas d'ischémie modeste, une dysfonction contractile s'installe graduellement à cause d'une diminution du travail mécanique. La réponse métabolique à l'ischémie légère à modérée débute par une utilisation des réserves de glycogènes et une production de lactate par glycolyse anaérobie. Par contre, la β -oxydation reste possible, à un rythme moindre. Ainsi, les acides gras demeurent le carburant primaire¹¹⁷. Ces derniers, augmentés physiologiquement en état de stress par la stimulation adrénergique, sont en mesure d'inhiber paradoxalement l'oxydation du pyruvate¹¹⁸. Si l'ischémie est sévère ou soudaine, la dysfonction contractile devient presque complète, avec une détérioration de l'état cellulaire. En effet, l'accumulation de lactate devient plus importante et il y a une acidose intracellulaire. De plus, étant donnée l'absence d'apport sanguin de substrats, la cellule dépend de sources endogènes. La réserve de glycogène continue de diminuer¹¹⁷. Dans les **Sections 3.2.2** et **3.2.3**, les conséquences métaboliques et ioniques de l'ischémie seront détaillées, respectivement.

3.2.2 Les conséquences métaboliques

Étant donné le caractère aigu de l'ischémie, elle est contrebalancée par des changements métaboliques rapides. Tel que mentionné ci-dessous, à l'état ischémique aigu, le glucose devient le principal substrat énergétique¹¹³. L'ischémie engendre une absorption augmentée de glucose, entre autres via la translocation de GLUT4 stimulée par l'AMPK, ainsi qu'une utilisation des réserves de glycogène. Cette glycolyse, par la glycogène phosphorylase, est

stimulée par la diminution de l'ATP et l'augmentation de phosphate inorganique^{1,117}. À noter que la sévérité de l'ischémie détermine le taux d'absorption de glucose. En effet, l'extraction de sang est meilleure avec une ischémie modérée qu'une ischémie sévère. Ainsi, la translocation de transporteur permet une meilleure adaptation via une compensation de production d'énergie par la glycolyse¹²⁷. Par contre, lors d'une ischémie totale, contexte où l'apport sanguin de substrat est quasi nul, le glycogène devient le principal fournisseur de glucose¹²³. Par ailleurs, la régulation du métabolisme du glucose en ischémie dépend non seulement de l'extraction du glucose, mais aussi des enzymes impliquées, tel que décrit ci-dessous¹²⁷.

Tout d'abord, sachant que la production d'énergie par le métabolisme cardiaque dépend entre autres de la livraison des substrats et de l'oxygène, il est évident qu'un apport sanguin diminué voire absent, empêche l'oxydation d'acide gras et de glucose par la mitochondrie. Le cycle de Krebs ainsi que la chaîne de transport d'électron sont donc ralentis. Ceci engendre une accumulation d'acétyl-CoA non oxydé et de NADH non réduit. Ces produits activent la PDK qui inhibe à son tour la PDH, ne permettant pas d'oxydation du pyruvate en acétyl-CoA. Par conséquent, les cardiomyocytes doivent utiliser la glycolyse anaérobie pour produire de l'ATP sans oxygène, réaction très peu rentable (**Figure 25**). Une fois le glucose transformé en pyruvate, la glycolyse anaérobie produit du lactate à partir de ce dernier par le lactate déshydrogénase (LDH)^{113,117,128}. Ainsi, le cœur, consommateur de lactate à l'état physiologique, en devient producteur durant l'ischémie¹. L'accumulation de lactate semble être un des éléments qui déclenche la douleur thoracique, par stimulation des nerfs afférents, et la dépression du segment-ST sur l'électrocardiogramme chez les sujets avec angine et syndrome coronarien aigu¹¹⁸.

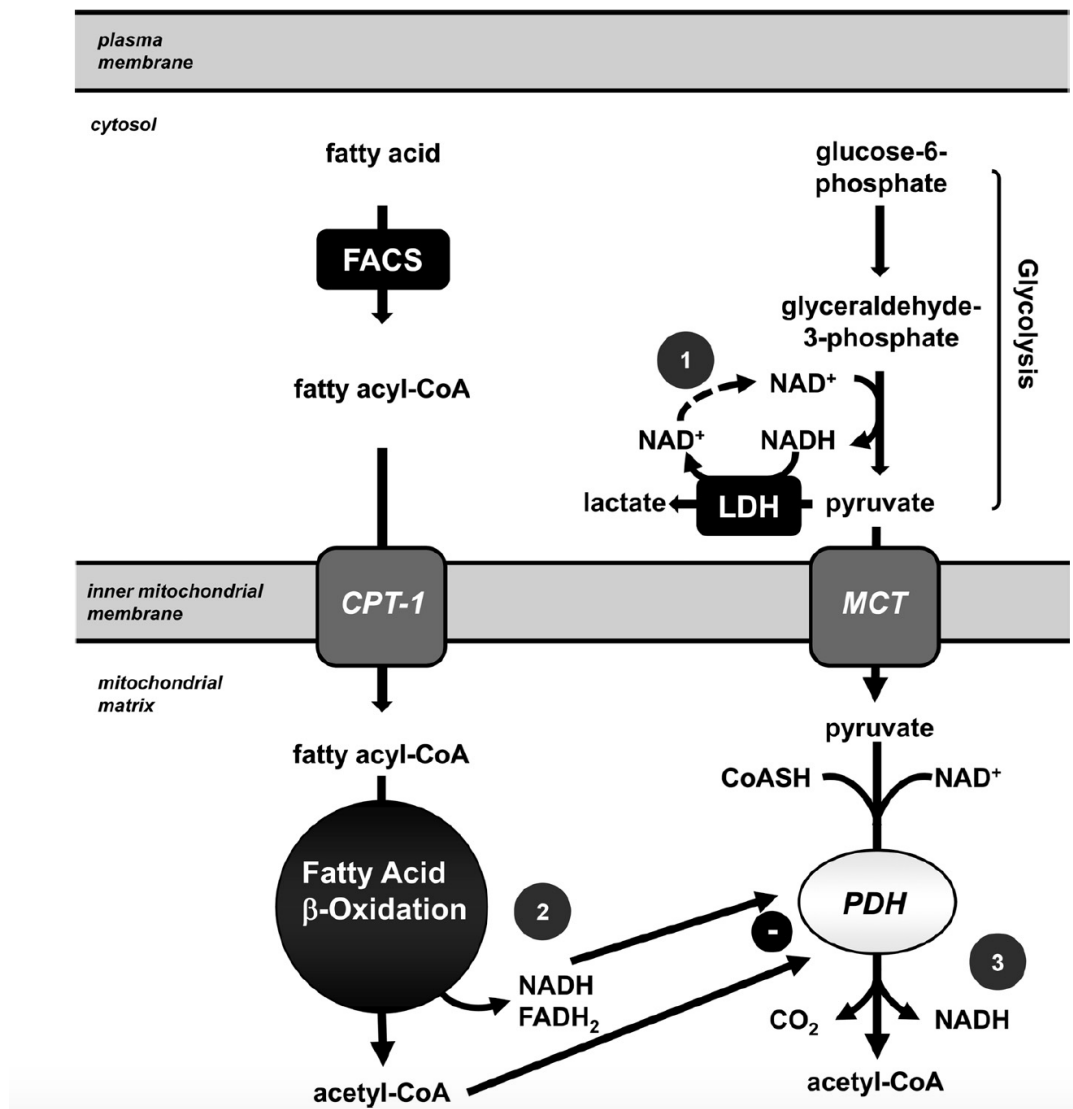


Figure 25. Effets de l'ischémie sur le NADH cytosolique et mitochondrial. Figure tirée de Ussher, 2012¹²⁹. Reproduction autorisée par « Wolters Kluwer Health, Inc. ». Tous droits réservés.

Par ailleurs, les modifications du métabolisme secondaires à l'ischémie ont d'importantes conséquences négatives sur l'efficacité de la cellule cardiaque. Tout d'abord, l'accumulation de lactate et de NADH inhibe GADPH de la glycolyse. Ainsi, l'acidose intracellulaire par excès de lactate exacerbe le découplage entre la glycolyse et l'oxydation du glucose, en inhibant paradoxalement la glycolyse anaérobie, seule option de production d'énergie chez le myocyte gravement ischémique¹¹³.

Il est intéressant de noter par contre que les régions du myocarde avec apport sanguin minimal sont en mesure de produire de l'énergie à partir d'acide gras, surtout en cas d'ischémie modérée. Cette production inhibe davantage la PDH, ce qui diminue davantage l'oxydation du glucose. L'inhibition de l'oxydation d'acide gras représente donc une issue thérapeutique pour diminuer les dommages liés à l'ischémie cardiaque, puisqu'elle augmenterait l'oxydation du glucose s'il y a un apport minimal de sang^{113,118}.

Tel que mentionné ci-dessus, l'AMPK a un effet régulateur positif sur le métabolisme des deux substrats, permettant ainsi de produire l'énergie nécessaire en situation de stress, comme l'exercice par exemple^{1,6}. Elle joue également un rôle protecteur dans l'ischémie du myocarde. Rapidement après le déficit de substrats et d'oxygène, l'accumulation d'AMP, causant une augmentation du ratio AMP/ATP active l'AMPK qui coordonne une réponse métabolique. En effet, elle stimule une augmentation de la glycolyse anaérobie entre autres via une phosphorylation de PFK-2. L'activation de cette enzyme exerce un feedback positif sur la PFK-1 via l'augmentation de F2,6BP^{126,130}.

En résumé, « la cardiomyopathie ischémique est une diminution de l'apport myocardique en oxygène; manifesté par un changement du substrat énergétique myocardique de préférence des acides gras au glucose. Cette altération d'utilisation du substrat se traduit par le non-couplage entre la glycolyse et l'oxydation du glucose, conduisant finalement à une diminution de l'efficacité cardiaque. »¹¹³ La glycolyse est donc cardio-protectrice durant l'ischémie.

3.2.3 Les conséquences ioniques

En état ischémique, l'équilibre ionique du myocyte est grandement affecté. En effet, le déficit énergétique de la cellule affecte la contraction musculaire et la concentration des ions. Cette dernière est souvent dépendante de l'ATP. Ainsi, en ischémie, la glycolyse devient extrêmement importante pour le maintien d'une concentration adéquate de sodium intracellulaire, via la pompe Na/K-ATPase, dépendante de l'ATP¹¹⁷.

De plus, dans le myocyte ischémique, il y a une accumulation de protons, entre autres par absence d'hydrolyse d'ATP¹²³. La surcharge de lactate exacerbe également l'acidose cellulaire¹.

Cette dernière exerce un effet inotrope négatif, par le calcium entre autres, et chronotrope positif, qui provoque le développement d'arythmies¹²³. L'excès de protons H^+ a un effet direct sur l'efficacité de la contraction cardiaque. En effet, la diminution du pH requiert une augmentation de la concentration de calcium pour une même contraction. Ceci a pour conséquence de diminuer l'ATP disponible pour la contraction cardiaque puisqu'une importante quantité de l'énergie est dépensée pour maintenir l'homéostasie du calcium^{1,113}. À noter qu'à l'état physiologique, le cœur dépense une quantité non négligeable (30-40%) d'énergie pour le maintien de l'équilibre ionique grâce aux différentes pompes¹. Finalement, l'excès de calcium intracellulaire affecte directement la fonction de la mitochondrie¹²³. L'augmentation des protons intracellulaires active l'échangeur Na^+/H^+ causant une élévation du sodium intracellulaire. Si celle-ci devient exagéré, il peut y avoir activation paradoxale de la pompe Na^+/Ca^{2+} qui affecte davantage l'homéostasie calcique, par augmentation du calcium intracellulaire, pouvant être fatale pour la cellule¹¹³.

Chapitre 4 – La métabolomique

4.1 Qu'est-ce que la métabolomique?

La métabolomique est une science apparentée à la « systéonomique ». Cette dernière est basée sur le concept d'homéostasie dynamique, présente chez tous les vivants dits « systèmes ». La systéonomique tente de prédire la réponse d'une cellule, d'un tissu, d'un organe ou d'un organisme, une fois la structure et le comportement dynamique de ce dernier connus et compris. En effet, en ayant connaissance des composantes biologiques, de leurs interactions et de leur variation dans le temps, il est possible d'étudier et de comprendre les organismes vivants dans leurs différents niveaux d'organisation, tant microscopiques que macroscopiques. Les différentes sciences de la systéonomique, soit la génomique, la transcriptomique, la protéomique et la métabolomique, permettent de concevoir l'homéostasie physiologique des organismes (**Figure 26**). Une fois l'équilibre interne connu, il devient alors possible d'étudier et d'interpréter l'effet de différents stimuli intrinsèques et extrinsèques, tels que des facteurs pharmacologiques, environnementaux ou nutritionnels. L'évolution pathophysiologique de différentes maladies et atteintes tissulaires peut également être étudiée. Ainsi, la systéonomique est la biologie des systèmes, qui englobe une approche intégrale et globale des vivants^{131,132}.

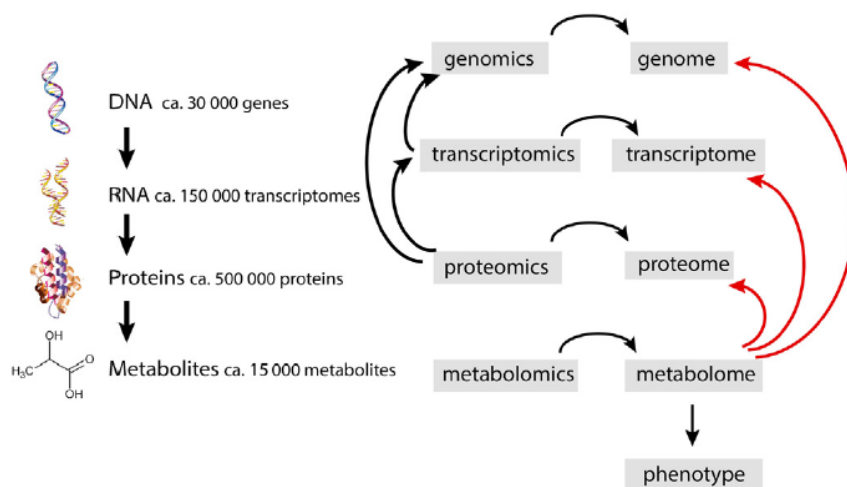


Fig. 1. The “omics” cascade in systems biology approach.

Figure 26. La cascade « omique » de l’approche biologique des systèmes
Figure tirée de Bujak, 2015¹³¹. Reproduction autorisée par « Elsevier ». Tous droits réservés.

La métabolomique est définie par Fiehn comme « l’analyse complète et quantitative de tous les métabolites d’un système ». Elle émerge de la protéomique et consiste en une « mesure des produits de l’expression protéique individuelle, c’est-à-dire les composants à bas poids moléculaires, nommés métabolites »¹³¹. Les métabolites généralement étudiés sont plus petits que 1500 dalton en taille. La métabolomique est le reflet ultime du phénotype d’un vivant, du gène à l’environnement¹³². En effet, l’évaluation du métabolome reflète le phénotype chimique d’un système biologique en temps réel, fonction de l’état dynamique dans lequel se trouve¹³¹.

4.1.1 Prélèvements et mesure du métabolome

L’étude métabolomique s’apparente à la métabonomique, termes jugés interchangeables dans la littérature puisqu’ils accusent de méthodes analytiques similaires au sein d’échantillons biologiques¹³¹. L’étude systématique des métabolites, initiée dans les années 1970, introduit une nouvelle approche métabolomique. En effet, cette méthode permet l’analyse d’un ensemble de métabolites spécifiques à un état particulier, plutôt qu’un seul. Ces

métabolites sont analysés dans les différents liquides corporelles, quantitativement et qualitativement, de façon très peu invasive¹³¹⁻¹³³. Tel qu'illustré à la **Figure 27**, le sang contribue à la grande majorité des études systématiques des métabolites. À noter que les différents métabolites documentés peuvent être surestimés lors de l'interprétation des données étant donné les sources extrinsèques¹³¹.

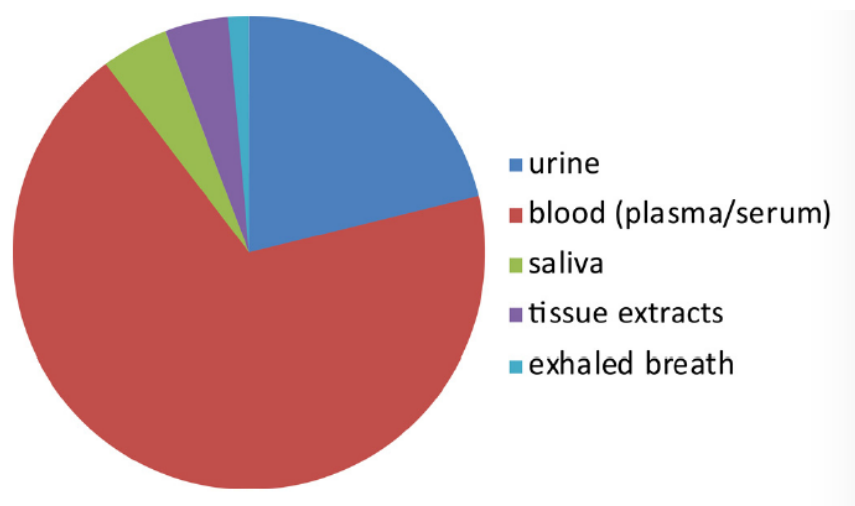


Figure 27. Proportion de la contribution des matériaux biologiques dans la recherche en métabolomique

Figure tirée de Bujak, 2015¹³¹. Reproduction autorisée par « Elsevier ». Tous droits réservés.

Le métabolome se mesure avec différentes techniques, utilisant la spectrométrie par résonance magnétique (*Nuclear Magnetic Resonance*, NMR) ou la spectrométrie de masse (*masse spectrometry*, MS)¹³³. Le NMR quantifie des métabolites selon la fréquence à laquelle ils sont détectés dans un champ magnétique alors que le MS les identifie en fonction du ratio masse/charge. La spectrométrie par NMR peut manquer de sensibilité si un métabolite est présent en faible quantité, mais il s'agit tout de même d'une méthode peu coûteuse et fiable grâce à une bonne reproductibilité. D'un autre côté, la MS utilise une méthode de chromatographie par gaz ou par liquide (*gas chromatography*, GC ou *liquid chromatography*, LC). Cette technique, quant à elle, est très sensible pour la détection de métabolites, même à faible concentrations¹³³.

4.1.2 Aperçu de la bio-informatique

Tel que mentionné précédemment, la métabolomique a d'importantes applications cliniques potentielles comme outil diagnostique et pronostic, car elle détecte des variations biologiques très subtiles¹³¹. Cependant, les données nombreuses et complexes issues de l'analyse biochimique nécessitent des méthodes bio-informatiques avancées pour réduire les biais et contrôler l'effet des variations biologiques indésirables^{134,135}. Les données massives générées sont d'abord analysées de façon exploratoire avec des outils statistiques et informatiques^{131,136} afin de les épurer et d'optimiser le grand potentiel de découverte. Le tout est ultérieurement confirmé par des analyses ciblées¹³⁷. De plus, des travaux récents ont mis en évidence la valeur des approches d'apprentissage automatique appliquées aux études métabolomiques pour classer les sujets et les patients sains. Ces nouvelles stratégies se sont révélées utiles pour construire des modèles discriminants et identifier des biomarqueurs candidats^{138,139}.

Dans un souci de fournir des données fiables, les analyses des sciences systémiques nécessitent un contrôle de qualité (*quality control*) serré des statistiques, grâce à diverses méthodes¹⁴⁰. Avec la variation interindividuelle et la quantité de métabolites, il existe un concept de *false discovery rate* (FDR). Ce dernier a été décrit il y a plusieurs années et est primordial dans les analyse de sciences systémiques¹⁴¹. À travers les multiples comparaisons effectuées lors de la génération des statistiques, la probabilité d'inclure des hypothèses faussement positives augmente. Ainsi, mesuré par la *p-value*, le FDR permet de déterminer la proportion des découvertes faussement jugées significatives au sein des hypothèses testées. L'estimation de la quantité faussement positive peut également être mesurées avec diverses tests statistiques, qui ne seront pas abordés ici¹⁴². L'interprétation d'un FDR peut se traduire ainsi : pour un FDR de 5%, il est possible d'affirmer que parmi les caractéristiques jugées significatives, 5% de ces dernières sont en réalité des hypothèses nulles. La *p-value* ajustée et la *q-value* sont concepts similaires, qui permettent également un contrôle de la qualité des données générées, pour augmenter la plausibilité des conclusions biologiques tirées¹⁴⁰.

Un autre des enjeux connus est celui de la projection des données sur une base bi-dimensionnelles. Initialement, le *principal component analysis* (PCA) était utilisé. Dans les

dernières années, le PCA a été surpassé par de multiples analyses, telles que le *t-distributed stochastic neighbor embedding* (t-SNE)¹⁴³, entre autres. L'utilisation de l'intelligence artificielle, appelée également *machine learning*, apporte une voie supplémentaire pour l'analyse des données^{134,139} à l'aide d'outils computationnels¹⁴⁰. L'article présente plusieurs méthodes d'analyses multivariées et multidimensionnelles (**Chapitre 5**). La théorie et les méthodologies bio-informatiques dépassent le cadre de ce mémoire et sont retrouvées ailleurs^{135,144,145}.

4.2 Les applications de la métabolomique

4.2.1 De la recherche vers la clinique

Il existe différentes approches métabolomiques systématiques en recherche, qui se distinguent par l'utilisation d'un panel de métabolites ciblé ou non ciblé (**Figure 28**). Le choix de la méthode dépend exclusivement de la question de recherche.

En général, l'étude de nouveaux marqueurs pour une maladie se fait par analyse non ciblée de métabolites. Parmi les méthodes non ciblées, le « metabolic fingerprinting » détecte les changements dans le métabolome entier à un état donné. Cette approche peut être utilisée pour comparer des cas-témoins et déceler des facteurs métaboliques diagnostiques et pronostiques potentiels, par identification et quantification d'un maximum de métabolites¹³¹. Ce profil est le plus intéressant en recherche, d'autant plus qu'il décrit l'état actuel de l'organisme dans son ensemble¹³². D'un autre côté, le « metabolic footprinting » est une analyse non ciblée qui concerne davantage les métabolites extracellulaires, soit l'exométabolome, utilisée davantage en microbiologie¹³¹. Finalement, le « metabolic profiling » est une méthode ciblée qui décrit quantitativement et qualitativement une partie distincte du métabolisme. Elle regroupe les métabolites selon leurs caractéristiques physicochimiques ou selon les pathways desquels ils font partie¹³². Par exemple, il est possible d'étudier isolément la cinétique des métabolites des acides gras et leur voie d'oxydation, ou celle des glucides.

L'approche ciblée, quant à elle, est effectuée après l'identification de métabolites avec les méthodes non ciblées énumérées ci-haut. Il devient donc possible d'effectuer un profil métabolique, soit une analyse des métabolites ciblés par une hypothèse préliminaire, aussi appelée signature métabolique. La variation de métabolites attendue dépend de la génétique ou d'une réponse pathologique, pharmacologie ou nutritionnelle. Les métabolites sont prédéfinis et regroupés selon leurs propriétés physicochimiques ou leur implication dans des voies biochimiques similaires. Par exemple, les glucides, les acides organiques et les nucléosides englobent chacun plusieurs métabolites au sein de leur groupe. Pour ce qui est des voies métaboliques, on retrouve la glycolyse, la néoglucogenèse, la β -oxydation et le cycle de l'acide citrique pour lesquels des panels de métabolites peuvent être étudiés. Cette méthode est considérée comme l'évolution de la métabolomique originale, effectuée jadis sur un seul métabolite. Dans le profil métabolique contemporain, l'analyse d'une multitude de métabolites permet de déterminer l'effet d'un stimulus sur l'homéostasie dynamique d'un système¹³¹.

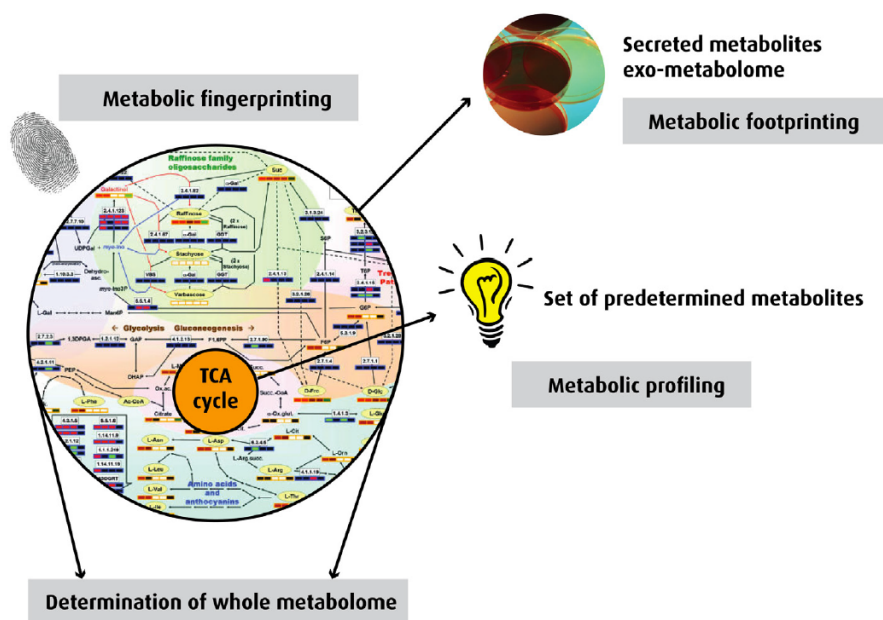


Fig. 3. The most commonly applied research strategies in metabolomics approach.

Figure 28. Stratégies de recherche communément appliquées dans l'approche métabolomique
Figure tirée de Bujak, 2015¹³¹. Reproduction autorisée par « Elsevier ». Tous droits réservés.

Étant donné que la métabolomique illustre les perturbations génomiques, transcriptomiques et protéomiques des vivants, elle permet de comprendre les différentes maladies et d'élaborer de nouveaux biomarqueurs. En effet, des altérations métaboliques ont le potentiel d'être détectables bien avant qu'une maladie devienne symptomatique cliniquement, permettant une prise en charge précoce. Parmi les multiples applications de la métabolomique, l'étude diagnostic et pronostic émerge dans les domaines pharmacologiques, toxicologiques et biomédicaux¹³¹, puisque la métabolomique reflète l'état d'un organisme, qu'il soit physiologique ou pathologique. Ainsi, une meilleure compréhension des phénomènes sous-jacents aux maladies permet de développer des outils préventifs et diagnostiques, des méthodes de stratifications du risque et des avenues thérapeutiques hautement spécifiques¹³².

En effet, en cardiologie, les empreintes digitales de la métabolomique sont utilisées pour identifier la réduction ou l'augmentation des quantités de divers métabolites afin d'interpréter les perturbations du métabolisme intrinsèque d'une cellule myocardique¹³³. Également, la métabolomique nous aide à comprendre les mécanismes pathologiques sous-jacents aux maladies cardiovasculaires complexes et multifactorielles, telles que l'infarctus du myocarde^{131,132} (**Section 4.2.3**). Les pathologies cardiovasculaires sont largement associées à des perturbations énergétiques du métabolisme cellulaire, notamment l'insuffisance cardiaque notable, la cardiopathie ischémique et d'autres cardiomyopathies¹²⁸.

De multiples enjeux sont associés aux études cliniques en métabolomique, entre autres en lien avec les nombreux confondants qui ont un impact significatif sur le profil, telles que le diabète, les maladies rénales, la stéatose hépatique et l'obésité, et qui conséquemment doivent être prises en considération lors des analyses¹³³. De plus, des médicaments communément utilisés dans le traitement des maladies cardiovasculaires, telles que l'héparine¹⁴⁶ (**Section 4.3.3**) ainsi que les statines¹⁴⁷⁻¹⁵², modifient le profil métabolique.

4.2.2 Biomarqueurs en cardiologie clinique

« Un biomarqueur est défini comme une valeur ou un paramètre particulier qui corrèle avec un état pathologique et qui peut être utilisé comme un outil diagnostique clinique précoce. »¹³²

Les cliniciens utilisent les biomarqueurs comme données paracliniques afin de mieux stratifier le risque cardiovasculaire. Par exemple, l'évaluation clinique de la douleur rétro-sternale est sous-optimale dans les urgences, même en 2020, et peut mener à un retard diagnostique. Entre autres, la distinction entre les SCA, les embolies pulmonaires et les dissections aortiques demeure imprécise pour certains patients. Ainsi, l'utilisation de biomarqueurs précis est de mise puisque la discrimination de ces pathologies par une questionnaire et un examen physique peut s'avérer limitée²⁵. Des biomarqueurs sanguins cardiovasculaires ont été présentés à la **Section 1.2.3**. Le présent chapitre discute la métabolomique en tant que science permettant des biomarqueurs plus sensibles et plus spécifiques.

La recherche de biomarqueurs en cardiologie relève des mécanismes pathophysiologiques sous-jacents à l'atteinte étudiée, soit l'ischémie des cardiomyocytes. Rappelons-nous que dans les 30 premières minutes d'ischémie, l'insulte, initialement réversible, puis la nécrose irréversible engendrent des changements cellulaires métaboliques, qui sont potentiellement détectables au niveau sanguin. Outre ces changements métaboliques, une libération de macromolécules secondaire à la destruction du sarcolemme se produit. Les troponines et les CK-MB y sont alors détectables. Ces protéines sont libérées dans la circulation sanguine après 30 à 60 minutes du début de l'insulte ischémique lorsque cette dernière est permanente. Ainsi, les dommages cellulaires réversibles associés à l'ischémie précoce ne sont pas nécessairement détectables avec des marqueurs biochimiques dans la circulation²⁴.

Tel que mentionné, les défis diagnostiques persistent dans les services d'urgence en contexte de douleur rétrosternale¹⁵³. L'incertitude diagnostique précoce des SCA peut entraîner des retards de traitement, qui à leur tour entraînent une augmentation des décès et des invalidités associées. Cliniquement, l'IAM est identifié grâce à un ECG et à une tendance cinétique de la troponine sanguine^{154,155}. L'ECG seul est insuffisant, car les changements ischémiques ne sont pas toujours spécifiques¹⁵⁴. Quant à elle, la troponine, protéine structurelle du cœur, est le

principal biomarqueur utilisé pour les dommages cardiaques en milieu clinique^{154,156}. D'autres biomarqueurs cardiaques existent, tels que la copeptine¹⁵⁷ et la myoglobine, et augmentent rapidement avec une nécrose myocardique mais sont moins spécifiques¹⁵⁵. La plus récente troponine sanguine à haute sensibilité est plus sensible et plus spécifique au muscle cardiaque que la troponine standard^{154,156}, et s'est avérée supérieure à la troponine conventionnelle pour le diagnostic et le pronostic¹⁵⁸. Elle est également en corrélation avec la taille de l'IAM¹⁵⁵. Cependant, malgré sa grande sensibilité, un intervalle d'au-moins trois (3) heures, plus souvent six (6) heures, est nécessaire pour détecter une élévation de la troponine secondaire à une nécrose myocardique dans les SCA¹⁵⁵. En outre, le concept de « dommage myocardique », au-delà du syndrome clinique de l'IAM, a été largement accepté¹¹. Des variations mineures de la troponine peuvent refléter une souffrance myocardique, sans nécessairement être un SCA cliniquement. Il a été démontré que ces dommages myocardiques ont un impact clinique significatif. En effet, une troponine élevée trois (3) jours après une chirurgie non cardiaque, sans événement coronarien identifié, est associée à une mortalité accrue¹⁵⁹. Bref, sachant qu'une nécrose complète des cardiomyocytes secondaire à une ischémie prend quelques heures être détectée¹¹, il y a un grand intérêt à trouver des marqueurs rapides de l'ischémie myocardique pour mieux stratifier les patients atteints de SCA.

L'émergence de la métabolomique dans le domaine des biomarqueurs cliniques et biomédicaux s'accompagne de plusieurs considérations bien établies. Tout d'abord, un biomarqueur doit orienter le clinicien en termes diagnostic, pronostic et thérapeutique²⁵. L'élévation des troponines avec douleur rétrosternale indique au médecin une atteinte cardiaque probable et oriente donc le traitement. Ensuite, un biomarqueur doit être comparable à l'étalon-or connu, en termes de spécificité et de sensibilité. Finalement, un biomarqueur doit être rapidement détectable, et ce, à faible coût, pour permettre une utilisation clinique rentable²⁵. Bref, pour qu'un nouveau marqueur biologique s'impose, ce dernier doit être similaire ou surpasser l'étalon-or connu, en plus d'avoir des caractéristiques de détection justifiant son utilisation en clinique.

Les études du métabolome sont facilement sujettes à des facteurs confondants, tel que les métabolites provenant de la diète et de molécules pharmacologiques¹⁴⁶. En effet, le métabolisme cellulaire est affecté par divers éléments biologiques, intrinsèques et extrinsèques, temporaires ou permanents. De ce fait, de multiples facteurs confondants doivent être pris en considération dans l'analyse statistique des études de biomarqueurs métabolomiques. Ces derniers seront discutés dans le prochain chapitre.

4.2.3 Ischémie myocardique

De nombreux groupes de recherche ont tenté de comprendre les processus physiopathologiques à l'origine de l'ischémie cardiaque et des syndromes coronariens aigus par la métabolomique. Vous trouverez ci-dessous des études métabolomiques sélectionnées sur la maladie coronarienne et l'ischémie myocardique, résumées avec des détails sur les métabolites modifiés par l'ischémie dans le **Tableau 3**. Il s'agit d'une revue non-exhaustive des études faites sur les humains dans les dernières années. Différentes revues sur l'utilisation de la métabolomique en cardiologie ont été publiées et citées ci-dessous^{132,133,141,160}.

Facteurs de risque de maladie cardiaque athérosclérotique

En 2002, des échantillons de sérum de 36 patients atteints de coronaropathie à triple vaisseau sous angiographie élective sont comparés à 30 patients souffrant d'angine de poitrine avec coronaires normales. L'étude montre que les spectres RMN des métabolites lipidiques peuvent prédire la présence et la gravité de la maladie coronarienne, par rapport à l'angiographie standard¹⁶¹. Cette étude est ultérieurement rectifiée : l'analyse par RMN s'est avérée être un faible prédicteur de la maladie coronarienne, principalement en raison d'un traitement hypolipémiant aux statines¹⁶².

Une autre étude utilise la métabolomique comme modèle du risque cardiovasculaire. 2023 patients subissant un cathétérisme cardiaque sont suivis pendant une durée médiane de 3,1 ans. 69 métabolites sont analysés sur des échantillons de plasma artériel immédiatement avant la procédure. Dans l'analyse multivariée, les données montrent que cinq (5) métabolites sont indépendamment liés à la mortalité et trois (3) métabolites à la mort/IAM¹⁶³.

Récemment, un groupe allemand publie deux études de cohorte adressant l'incidence de maladies cardiovasculaires chez des patients initialement en bonne santé, suivis pour une durée médiane de 7,5 ans. Des échantillons de sang avant l'IAM sont obtenus à partir d'une base de données afin d'identifier les biomarqueurs associés à un risque cardiovasculaire. Dix (10) métabolites, dont 4 sphingomyélines et 6 phosphatidylcholines, sont identifiés comme des associés à une incidence plus élevée d'IAM. Parmi ces métabolites, trois (3) sont liés à l'IAM indépendamment des facteurs de risque cliniques et biologiques connus¹⁶⁴.

En termes de facteurs biochimiques, il est clairement établi qu'une concentration élevée LDL et un faible taux de HDL dans le sang mènent à un risque accru d'événements cardiovasculaires. Holmes et al. étudient les sous-classes de lipoprotéines, les caractères lipidiques et les métabolites circulants pour établir des facteurs de risque d'IAM, d'AVC et de saignement intracrânien. Dans cette étude de cohorte prospective, les concentrations de triglycérides et de cholestérol ainsi que d'apolipoprotéine A1 et d'apolipoprotéine B affectent leur pathogénicité au sein d'une molécule de diamètre moyen similaire. Cette enquête montre qu'une stratification clinique supplémentaire est possible par profilage lipidique¹⁶⁵.

Diagnostic des syndromes coronariens aigus

En plus de mieux stratifier le risque cardiovasculaire, la métabolomique permet une meilleure compréhension des changements dynamiques de l'ischémie aiguë. Par conséquent, la métabolomique est utilisée pour l'identification de biomarqueurs sanguins diagnostics, tel qu'évoqué précédemment. Dans une étude, des échantillons sériques de 18 patients avec ischémie inducible au test de stress sont comparés à 18 témoins. L'analyse des métabolites est faite par chromatographie en phase liquide et spectrométrie de masse. Les échantillons de sang sont collectés immédiatement avant et immédiatement après, ainsi que 4 heures suivant le test de stress, chaque patient étant son propre contrôle. L'analyse statistique montre principalement une altération des métabolites du cycle de l'acide citrique, essentiel à la phosphorylation oxydative des cardiomyocytes¹⁶⁶.

Des changements métaboliques d'une ischémie plus soutenue en SCA sont également étudiés. En comparant des patients avec SCA, des patients atteints d'athérosclérose carotidienne stable et des témoins, une étude identifie huit (8) métabolites significativement modifiés dans l'IAM. Ces métabolites ont une signification clinique variable dans les SCA¹⁶⁷. Une autre étude combine la métabolomique plasmatique non ciblée et ciblée de 19 patients avec IAM-ST-, à temps zéro et au jour 4 ainsi que deux et six mois après l'événement. À l'aide de méthodes de spectrométrie de masse par chromatographie en phase gazeuse, une analyse métabolomique non ciblée est d'abord effectuée. Ensuite, un spectre ciblé d'acides gras est appliqué sur les 82 échantillons de plasma, étant donné l'impact démontré des acides gras sur le métabolisme en SCA. L'analyse non ciblée des métabolites montre de nombreux métabolites modifiés de manière significative chez les cas comparativement aux témoins. En termes de temporalité, les 21 acides gras ciblés sont élevés au moment du SCA, diminuent après 4 jours, en partie à cause des statines et des β -bloquants, mais leurs valeurs ne se normalisent pas, même après 6 mois¹⁶⁸.

Avec une méthodologie différente, une étude explore les modifications des métabolites dans l'infarctus du myocarde prévu (PMI), effectué en cardiomyopathie obstructive hypertrophique par ablation septale avec alcool chez l'homme. À l'aide d'une plateforme métabolomique ciblée, les auteurs comparent le PMI à l'infarctus du myocarde spontané (SMI) et aux témoins négatifs. Les patients PMI sont hautement représentatifs du groupe SMI en termes de caractéristiques cliniques et de métabolites altérés. Les échantillons de sang en série sont obtenus à partir de veines périphériques et du sang veineux cardiaque. Les résultats montrent divers métabolites statistiquement significatifs associés au PMI (**Tableau 3**). Fait intéressant, les échantillons du sinus coronaire dévoilent des changements statistiquement significatifs pour des métabolites additionnels, ce qui illustre une perte de sensibilité dans l'échantillon de sang périphérique principalement en raison de la dilution¹⁶⁹.

Une étude plus récente identifie les métabolites associés à l'IAM. On compare 30 patients atteints d'IAM secondaire à une carence en Qi et à une stase sanguine avec 30 témoins pairés. Les échantillons de plasma de 1 à 6 mois sont adressés par LC-MS. L'analyse multivariée révèle

dix (10) métabolites importants, qui illustrent des perturbations du métabolisme énergétique, du métabolisme des acides gras et des phospholipides après l'événement cardiovasculaire¹⁷⁰.

Ischémie et reperfusion

De nos jours, l'intervention coronarienne percutanée (PCI) est la pierre angulaire du traitement des SCA chez les patients éligibles. La reperméabilisation des artères coronaires implique une reperfusion du myocarde, qui à son tour entraîne des changements métaboliques nocifs appelés lésions d'ischémie-reperfusion. Turer et al. utilisent la cardioplégie chirurgicale comme modèle d'ischémie-reperfusion (I-R) dans l'intention d'évaluer les changements métaboliques en lien avec la maladie coronarienne préexistante et le dysfonctionnement ventriculaire. Avec des échantillons de sang artériel et du sinus coronaire, le métabolisme myocardique lié aux lésions d'I-R est présenté montrant des différences significatives dans l'utilisation du substrat¹⁷¹.

Ainsi, l'impact métabolique de l'I-R sur le territoire coronarien d'un SCA reperfusé modulent nécessairement le profil métabolomique étudié cliniquement et est reflété dans les analyses. Une étude avec des métabolites plasmatiques ciblés compare des patients subissant une PCI pour IAM-ST+ à des patients avec un IAM-ST-, une angine stable ou une PCI élective. Des échantillons dans l'artère et le sinus coronaire ainsi que dans le sang périphérique sont obtenus. Cette étude montre une augmentation de la libération cardiaque du succinate chez les patients IAM-ST+, qui est également en corrélation avec l'étendue du muscle cardiaque dans les deux jours suivant la PCI à l'imagerie par résonance magnétique (IRM), faisant de ce métabolite « un marqueur précoce de lésion ischémique » et « une cible thérapeutique potentielle »¹⁷².

En termes de biomarqueurs lipidiques, un groupe chinois étudie 40 patients diagnostiqués avec un IAM-ST+ avec PCI précoces. Des échantillons sanguins sont obtenus à T0 (avant la reperfusion), à T2 et à T24, 2 et 24 heures après la PCI, respectivement. Les résultats démontrent que 16 acides gras sont significativement inférieurs à T2 et T24, par rapport à T0. Ces lipides diminuent progressivement de T0 à T24, mais leurs niveaux sont de 1,5 à 2 fois plus

élevés en T2 par rapport à T24. Les auteurs concluent que « la variation des acides gras dans le contexte du SCA peut conduire à une meilleure compréhension de la physiopathologie de l'infarctus du myocarde et des lésions d'ischémie-reperfusion¹⁷³ ».

Héparine

L'héparine stimule la lipolyse et modifie par conséquent le métabolisme cardiaque et le profilé métabolomique des patients traités. En effet, l'héparine engendre une libération de la lipoprotéine lipase de différentes cellules (endothéliales et hépatiques). Cette enzyme cause une augmentation de son action sur les triglycérides contenus dans les VLDL et dans les chylomicrons alimentaires. La réaction d'hydrolyse des TG libère un monoglycérol et deux acides gras non-estérifiés (« nonesterified fatty acids », NEFA). Brunner et. al. se penchent sur l'effet de cette molécule pharmacologique sur les métaboliques sanguins de sujets avec SCA. Ils démontrent que quatre (4) métabolites diffèrent entre les sujets exposés à l'héparine comparativement à ceux non-exposés. La différence pré-procédure et post-procédure du β -hydroxybutyrate, des NEFA, des cétones et des triglycérides est statistiquement significative dans le groupe héparine¹⁴⁶. Ainsi, il faut tenir compte de ces variations secondaires à l'administration d'héparine chez les patients avec SCA lors d'étude de la signature métabolique.

Tableau 3. Résumé des études métabolomiques en MCAS et SCA (tiré d'un article de revue en préparation) – *en anglais*

	Description	Metabolomics Approach	Biological Material	Population	Analytical Technique	Statistical analysis	Results	References
Risk factors of coronary artery disease and myocardial infarction	Diagnosis of coronary artery disease and its severity	Untargeted analysis	Serum	36 cases (triple vessel disease on angiography) 30 controls (normal coronaries on angiography)	H-NMR spectroscopy	PCA PLS-DA with a "test-set" OSC	Lipids correlate to coronary artery disease	Brindle 2002 ¹⁶¹
	Baseline plasma metabolomics profile independently predict cardiovascular events after adjustment for known clinical risk	Targeted analysis	Plasma	2023 patients in observational study	LC-MS/MS	PCA Cox-modeling for end-points	<u>Metabolites independently associated with mortality:</u> -medium-chain acylcarnitines -short-chain dicarboxylacylcarnitines -long-chain dicarboxylacylcarnitines -branched-chain aminoacids -fatty acids <u>Metabolites independently associated with mortality/MI:</u> -medium-chain acylcarnitines -short-chain dicarboxylacylcarnitines -fatty acids	Shah 2012 ¹⁶³
	Identification of metabolites associate with the prevalence of MI in previously healthy individuals followed for 7.5 years	Targeted	Serum	2 cohorts of cases (N=204 and N=228) 2 cohorts of controls (N=2214 and N=770)	/	Cox regression model Multivariate adjusted model	<u>Metabolites:</u> diacyl-phosphatidylcholines C38:3 and C40:4, acyl-alkylphosphatidylcholines C36:3, C38:3, C38:4 and C40:3, sphingomyelins C16:0, C24:0 and C16:1, hydroxy-sphingomyelin C22:1	Floegel 2018 ¹⁶⁴
	Characterizing lipoproteins beyond what is biochemically measured to	Targeted	Plasma	912 cases (MI) 1466 controls	NMR spectroscopy	Pearson's correlation Logistic	Lipoproteins concentrations of triglycerides and cholesterol as well as apolipoprotein-A1 and apolipoprotein-B	Holmes 2018 ¹⁶⁵

	identifie particules and metabolites with higher risk of CVD					regression with adjusted OR	affect their pathogenicity within a molecule with similar mean diameter	
Acute coronary syndrome biomarkers	Biomarkers of myocardial ischemia during stress-test	Untargeted analysis	Serum	18 cases (inducible ischemia on stress testing) 18 controls (no ischemia on stress testing)	LC-QqQ/MS	Wilcoxon rank-sum test with X-Y scattered plot of statistical significance	<u>Decreased in cases:</u> γ -aminobutyric acid, MET288, oxaloacetate, citrulline, arginosuccinate, MET200 <u>Increased in cases:</u> MET193 and MET222	Sabatine 2005 ¹⁶⁶
	Plasma metabolite fingerprint of NSTEACS	Untargeted	Plasma	9 cases (ACS at the 4 th day of hospitalization) 10 cases (stable carotid atherosclerosis) 10 controls	GC-MS	PCA PLS-DA	<u>Decreased in cases:</u> citric acid, 4-hydroxyproline, aspartic acid, fructose <u>Increased in cases:</u> lactate, urea, glucose, valine	Vallejo 2009 ¹⁶⁷
	Plasma untargeted and targeted fatty acid spectrum in acute coronary syndrome over time	Untargeted and targeted analysis	Plasma	19 cases (ACS at 4 time points) 6 controls	GC-MS	PCA PLS-DA	<u>Altered metabolites:</u> glucose, lactate, pyruvate, fructose, trihydroxybutyrate, myoinositol, isocitrate, malate, succinate, oxalate, aminoacids <u>Fatty acids:</u> all 21 FA elevated at time 0, decreased at 4 days and remain low at 6 months, yet never fully reverting after 6 months	Teul 2011 ¹⁶⁸
	Plasma metabolite profiling from individuals undergoing planned myocardial infarction for hypertrophic obstructive cardiomyopathy	Targeted	Plasma	36 cases of PMI (20 derivation and 16 in validation) 12 positive controls (SMI with ST-elevation)	LC-MS	Wilcoxon rank-sum test	<u>10 minutes:</u> alanine, aminoisobutyric acid, hypoxanthine, isoleucine/leucine, malonic acid, threonine, TMNO <u>60 minutes:</u> 1-methylhistamine, alanine, aminoisobutyric acid, choline, hypoxanthine, isoleucine/leucine,	Lewis 2008 ¹⁶⁹

				25 negative controls (elective diagnostic angiography)			inosine, malonic acid, proline, serine, threonine, TMNO, xanthine	
	Metabolic profiling of plasma samples of patients with MI and qi deficiency to identify biomarkers of the disease	Untargeted	Plasma	30 cases 30 controls	LC-MS (UPLC/ESI-Q-TOF/MS system)	PCA PLS-DA	Altered metabolites: phosphatidylserine, C16-sphingosine, N-methyl arachidonic amide, N-(2-methoxyethyl) arachidonic amide, linoleamidoglycerophosphate choline, lyso-PC (C18:2), lyso-PC (C16:0), lyso-PC (C18:1), arachidonic acid, and linoleic acid	Zhu 2018 ¹⁷⁰
Ischemia/reperfusion injury	Metabolic changes of global heart ischemia in surgical cardioplegic arrest allows better understand of cardiac metabolism in decreased substrate situations	Targeted	Plasma	12 cases with CAD 10 cases of LVD 17 controls	MS	PCA	“General decrease in oxidative fuel metabolism and greater reliance on anaerobic metabolism of glucose energy” -Increase of acetyl-carnitine and β -hydroxybutyryl-carnitine elution, lactate release -Decrease ketone extraction, trend to decreased fatty acid extraction	Turer 2009 ¹⁷¹
	Heart metabolites study post-PCI in STEMI patients compared to control, with MRI testing to quantify myocardial injury	Targeted	Plasma	115 cases (PCI for acute STEMI) 26 controls (elective PCI or PCI for stable angine/NSTEMI)	LC-MS	Kruskal-Wallis test Spearman rank correlation	Increased cardiac release of succinate in STEMI patients; correlated with the extent of heart muscle within 2 days of PCI on MRI	Kohlhauer 2018 ¹⁷²
	Lipidomics in STEMI patients before and after PCI reperfusion to better understand the impact of lipid metabolism of ischemia-reperfusion injury	Targeted	Serum	40 cases of STEMI	LC-ESI-MS/MS	Turkey’s multiple comparison test PCA PLS-DA	16 fatty acids: myristic acid, palmitic acid, palmitoleic acid, heptadecanoic acid, stearic acid, oleic acid, linoleic acid, g-linolenic acid, eicosanoic acid, eicosadienoic acid, eicosatrienoic acid, arachidonic acid, eicosapentaenoic acid, hexadecyl azelaoyl phosphatidylcholine, docosapentaenoic acid, and docosahexaenoic acid.	Feng 2018 ¹⁷³

Chapitre 5 – Contribution originale

L'infarctus du myocarde constitue un fardeau important pour les sociétés. Malgré des molécules et des interventions de plus en plus performantes, la prévalence de cette maladie ainsi que l'insuffisance cardiaque et la diminution de la qualité de vie secondaire, demeurent élevées. Il est bien établi que les antiplaquettaire constituent une pierre angulaire du traitement et diminue significativement la mortalité.

Les hypothèses et objectifs de l'article sont présentés ci-dessous. En tant que co-premier auteure, j'ai contribué à la revue de littérature extensive en lien avec l'article, au plan des analyses statistiques et à la rédaction de l'article, sous la supervision du Dr E. Marc Jolicoeur. Pamela Mehanna, co-premier auteure et bio-informaticienne, a mené les analyses statistiques avec ses collègues, sous la supervision du Dre Julie Hussin. Matthieu Ruiz a participé à l'élaboration des hypothèses et à la discussion. Tous les auteurs ont contribué à l'élaboration du projet, à la rédaction de la discussion et/ou à la révision du manuscrit.

5.1 Hypothèses

Les hypothèses du travail de recherche sont les suivantes :

- L'infarctus du myocarde est associé à une signature métabolomique distincte qui mènera à la découverte de biomarqueurs plus précoce que la troponine.
- La métabolomique et la bio-informatique permettront d'expliquer la supériorité de l'effet du ticagrelor dans la double thérapie antiplaquettaire.

5.2 Objectifs

Les objectifs du travail de recherche sont les suivantes :

- Identifier une signature métabolomique robuste de l'infarctus du myocarde et potentiellement de nouveaux biomarqueurs.
- Illustrer l'effet du traitement anti-plaquettaire.
- Comparer le clopidogrel au le ticagrelor et expliquer la supériorité de ce dernier avec de nouveaux effets pléiotropiques.
- Développer une approche innovatrice utilisant la bio-informatique et les sciences computationnelles.

5.3 Article

Ticagrelor Differentially Modulates Omega-3/6 Polyunsaturated Fatty Acids Levels Compared to Clopidogrel in Patients with Myocardial Infarction

N. Karla Samman MD^{*,a,b}, Pamela Mehanna MSc^{*,b}, Matthieu Ruiz PhD^{a,b}, Emad Takla Eng^b, Jean-Christophe Grenier MSc^b, Mark Y. Chan MD MHS^c, Renato D. Lopes MD PhD^d, Megan Lee Neely Ph. D^d., Tracy Y. Wang, MD MHS^d, L. Kristin Newby MD^d, Richard C. Becker MD PhD^e, Marie Lordkipanidzé^{a,f} B.Pharm, MSc, PhD, Julie Hussin^{a,b,†} PhD, E. Marc Jolicœur^{a,b,†} MD, MSc, MHS,

** These authors contributed equally to this work and share co-first authorship.*

† These authors contributed equally to this work and share co-senior authorship.

Affiliations:

^a Montreal Heart Institute, Montréal, Québec, Canada

^b Department of Medicine, Université de Montréal, Montréal, Québec, Canada

^c National University Heart Centre, Singapore, Singapore

^d Duke Clinical Research Institute, Durham, NC

^e College of Medicine, University of Cincinnati, Cincinnati, OH

^f Faculty of Pharmacy, Université de Montréal, Montréal, Québec, Canada

Funding: The study was sponsored by AstraZeneca, which had no role in the design of the protocol, the conduct of analyses, or in the writing of the drafts of the manuscript or in the management or analysis of the data, although it had the right to a nonbinding review.

Disclosures: E.M. Jolicœur is supported by research grants from Les Fonds la Recherche du Québec en santé (FRQS), and the Canadian Institutes for Health Research (CIHR). J.G. Hussin is a FRQS Junior 1 Research Scholar supported by the Institute for Data Valorization (IVADO). ML is a Fonds de Recherche du Québec en Santé (FRQS) Junior 1 Research Scholar.

Conflicts of interest:

ML has received speaker honoraria from Bayer; has participated in industry-funded trials from Idorsia; and has received in-kind and financial support for investigator-initiated grants from Leo Pharma, Roche Diagnostics and Aggreedyne.

Address for correspondence:

E. Marc Jolicoeur MD MSc MHS

Montreal Heart Institute, 5000 Bélanger Est, Montréal, Québec, Canada. H1T 1C8.

Phone: (514) 376-3330. Fax: (514) 593-2155.

E-mail: marc.jolicoeur@icm-mhi.org

Julie G. Hussin, PhD

Montreal Heart Institute, 5000 Bélanger Est, Montréal, Québec, Canada. H1T 1C8.

Phone: 514-376-3330 #2028

E-mail: julie.hussin@umontreal.ca

Word count: 3,734 words

ABSTRACT (238 words)

Background: In acute coronary syndromes, ticagrelor improves outcomes compared with clopidogrel through more intense platelet inhibition and possibly through yet unknown mechanisms. Untargeted metabolomics has the potential to help understand the potential pleiotropic effects of ticagrelor.

Objectives: To identify a metabolomic signature that discriminates clopidogrel- vs ticagrelor-treated patients with ST-segment elevation myocardial infarction (STEMI) treated by primary percutaneous coronary intervention (PCI).

Methods: 88 participants of the PLATelet inhibition and patient Outcomes (PLATO) trial treated with clopidogrel were compared to 87 participants treated with ticagrelor, after being matched by age, sex, dyslipidemia and diabetes mellitus. Plasma untargeted mass spectrometry (MS)-based metabolomics profiling was performed at baseline and repeated at hospital discharge and compared between assigned treatment (clopidogrel vs. ticagrelor) with differential quantification analysis, analysis of variance, co-modulation network construction and machine learning techniques.

Results: Concentrations of eight metabolites were different by treatment assignment at discharge, six of which belonged to the polyunsaturated fatty acids (PUFAs) omega-3 (n3), and omega-6 (n6) biosynthesis pathways. Participants treated with ticagrelor had significantly higher plasma concentrations of α and γ linolenate (n3 and n6), dihomo-linolenate (n6), stearidonate (n3), docosahexaenoate (DHA; n3), eicosapentaenoate (EPA; n3) and arachidonate (AA; n6).

Conclusion: Among patients with successfully-reperfused STEMI, untargeted metabolomics revealed that metabolites involved in omega-3 and omega-6 biosynthesis were significantly higher at discharge with ticagrelor treatment compared with clopidogrel treatment. Additional research will be required to understand the interactions between ticagrelor, platelet biology and PUFAs in STEMI.

Keywords: clopidogrel, ticagrelor, pleiotropic, omega-3 fatty acids, metabolomics, bioinformatics.

INTRODUCTION

Ticagrelor reduces the occurrence of ischemic events compared with clopidogrel in acute coronary⁹³ and chronic coronary syndromes¹⁷⁴. Beyond more potent P2Y₁₂ receptor inhibition, ticagrelor is assumed to exert pleiotropic effects through adenosine⁹⁶, improved endothelial function⁹⁹, and other yet unknown mechanisms¹⁷⁵, all of which may have protective effects on cardiovascular outcomes and mortality¹⁰⁹.

Metabolomics enhances our understanding of the terminal pathophysiological changes of cellular metabolism associated with different diseases, and integrates multiple cellular, organ and global signals of a living system¹³³. Metabolomics may also inform response to therapy by providing molecular signatures of the effect of drugs on the heart¹³². Lipid metabolism is known to be altered in myocardial infarction (MI)¹⁶⁵. Whether clopidogrel and ticagrelor differentially affect the circulating metabolome and/or lipidome is unknown.

In this study, we used untargeted metabolomics to compare the differential association of ticagrelor and clopidogrel treatment with global metabolic signatures in plasma, using computational strategies and statistical approaches.

METHODS

Population and study design

Plasma samples were obtained from participants in the PLATelet inhibition and patient Outcomes (PLATO) trial [NCT00391872] (**Figure 1**). The design and results of the PLATO trial were reported previously⁹³. Participants with plasma samples available were randomly selected for the metabolomics sub-study from the full PLATO trial population if they: 1) were successfully revascularized by primary percutaneous coronary intervention (PCI) for an ST-segment elevation myocardial infarction (STEMI) within 12 hours of symptoms onset; 2) were treated with their assigned P2Y₁₂ inhibitor (per protocol); 3) experienced no hemodynamic instability or major cardiac events during their index hospital stay; and 4) consented to participate in the overall PLATO biomarker sub-study, with a complete (baseline and discharge) sample set. To minimize variability, stratification to clopidogrel vs. ticagrelor was done in a 1:1 ratio and participants were exactly matched by age, sex, diabetes mellitus, and dyslipidemia. Plasma samples were collected at 1) baseline before P2Y₁₂ inhibitor loading and reperfusion, and at 2) hospital discharge or at day 4 post-STEMI, whichever came first, and stored at -70 °C. To further account for the time-sensitive nature of metabolome elution from the injured myocardium, we stratified baseline samples from three time-from-symptoms-onset to randomization intervals (T0, less than 2 hours; T1, 2 to 4 hours; T2, 4 to 12 hours) (**Supp. Figure 1**).

The PLATO trial was approved by the institutional review board (IRB) at each participating center, and all participants provided written informed consent. The plasma samples were obtained from PLATO participants specifically consenting to future non-genetic biomarker analyses. The transfer of patient-level information and plasma samples has been approved by the steering committee of the PLATO trial and the sponsor, and was overseen by the Duke University's IRB. Metabolomics and bioinformatics analyses were approved and overseen by the IRB at the Montreal Heart Institute. This sub-study was sponsored and funded by AstraZeneca, which played no role in the design of the protocol or in the management or analysis of the data. The authors are solely responsible for the design and conduct of this study, all study analyses, the drafting and editing of this paper and its final contents.

Metabolomics dataset

Plasma samples were profiled by Metabolon Inc. (Durham, NC, USA) using a non-targeted mass spectrometry (MS)-based approach. Detailed sample preparation methods are in the **Online Appendix**. Briefly, data pre-treatment procedures, such as nonlinear retention time alignment, peak discrimination, filtering, matching, and identification, were performed. This comprehensive analysis allowed the identification of 489 named metabolites through liquid chromatography and gas chromatography, both combined with MS (LC/MS and GC/MS, respectively). Metabolites with more than 10% missing values were removed (**Supp. Figure 2A**). The remaining missing data were imputed using the minimum approach (half of the smallest positive value) through MetaboAnalyst¹⁷⁶. Near-constant metabolites, with low interquartile range (IQR), are likely non-informative variables throughout experimental conditions, and are removed (**Online Appendix**). Two samples were identified as outliers using principal component analysis (PCA) scores plot and removed with their paired sample (**Supp. Figure 2B**). After stringent quality control (QC), we analyzed a total of 280 metabolites in 350 high quality samples from 175 participants. These 175 participants constituted the inception cohort for all further bioanalyses. To estimate the intra-individual change in raw metabolite concentration, we computed discharge on baseline ratio values for each metabolite. To reduce biases due to highly variable metabolites' range, raw concentrations were subjected to auto-scaling and were log transformed (referred herein as "normalized metabolite concentration"). PCA was then performed, and highlighted a clear differential clustering between baseline and discharge groups (**Figure 2A**). We performed Metabolite Set Enrichment Analyses (MSEA) using database resources, including the KEGG and Human Metabolome Databases (HMDB), to identify enriched metabolic pathways.

Statistical modeling

A linear mixed model (LMM) was used to estimate the fold change (FC) of metabolites that differed significantly between baseline and discharge groups using covariate-adjusted concentrations and considering pairing as a random effect. A logistic regression model (LOGIT) was used to test the effect of intra-individual metabolite concentration change on differential treatment, such that FC from this model represent the change in ratio values (discharge over

baseline) between clopidogrel and ticagrelor groups. To further assess the influence of the drug received (clopidogrel/ticagrelor), and its interaction terms with timepoint and disease state, on normalized metabolites concentration (Y), we used a mixed analysis of covariance (ANCOVA) model, including sex (s), age (a), diabetes (db), dislipidemia (dl) as covariates (Model 1):

$$Y \sim \text{treatment} * \text{state} * \text{timepoint} + a + s + db + dl + \text{Error}(\text{subject})$$

Individual patient effect ($subject$) was added as a random effect, to take pairing of samples into account. This model was applied to the full dataset, composed of all samples passing QC, and a reduced dataset, which included patients from 49 to 61 years old, an age group in which there is no difference in age distribution across timepoints (**Supp Table 2, Online Appendix**). To further consider the influence of age (Model 2a) and sex (Model 2b), we used additional ANCOVA models that test for interactions terms with treatment on Y , controlling for the same covariates as above (see **Online Appendix**). Benjamini and Hochberg's method was used to compute false discovery rate (FDR) adjusted p-values. For each metabolite, FC between groups (for LMM and LOGIT) and FDR values for the main effects and interaction terms (ANCOVA models) are provided as supplementary datasets on our website (<https://mhi-omics.org/research-projects/metabolomics/>).

Clustering and network-based analyses

We used a network-based method to define clusters (or modules) of highly correlated metabolites called Weighted Gene Co-expression Network Analysis (WGCNA)¹⁷⁶ (see details in the **Online Appendix**). Additionally, we computed the Kendall correlation between metabolites, and used the t-distributed Stochastic Neighbor Embedding (t-SNE) to inspect the correlation patterns between metabolites (hyper parameters: perplexity=7; learning rate = 200; 5,000 training iterations)¹⁴³. To visualize clusters of metabolites, we used Density-Based Spatial Clustering of Applications with Noise (DBSCAN, hyper parameters: epsilon=2; minimum number of samples by cluster = 7). We used the python package Scikit-Learn implementation for both algorithms. We built metabolite networks based on inter-dependencies between metabolites using the RFPimp and NetworkX python package (see details in the **Online**

Appendix). Permutation tests were used to assess the significance of metabolite grouping and empirical p-values on 100,000 samples are reported in all cases.

Interactive data visualization and data availability

All figures are available in interactive mode on our website to allow explorative interrogation of the data (<https://mhi-omics.org/research-projects/metabolomics/>). The full metabolomics dataset is available upon request.

RESULTS

Baseline characteristics

Of the 180 matched participants in the sub-study, three were excluded due to insufficient quantity of plasma, and two patients were identified as statistical outliers in the ticagrelor group, leaving 88 clopidogrel and 87 ticagrelor participants available for final analyses (**Supp. Figure 2**). The baseline characteristics and past medical history of those treated with clopidogrel and ticagrelor were similar (**Table 1**).

Biosignature of myocardial infarction

Reperused STEMI was associated with a clear metabolic signature, with the levels of 72.1% (202/280) of metabolites differentially modulated between baseline and discharge states (Model 1 FDR \leq 1%). We observed an increase in fatty acids values, such as stearidonate (C18:4n3), dihomo-linoleate (C20:2n6), 10-nonadecenoate (C19:1n9) and palmitoleate (C16:1n7), as well as a marked decrease of amino acids, such as arginine, aspartate, tryptophan and serine at baseline, representing acute disease state (**Figure 2B**). The importance of fatty acid and amino acids metabolism/biosynthesis pathways were further highlighted by co-expression network analysis using WGCNA followed by MSEA (see details in the **Online Appendix, Supp. Figure 3**).

WGCNA analyses showed that the metabolite signature of reperused STEMI differs with the time from symptom onset (see details in the **Online Appendix**), and significant disease state by timepoint interaction effects (Model 1, FDR \leq 5%) were seen (**Supp Table 1**). Analyses of timepoints distribution revealed that it was significantly confounded by age (**Supp. Figure 4**), such that participants of greater age were overrepresented in T0 (<2h) compared with T1 and T2 (Kolmogorov–Smirnov test, **Supp. Table 2**). However, most interaction effects remain significant for patients from 49 to 61 years old, a subset of the cohort in which age is matched across timepoints. The age of patient itself was also associated with the metabolic signature of STEMI, with significant disease state by age interactions (Model 2a, FDR \leq 5%) for 10 metabolites (**Supp Table 1**), revealing that temporal metabolite patterns post-STEMI differ according to age (see details in the **Online Appendix**). Sex was also associated with the STEMI

biosignature, with significant disease state by sex interactions (Model 2b, FDR \leq 5%) observed for four metabolites, including three sulfated sex hormones (21-hydroxypregnenolone disulfate, pregnenolone sulfate and pregn-steroid monosulfate). One additional sulfated sex hormone was measured in our dataset, pregnen-diol disulfate, which shows a sex effect in both states, yielding a significant main effect of sex (Model 2b, FDR=0.00738).

Clopidogrel and ticagrelor are differentially associated with the metabolome in reperfused STEMI

Our analyses revealed nine metabolites exhibiting discharge levels that differed significantly by assigned treatment (clopidogrel vs. ticagrelor), after accounting for their baseline value. Both the normalized metabolite concentration (Model 1) and intra-individual change in metabolite concentration (LOGIT) were predictive of treatment (FDR \leq 5%; **Table 2**) (**Figure 3**). Seven were fatty acids, all of which were found in the polyunsaturated fatty acids (PUFAs) omega-3/6 biosynthesis pathways. More specifically, participants treated with ticagrelor had significantly higher plasma concentrations of linolenate α or γ (C18:3n3/6), dihomo-linolenate (C20:3n3/6), stearidonate (C18:4n3), docosahexaenoate (C22:6n3, DHA), eicosapentaenoate (C20:5n3, EPA), adrenate (C22:4n6) and arachidonate (C20:4n6, ARA) at discharge compared with clopidogrel-treated participants (**Figure 3**). These fatty acids were increased at baseline compared to discharge, but as expected, not significantly different between distinct treatment groups before administration of the drugs. The FC is modest, but goes above 1.5 for adrenate and EPA. Compared to the top metabolites that are highly modulated in STEMI, the difference between clopidogrel and ticagrelor groups in the change in metabolite concentration across states is generally more pronounced for the PUFAs (**Figure 3B**). Three metabolites are specific to the omega-3 metabolism pathway (DHA, EPA and arachidonate) while two are specific to the omega-6 pathway (ARA and adrenate) (**Supp Figure 5**), suggesting both pathways are implicated.

Modulation of three additional metabolites was significantly impacted by treatment (**Table 2**). Levels of androsteroid monosulfate 2 (ASM) were markedly lower at discharge among participants treated with clopidogrel, but did not vary significantly between baseline and

discharge among ticagrelor-treated patients. 2-hydroxybutyrate (AHB) levels were higher in the ticagrelor-treated group but only among patients aged 49 to 61 years (see details in **Online Appendix**). Finally, we identified a significant sex by treatment interaction for palmitoylcarnitine (**Supp. Table 1**), consistent with a sexual dimorphism previously reported regarding to acylcarnitines metabolism¹⁷⁷.

To visualize these treatment associations across the whole metabolome, we used the t-distributed stochastic neighbor embedding (t-SNE) method, an dimensionality reduction technique that can reveal hidden structure in metabolite profiles¹⁴³. This analysis highlighted 18 clusters of metabolites at baseline (**Figure 4A**), with very few clusters conserved at discharge (**Supp. Figure 6**). The t-SNE grouping at baseline between treatment groups showed no major differences. The interacting metabolites presented above tended to cluster together at baseline, with a unique t-SNE group (#4, colored in green) that included many of the metabolites reported in **Table 2** and **Supp. Table 1** (14/33, $p < 10^{-4}$, permutation test). Furthermore, 12 out of the top 15 metabolites differentially modulated between treatments (**Figure 3A**) are found in this t-SNE cluster ($p < 1e-5$, permutation test). This green cluster was conserved at discharge for the clopidogrel group (**Figure 4B**), revealing that the correlation network between these metabolites remained stable, whereas the ticagrelor group was highly remodeled, with a split between lysoglycerophospholipids and fatty acids (**Figure 4C**). Both can be derived from the hydrolysis of glycerophospholipids through the action of the phospholipase A2. To understand the relationship between these two new subpathways and treatment-associated metabolite levels, we derived an interaction network (**Figure 4D**) using a machine learning strategy RFPimp (see details in the **Online Appendix**). This analysis revealed that the omega-3/6 metabolites formed a hub between glycerophosphocholine metabolites and fatty acids, possibly responsible for the ticagrelor-specific split at discharge. We noted that AHB was one of the most connected metabolites in this network, implying that its modulation may have several downstream effects, and that, to the contrary, ASM appeared as an outlier metabolite, very sparsely connected to the rest of the metabolome.

DISCUSSION

In this study, we found differential associations of key polyunsaturated fatty acids (PUFAs) metabolites according to clopidogrel and ticagrelor treatment, two P2Y₁₂ inhibitors commonly used in the treatment of ACS. To our knowledge, this is the largest plasma metabolomics study comparing disease state and post-treatment changes, and the first study to suggest that P2Y₁₂ inhibitors may exert differential effects on systemic metabolism. We therefore raise the hypothesis that ticagrelor favorably modulates circulating levels of PUFAs in the early days following a reperfused STEMI and may exert benefits by modulating reperfusion injury. If confirmed, this hypothesis contributes to the understanding of pleiotropic effects of ticagrelor, along with adenosine and endothelial pathways that potentially have important clinical and research implications.

Most of the PUFAs are derived from nutrition¹⁷⁸. However, given the short timeframe between randomisation and treatment response (maximum 4 days), higher circulating n3 and n6 PUFAs were not likely to have resulted from a facilitated nutritional uptake. While α -linoleate (C18:3n3, ALA) is not endogenously produced¹⁷⁹, a *de novo* biosynthesis of n3-PUFAs¹⁷⁸ from ALA is possible through the sequential action of elongases and desaturases predominantly in the liver, in contrast to the brain and the heart for example^{180,181}, to form EPA (C20:5n3) and DPA, while the formation of DHA (C22:6n3) eventually requires one cycle of peroxisomal β -oxidation¹⁷⁸. Thereby, we speculate that ticagrelor stimulates the hepatic enzymatic processes in the synthesis pathway of PUFAs and promotes the peroxisomal formation of DHA. Alternatively, PUFAs may be released from cells through the action of phospholipases, particularly phospholipase A2 that catalyzes the hydrolysis of sn-2 ester bond position of glycerophospholipids liberating lysoglycerophospholipids and fatty acids, including PUFAs¹⁸². This could explain the green cluster split observed in the t-SNE analysis specific to the ticagrelor group (**Figure 4C**). Hence, ticagrelor could act as an activator of the phospholipase A2 activity in the liver and possibly other tissues. This premise is reinforced by recent literature showing that ticagrelor may increase myocardial cytosolic phospholipase A2 activity¹⁸³. Additionally, we cannot exclude that the higher plasma concentration of ALA measured among ticagrelor-treated patients was related to the potentiation of

pharmacodynamics processes, including gastrointestinal absorption, lymphatic transport, or liver metabolism¹⁷⁹.

Moreover, it is well known that clopidogrel is a prodrug bioactivated by several cytochrome P450 enzymes in the liver, including CYP2C19⁷⁵, which is a key enzyme responsible for metabolizing linoleic and arachidonic acids¹⁸⁴. There is a possibility that clopidogrel loading and maintenance doses diverts CYP2C19 from its principal epoxygenase activity on long-chain polyunsaturated fatty acids and therefore results in a reduction in circulating omega3/6 metabolites. Such an interaction has not been described as of yet.

Most of the literature on benefits of PUFAs, especially n3 PUFAs, has come from supplementation studies, which have been inconsistent at showing a potentiation of the antiplatelet effects of aspirin and clopidogrel¹⁸⁵. Like most cells, platelets take up and metabolize circulating fatty acids; thus, the relative bioavailability of PUFAs in plasma is likely to influence platelet function¹⁸⁶. Indeed, platelets form aggregates more readily in the presence of saturated fatty acids than unsaturated fatty acids¹⁸⁷, making them potentially less reactive when the plasma fatty acid composition is altered towards PUFAs. In addition to directly activating platelets, circulating fatty acids can be taken up and incorporated into their cell membranes; thus, modifying membrane fluidity and the availability of lipids that can be used in intracellular signaling pathways¹⁸⁶. Platelets preferentially take up saturated fatty acids (e.g. palmitate and stearate) as opposed to their unsaturated counterparts (e.g. linoleate)¹⁸⁶. Of the PUFAs, arachidonate (C20:4n6) is the most efficiently incorporated into platelet membranes, as compared with its homologue dihomo- γ -linolenic acid (20:3n6)¹⁸⁸. There are numerous bidirectional interactions between PUFAs that influence the efficiency of their incorporation into membranes. For example, EPA (C20:5n3) affects incorporation of arachidonate into platelet phospholipids, and arachidonate (C20:4n6) in turn modulates the incorporation of other 18-, 20- and 22-carbon PUFAs¹⁸⁸. Thus, the upregulation of plasma levels in the PUFAs seen in this study may have longer-term effects on platelet membrane composition and platelet function that will require further investigation.

Platelet activation induces remarkable changes in their lipidome¹⁸⁹. Key regulator of these lipidomic modifications in platelets are cytosolic¹⁸⁹ and calcium-independent phospholipase A₂

(cPLA₂)¹⁹⁰, known to be strongly inhibited by increases in cyclic AMP¹⁸⁸. Through inhibition of P₂Y₁₂ receptors, as well as potentiation through adenosine receptors, ticagrelor is known to induce marked increases in cAMP levels¹⁹¹, which in turn could modulate platelet cPLA₂ activity. *In vitro* studies have further shown that ticagrelor, but not thienopyridines, affect prostanoid formation, most clearly TxA₂ formation, even in the absence of aspirin¹⁹². Thus, it is possible that ticagrelor induces intracellular lipidomic changes in platelets through both regulation of PUFA availability in plasma and modulation of intracellular phospholipase activity. These potential additional platelet-modulating mechanisms are worthy of further detailed exploration.

Other Cardioprotective Effects of Omega-3/6 PUFAs

The cardiovascular impact of PUFAs, n3 in particular, have been studied extensively¹⁷⁹. They have been linked to anti-inflammatory effects, improved endothelial function, and reduced atherosclerosis growth¹⁹³. In the OMEGA-REMODEL trial, participants with a recent myocardial infarction assigned to high-dose of two n3 PUFAs for 6 months experienced a dose-response reduction of left ventricular systolic volume index (−5.8%, p = 0.02), and myocardial fibrosis (−5.6%, p = 0.03) compared with placebo. Likewise, participants assigned to n3 PUFAs experienced a measurable improvement in serum biomarkers of systemic and vascular inflammation¹⁹⁴. The authors hypothesized that n3 PUFAs suppressed both systemic and cardiac inflammation during the healing phase post-myocardial infarction. As the timing of n3 PUFAs administration appears to play a role in post-infarction healing¹⁹⁵, an agent capable of immediate effects, administered during the acute phase of an MI, could translate in cardiovascular benefits. Recently, a meta-analysis of 13 randomized studies using marine supplementation of n3 PUFAs showed lower risk of cardiovascular adverse events, namely MI, coronary heart disease and overall cardiovascular disease¹⁹⁶. Finally, a new drug derived from purified EPA, the icosapent ethyl, was recently approved by the United States Food and Drug Administration as an adjunct therapy to maximally-tolerated statin treatment to reduce the risk of ischemic events and myocardial infarction¹⁹⁷.

Omega-6 PUFAs have also been linked to cardiovascular benefits in several studies¹⁹³. Patients with increased tissue and adipose levels of linoleate (C18:2n6, LA) and potentially its

downstream metabolite (**Figure 5**), arachidonate (C20:4n6, ARA), had a reduced incidence of major cardiovascular events¹⁹⁸. However, a controversy exists related to n6 PUFAs potential harm due to pro-inflammatory effect, despite many investigators showing no clinically detectable inflammation associated with increased n6 in humans¹⁹⁸.

Several precautions were taken to minimize biases and confounding factors while designing the study. Samples used in this study were obtained from a multicenter, double-blind, randomized controlled trial and each participant served as his own control in our analyses. This helped minimize the signal-to-noise of inter-individual biological variability. Participants were matched between treatment groups for diabetes mellitus and dyslipidemia, two conditions known to deeply impact the metabolome¹³³. The use of untargeted metabolomics ensured a wider look at various metabolic pathways with chemically diverse metabolites from different classes¹³¹. The temporal comparison of two plasma samples at different time-points (baseline and discharge) allowed the identification of relative variations of metabolites associated with the initiation of medical and mechanical treatment when compared to disease state. If validated, the relationship of ticagrelor with omega-3 (n3) and omega-6 (n6) PUFA levels need to be added to the growing list of pleiotropic effects associated with ticagrelor.

Limitations

Additional analyses with targeted metabolomics will be necessary to confirm our hypothesis¹⁹³ and refine our understanding of pathophysiological processes involved. Our observations remain liable to certain limitations. Per design, we were not able to obtain metabolomics fingerprints prior to STEMI and at steady state several weeks/months following the event. Moreover, our study may involve interactions with medications that have known metabolic effects, such as statins¹⁵⁰ and insulin¹⁹⁹ used in-hospital, but such interactions are likely to be limited in nature, given that more than 89% of PLATO participants were treated with a statin at discharge, in both groups and the diabetic status was matched. Further since all patients were treated with aspirin, we cannot exclude an interaction/synergy between P2Y12 inhibitors and aspirin in the observed metabolomics patterns. Identification of exogenous metabolites from diet or pharmacotherapy¹³¹ among participants, prior to analysis, would allow better detection of meaningful biological variations in future studies. Indeed, our

population was not specifically matched for variability in body weight (even though differences were seen between groups), which could have affected results of metabolomics profiling particularly on fatty acid metabolites¹³³. Because peripheral plasma (and not coronary sinus/myocardial) samples were available, our results and discussion were carefully structured to avoid implying cause and effects at the myocardial level.

CONCLUSION

STEMI is associated with strong disruption of circulating metabolite networks. After consideration of sex, age and time-from-symptoms-onset to randomization, ticagrelor is associated with increased concentrations of Omega-3/6 polyunsaturated fatty acids compared to clopidogrel in STEMI. This increase in circulating PUFAs was observed in the early days after the initiation of ticagrelor, suggesting a primary treatment effect. Additional research should validate these observations and clarify the short- and long-term clinical implications of this finding.

FIGURES LEGEND

Central Illustration.

Figure 1. Study Design and Participant flow.

Legend: Study involves 175 patients with STEMI, randomized (1:1) to either clopidogrel or ticagrelor (PLATO trial; NCT00391872) and successfully treated by primary PCI. All samples were taken within 12 hrs of symptoms onset with patients selected from three time-from-symptoms-onset to randomization categories (time points): T0=0-2h, T1=2-4h, T2=4-12h.

Abbreviations: NSTEMI = non-ST-elevation myocardial infarction, PCI = percutaneous coronary intervention, PLATO = Platelet Inhibition and Patient Outcome, STEMI = ST-segment elevation myocardial infarction, UA = unstable angina.

Figure 2. Global metabolomic signature of Myocardial Infarction.

Legend: (A) First two principal components analysis of all post-processed samples. Baseline samples are shown in green and discharge samples in orange; treatment with clopidogrel in circles and ticagrelor in triangles. (B) Volcano plot showing significant differences between states. P-values are obtained from ANCOVA Model 1 main effect on state for the full dataset. Fold changes are obtained from the LMM model's state effect estimate. The top 2 WGCNA modules, represented in blue (mostly amino acids) and in turquoise (mostly fatty acids), map to the decreased and enhanced metabolites at disease states, respectively, whereas the brown module metabolites are non-significant.

Abbreviations: WGCNA = Weighted Gene Correlation Network Analysis.

Figure 3. Omega3/6 metabolites associated with treatment.

Legend: (A) Volcano plot showing significant differences in metabolite ratios (DC/BL) between treatment groups. P-values and fold changes are obtained from the LOGIT model's treatment effect estimation (B) Radar plot showing the change in metabolite concentration between baseline and discharge states, with the ticagrelor arm (blue) showing a smaller change compared to clopidogrel arm (red). PUFAs as well as the top 10 increased and decreased metabolites in myocardial infarction are shown.

Abbreviations: PUFAs = polyunsaturated fatty acids.

Figure 4. Clustering and network analyses

Legend: Analyses of metabolites using t-SNE for all patients at baseline (A), clopidogrel patients at discharge (B) and ticagrelor patients at discharge (C) show grouping of metabolites with significant interaction effects (symbols) at baseline (group 4), maintained at discharge in clopidogrel patients but split in ticagrelor patients. RFPimp is used to construct a metabolite network, (D) highlighting metabolites part of the tSNE group 4 (green) and omega 3/6 metabolites (red).

Abbreviations: t-SNE = t-distributed Stochastic Neighbor Embedding. ASM = androsteroid monosulfate 2, AHB = 2-hydroxybutyrate

Figure 5. Omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acid pathways,

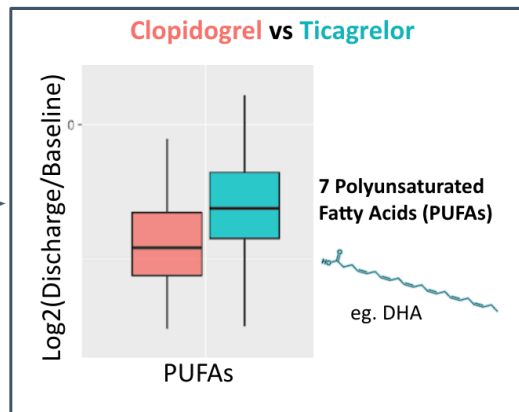
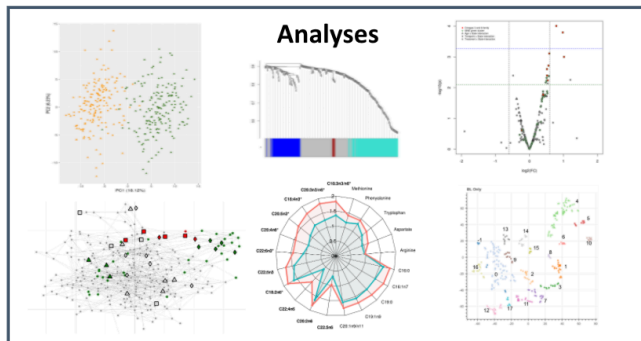
Legend: Cardiovascular effects of omega-3/6 metabolites noted in sources from the text are shown in this figure.

Abbreviations: ALA = alpha-linoleate, ARA = arachidonate, DHA = docosahexaenoate, DPA = docosapentaenoate, ETE = eicosatrienoate, LA = linoleate



Age (median, year)	57	57
Sex (% Male)	69(78.4%)	68(78.1%)
Diabetes(%Yes)	10(11.4%)	10(11.5%)
Dyslipidemia(%Yes)	32(36.4%)	31(35.6%)

280 METABOLITES



Central illustration.

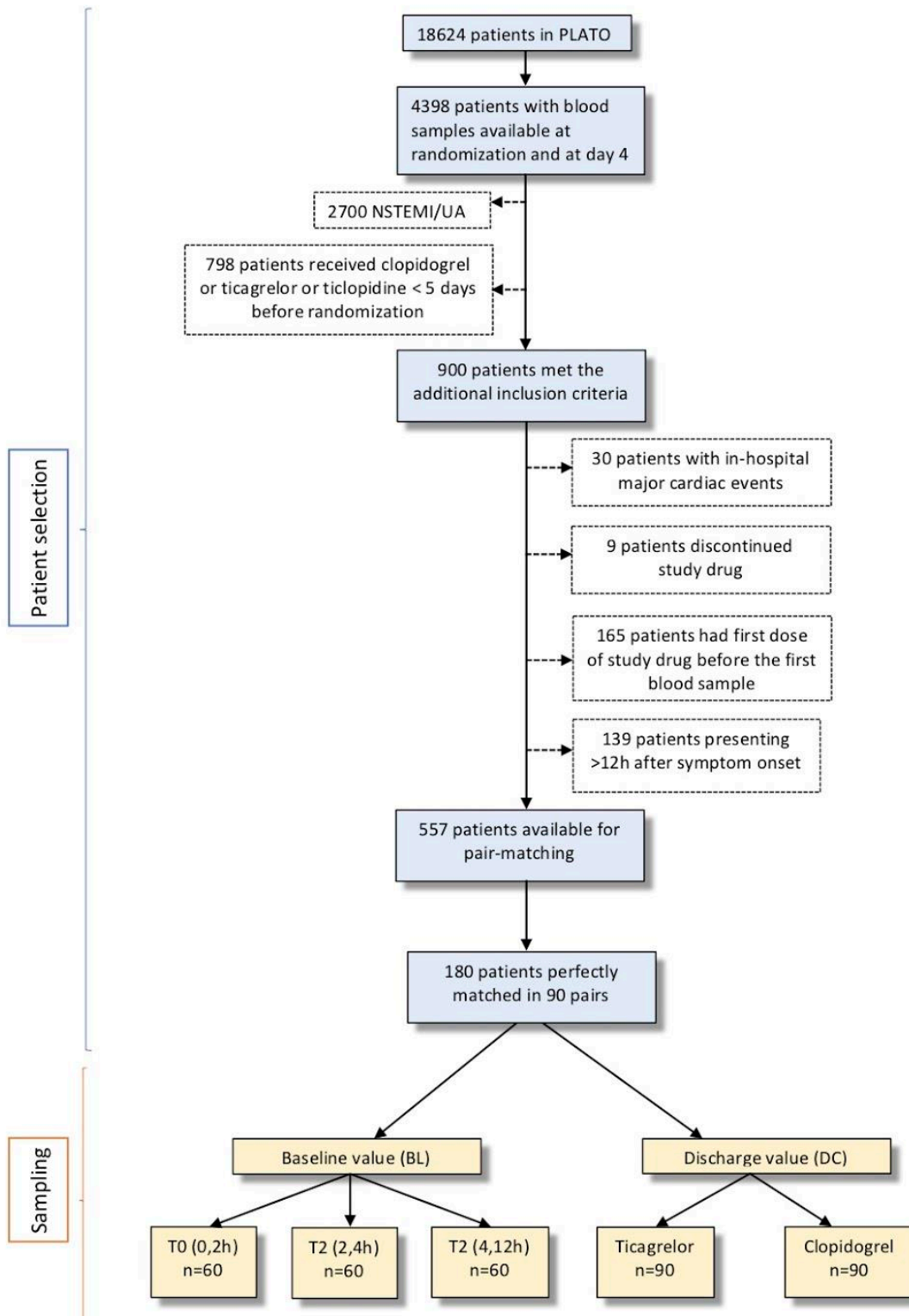


Figure 1. Study Design and Participant flow.

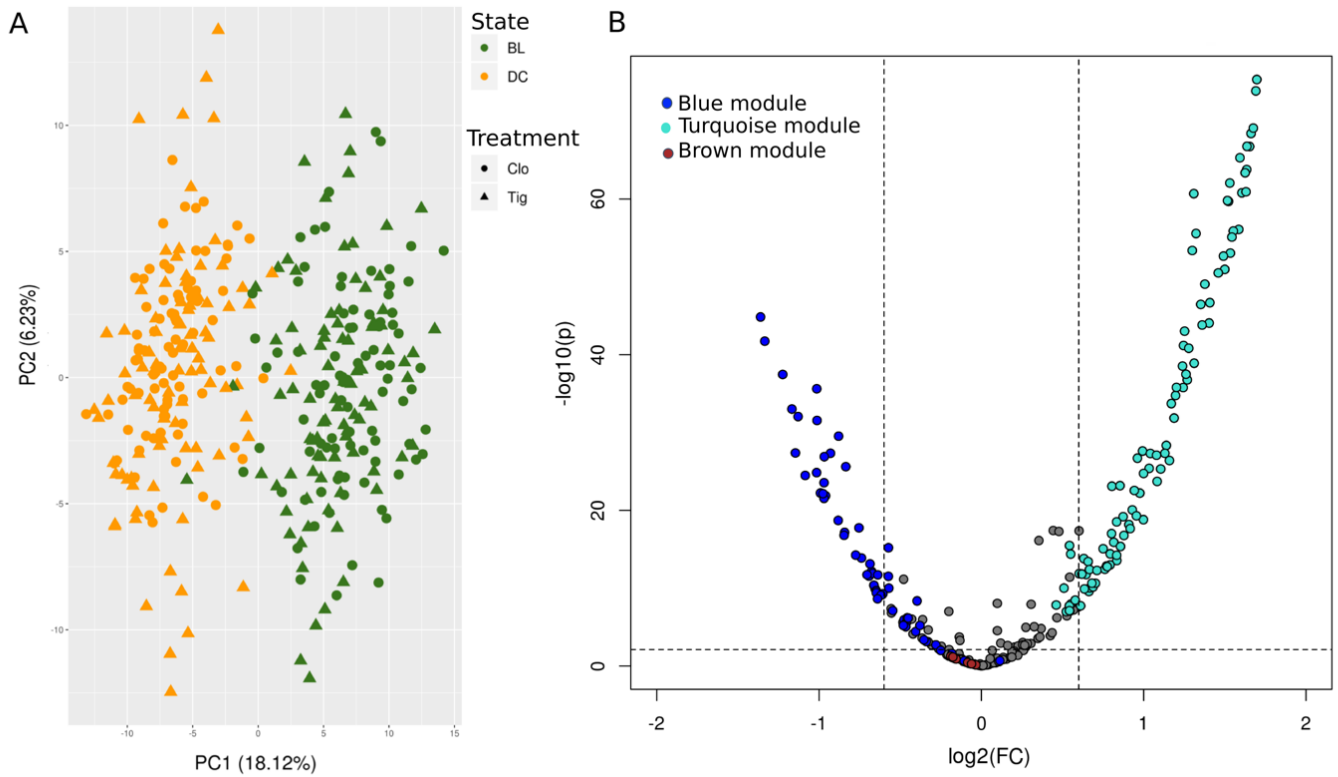


Figure 2. Global Metabolomic Signature of Myocardial Infarction.

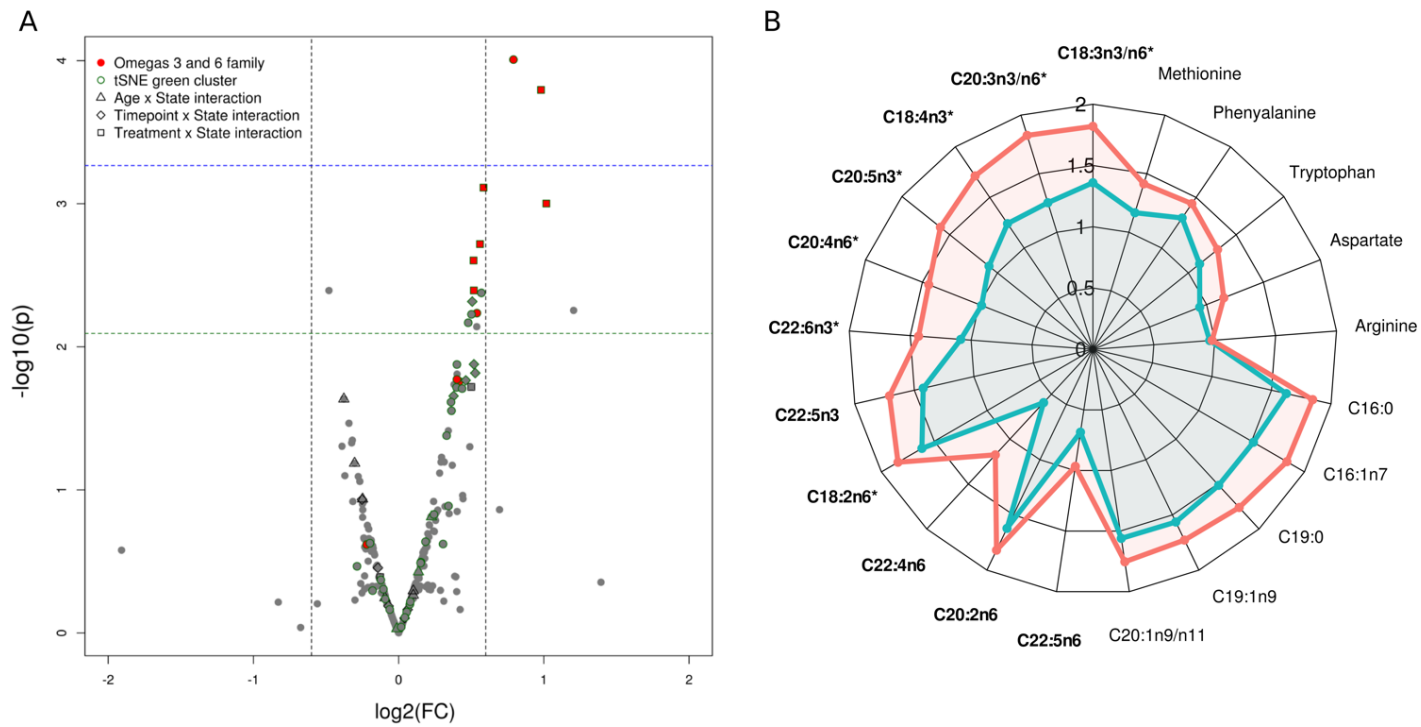


Figure 3. Omega3/6 metabolites associated with treatment

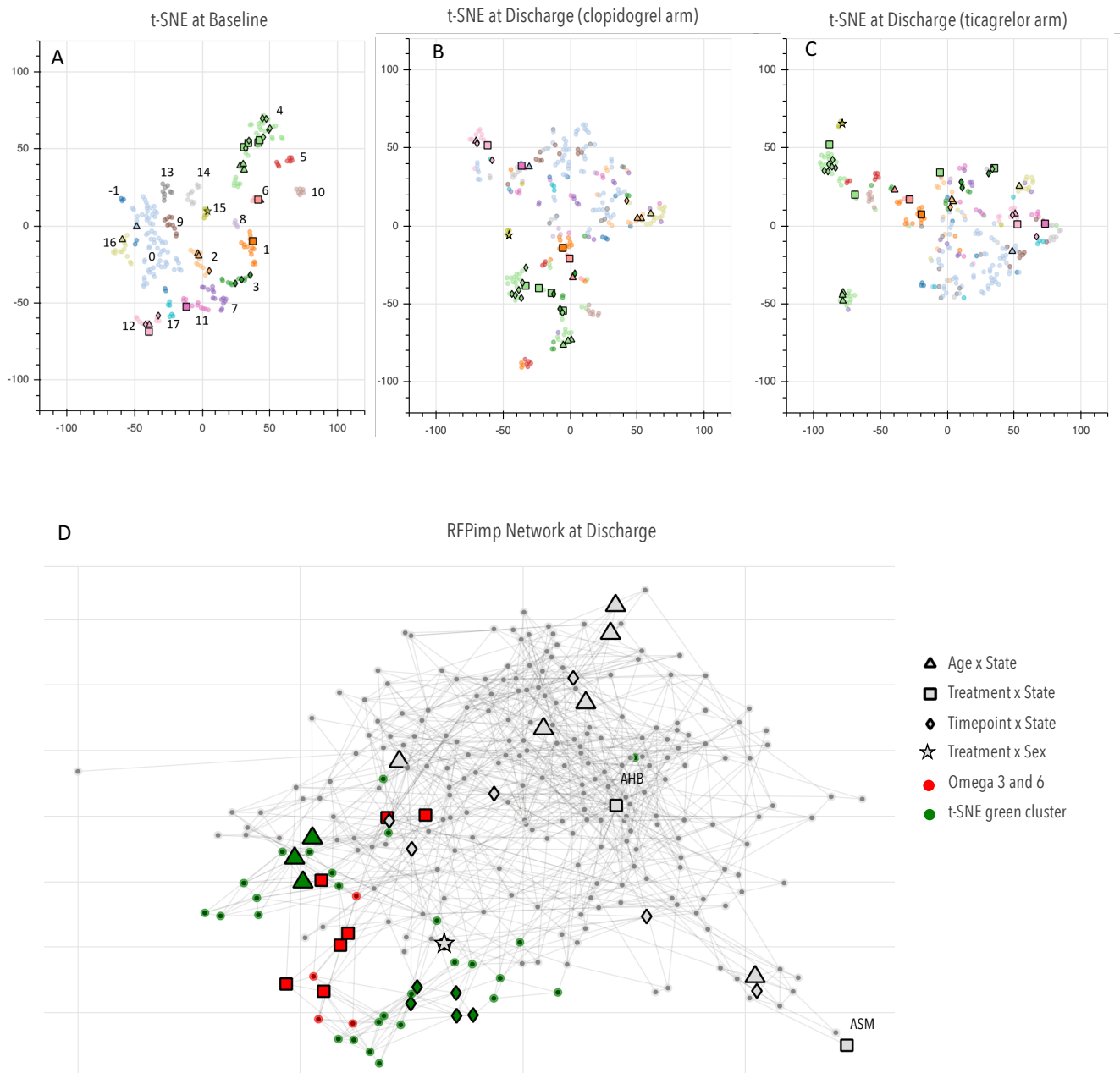
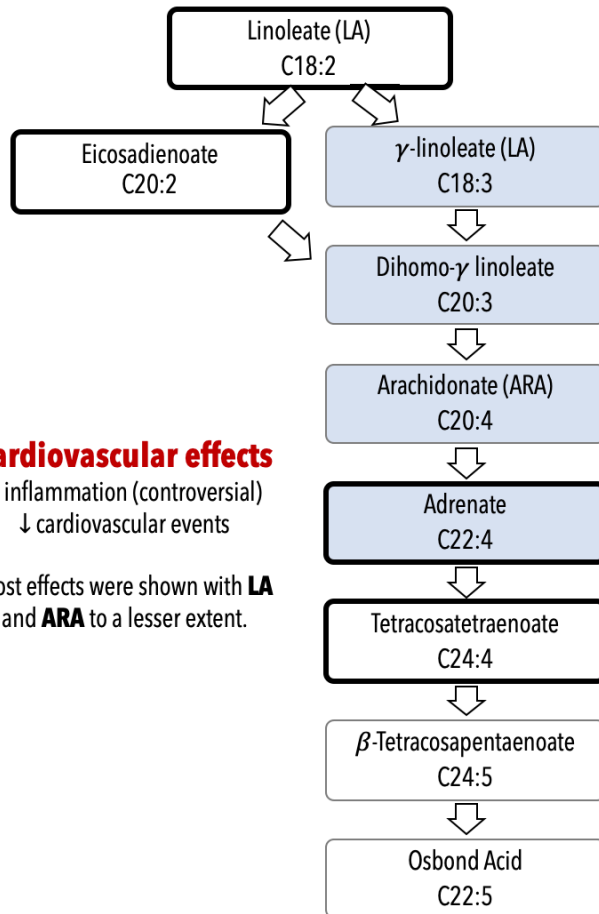


Figure 4. Clustering and Network Analyses

OMEGA-6 PATHWAY

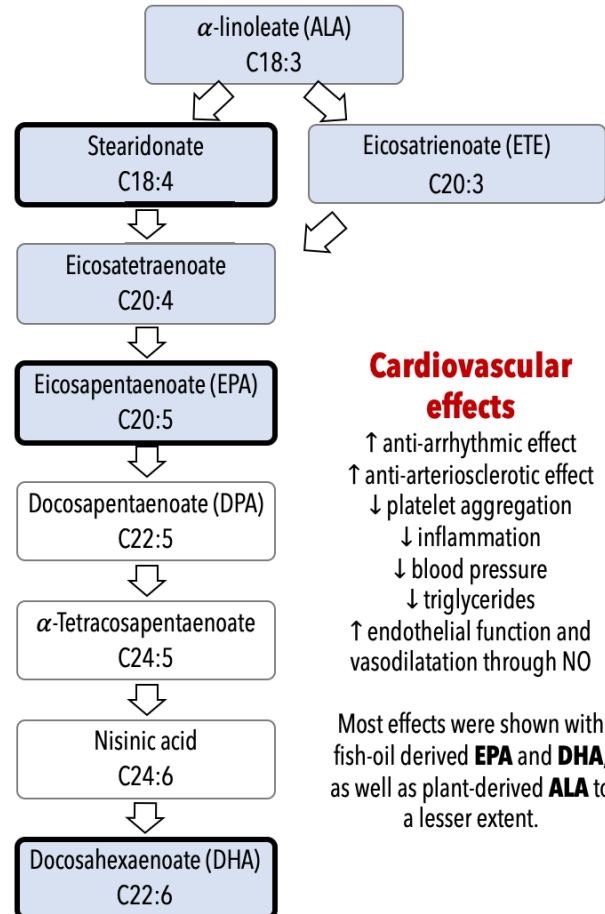


Cardiovascular effects

↑ inflammation (controversial)
↓ cardiovascular events

Most effects were shown with **LA** and **ARA** to a lesser extent.

OMEGA-3 PATHWAY



Cardiovascular effects

↑ anti-arrhythmic effect
↑ anti-arteriosclerotic effect
↓ platelet aggregation
↓ inflammation
↓ blood pressure
↓ triglycerides
↑ endothelial function and vasodilatation through NO

Most effects were shown with fish-oil derived **EPA** and **DHA**, as well as plant-derived **ALA** to a lesser extent.

Figure 5. Omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acid pathways

Table 1. Patient Characteristics of Matched Population.

	<i>Clopidogrel (n = 90)</i>	<i>Ticagrelor (n = 90)</i>	<i>p value</i>
Demographics			
Age*, median (IQR), yrs	57 (52, 65)	57 (52, 64)	0.99
Sex* (male), No. (%)	71 (78.9)	71 (78.9)	1.00
Cardiovascular risk factors, No. (%)			
Diabetes mellitus*	10 (11.1%)	10 (11.1%)	1.00
Dyslipidemia*	32 (35.6%)	32 (35.6%)	1.00
Current cigarette use	55 (61.1%)	50 (55.6%)	0.45
Hypertension	51 (56.7%)	51 (56.7%)	1.00
Medical history, No. (%)			
Previous MI	10 (11.1%)	5 (5.6%)	0.18
Previous PCI	7 (7.8%)	2 (2.2%)	0.17
Previous CABG	1 (1.1%)	1 (1.1%)	1.00
Previous CVA	2 (2.2%)	0 (0%)	0.50
Dyspnea	5 (5.6%)	4 (4.4%)	1.00
Congestive heart failure	0 (0%)	1 (1.1%)	1.00
COPD	2 (2.2%)	3 (3.3%)	1.00
Peripheral Arterial Disease	3 (3.3%)	4 (4.4%)	1.00
Chronic Renal Disease	1 (1.1%)	1 (1.1%)	1.00
Gout	1 (1.1%)	2 (2.2%)	1.00
Asthma	2 (2.2%)	0 (0%)	0.50
Presenting characteristics, median (IQR)			
Weight, kg	84 (73, 93)	82 (70, 90)	0.16
Body Mass Index, kg/m²	28 (26, 31)	27 (25, 30)	0.06
Systolic BP, mmHg	132 (119, 145)	134 (120, 150)	0.34
Diastolic BP, mmHg	80 (70, 90)	80 (72, 90)	0.89
Heart Rate, bpm	75 (65, 90)	75 (67, 82)	0.74

Footnotes:

* participants were matched for these covariates. Data presented for the intent-to-treat population.

Abbreviations: BP = blood pressure, bpm = beat per minute, CABG = coronary artery bypass graft, COPD = chronic obstructive pulmonary disease, CVA = cerebrovascular accident, IQR = interquartile range, kg = kilogram, MI = myocardial infarction, No = number of participants, PCI = percutaneous coronary intervention, yrs = years

Table 2. Treatment interaction effects. Metabolites significantly modulated with treatment (FDR<5%) using a three-way ANCOVA model (state x time point x treatment) and the LOGIT model are shown, for which we also report ratio fold change (FC) between treatment groups. Both models include four co-variates (age, sex, diabetes and dyslipidemia). Seven out of nine metabolites belong to the Omega-3/6 fatty acid biosynthesis pathway. t-SNE groups refer to the ones labeled in Fig. 4A.

Metabolites	t-SNE group	ANCOVA Interaction Effect FDR	LOGIT	
			FC	FDR
Linolenate_a_or_g C18:3n3-n6 ^º	4	0.035	1.432	0.067
Dihomo-linolenate C20:3n3-n6 ^º	4	0.034	1.430	0.075
Stearidonate C18:4n3	4	0.013	2.024	0.028
Docosahexaenoate (DHA) C22:6n3	4	0.029	1.474	0.067
Eicosapentaenoate (EPA) C20:5n3	4	0.001	1.973	0.016
Arachidonate (ARA) C20:4n6	4	0.029	1.499	0.043
Adrenate C22:4n6	4	0.146	1.730	0.040
2-hydroxybutyrate (AHB) *	11	0.043	0.916	0.815
Andro steroid monosulfate 2	12	0.005	1.414	0.071

Footnotes:

* Metabolite significant for age as main effect, FDR value shown is from the ANCOVA model applied to the sub dataset (FDR=0.345 for the full dataset).

^º Metabolites in the top 10 of baseline vs. discharge effects.

SUPPLEMENTARY MATERIAL

Section I. Metabolon Platform and Metabolomic Quality Control

Sample Accessioning

Each sample received was accessioned into the Metabolon LIMS system and was assigned by the LIMS a unique identifier, which was associated with the original source identifier only. This identifier was used to track all sample handling, tasks, results *etc.* The samples (and all derived aliquots) were bar-coded and tracked by the LIMS system. All portions of any sample were automatically assigned their own unique identifiers by the LIMS when a new task was created; the pairing between these samples was also tracked. All samples were maintained at -80 °C until processed.

Sample Preparation

The sample preparation process was carried out using the automated MicroLab STAR® system from Hamilton Company. Recovery standards were added prior to the first step in the extraction process for QC purposes. Sample preparation was conducted using a proprietary series of organic and aqueous extractions to remove the protein fraction while allowing maximum recovery of small molecules. The resulting extract was divided into two fractions; one for analysis by LC and one for analysis by GC. Samples were placed briefly on a TurboVap® (Zymark) to remove the organic solvent. Each sample was then frozen and dried under vacuum. Samples were then prepared for the appropriate instrument, either LC/MS or GC/MS. For quality control (QC) purposes, a number of additional samples were included with each day's analysis. Furthermore, a selection of QC compounds were added to every sample, including those under test. These compounds are carefully chosen so as not to interfere with the measurement of the endogenous compounds. These QC samples are primarily used to evaluate the process control for each study as well as aiding in the data curation.

Liquid chromatography/Mass Spectrometry (LC/MS, LC/MS²): The LC/MS portion of the platform was based on a Waters ACQUITY UPLC and a Thermo-Finnigan LTQ mass spectrometer, which consisted of an electrospray ionization (ESI) source and linear ion-trap

(LIT) mass analyzer. The sample extract was split into two aliquots, dried, then reconstituted in acidic or basic LC-compatible solvents, each of which contained 11 or more injection standards at fixed concentrations. One aliquot was analyzed using acidic positive ion optimized conditions and the other using basic negative ion optimized conditions in two independent injections using separate dedicated columns. Extracts reconstituted in acidic conditions were gradient eluted using water and methanol both containing 0.1% Formic acid, while the basic extracts, which also used water/methanol, contained 6.5mM Ammonium Bicarbonate. The MS analysis alternated between MS and data-dependent MS² scans using dynamic exclusion.

Gas chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS): The samples destined for GC/MS analysis were re-dried under vacuum desiccation for a minimum of 24 hours prior to being derivatized under dried nitrogen using bistrimethyl-silyl-trifluoroacetamide (BSTFA). The GC column was 5% phenyl and the temperature ramp was from 40° to 300° C in a 16 minutes period. Samples were analyzed on a Thermo-Finnigan Trace DSQ fast-scanning single-quadrupole mass spectrometer using electron impact ionization. The instrument was tuned and calibrated for mass resolution and mass accuracy on a daily basis. The information output from the raw data files was automatically extracted as discussed below.

Accurate Mass Determination and MS/MS fragmentation (LC/MS), (LC/MS/MS): The LC/MS portion of the platform was based on a Waters ACQUITY UPLC and a Thermo-Finnigan LTQ-FT mass spectrometer, which had a linear ion-trap (LIT) front end and a Fourier transform ion cyclotron resonance (FT-ICR) mass spectrometer backend. For ions with counts greater than 2 million, an accurate mass measurement could be performed. Accurate mass measurements could be made on the parent ion as well as fragments. The typical mass error was less than 5 ppm. Ions with less than two million counts required a greater amount of effort to characterize. Fragmentation spectra (MS/MS) were typically generated in data dependent manner, but if necessary, targeted MS/MS could be employed, such as in the case of lower level signals.

Data extraction and compound identification

The data extraction of the raw mass spec data files yielded information that could be loaded into a relational database and manipulated without resorting to BLOB manipulation. The hardware and software foundations of Metabolon informatics are the LAN backbone and a database server running Oracle 10.2.0.1 Enterprise Edition. Once in the database, the information was examined and appropriate QC limits were imposed. Peaks were identified using Metabolon's proprietary peak integration software, and component parts were stored in a separate and specifically designed complex data structure. Identification of known chemical compounds was based on comparison with metabolomic library entries of purified standards or recurrent unknown entities. More than 1000 commercially available purified standard compounds have been acquired and registered for distribution to both the LC and GC platforms for determination of their analytical characteristics.

Curation and Quality Control (QC) Filters

A variety of curation procedures were carried out to ensure that a high-quality data set was made available for statistical analysis and data interpretation. The QC and curation processes were designed to remove chemical compounds representing system artifacts, mis-assignments and background noise. Proprietary visualization and interpretation software were used at Metabolon to confirm the consistency of peak identification among the various samples. A total of 357 samples passed Metabolon curation process.

Seven samples were further discarded as part as in-house QC steps (Figure S2A). Specifically, we removed three unpaired samples: UMON-00216; Clopidogrel (Clo); Baseline (BL); Male; 60 y/o, UMON-00228; Clo; BL; Male; 41 y/o, UMON-00299; Ticagrelor (Tica); BL; Male; 68 y/o. Outlier detection was performed using Principal Component Analysis (PCA) scores plot (Figure S2B). We removed an additional 2 outliers with their paired samples: UMON-00501; Tica; BL; Male; 61 y/o + its matched sample: UMON-00499; Discharge (DC) and UMON-00358; Tica; DC; Male; 49 y/o + its matched sample: UMON-00360; BL.

We performed QC steps on metabolites data (Figure S2A). From the 489 metabolites passing Metabolon curation, a total of 22% missing values were detected across the dataset and were considered as low signal intensity products. We excluded metabolites with > 10% missing values (N=181). We verified that missing data was not systematically overrepresented in one state compared to the other (Figure S2D) and confirmed that the metabolites that have high percent of missing values in BL samples also have high percent of missing values in DC samples. We excluded constant and nearly-constant features across samples (N=28), identified using the interquartile range (IQR), recommended as a robust estimate by MetaboAnalyst (function *FilterVariable(mSet, "iqr", "F", NA)* was used, which filters out 10% lowest IQRvalues)²⁰⁰. These are likely non-informative variables throughout experimental conditions, unlikely to be of use when modeling the data. We tested imputation strategies taking advantage of a duplicate of the DC dataset previously generated by Metabolon, and compared KNN algorithm as well as replacing all missing values by half the smallest positive value (or minimum) (MIN). The MIN approach was found to be more accurate in our case, as assessed on metabolites set as missing in one DC dataset but not the other.

Seeing as metabolites' range are very variable, the data was subjected to scaling (auto-scaling) and log transformed (referred herein as "normalized metabolite concentration"). To estimate the intra-individual change in metabolite concentration, we computed discharge (DC) on baseline (BL) values for each metabolite (ratios), before auto-scaling.

Section II. Supplementary Methods

Statistical modelling

We obtained the fold change (FC) values considering discharge samples as the “control state” and measuring relative changes at baseline, correcting for intra-individual variability using paired data. First, to estimate the difference in covariate-adjusted metabolite concentrations between state (baseline vs discharge) we used a linear mixed model (LMM) computed in R²⁰¹. Second, we used the intra-individual change in metabolite concentration (ratios; see above) in a logistic regression model (LOGIT) to test the effect of metabolite concentration change on differential treatment (outcome). FCs and FDR-adjusted p-values from these two models, for each metabolite, are reported in supplementary dataset 1 on our website (<https://mhi-omics.org/research-projects/metabolomics/>).

Our next objective is to study the influence of disease state (baseline/discharge), treatment (clopidogrel/ticagrelor), timepoint (T0/T1/T2) and their various interactions on normalized metabolite concentration (Y) by considering sex (s), age (a), diabetes (db), dyslipidemia (dl) as covariates. To estimate main effects and interaction terms in our data while taking advantage of sample pairing, we used a first three-way mixed analysis of covariance (ANCOVA) model:

$$Y \sim \text{treatment} * \text{state} * \text{timepoint} + a + s + db + dl + \text{Error}(\text{subject}) \text{ (Model 1)}$$

Individual patient effect (subject) was added as a random effect, to take pairing of samples into account. Despite covariates being matched between clopidogrel and ticagrelor groups, they are included as they may influence the outcome (metabolite concentration). The models were applied to the “Full dataset”, composed of all samples passing QC, and the “49-61 dataset”, which includes patients from 49 to 61 years old (Table S2). No significant three-way interaction was detected. Main effects and two-way interaction terms FDR-adjusted p-values for each metabolite are reported in supplementary dataset 2 on our website (<https://mhi-omics.org/research-projects/metabolomics/>).

Subsequently, we ran two additional ANCOVA models, replacing the timepoint parameter with sex or age, to test for treatment by sex and treatment by age interactions, while controlling for other covariates and interaction terms.

$$Y \sim \text{treatment} * \text{state} * a + s + \text{db} + \text{dl} + \text{Error}(\text{subject}) \quad (\text{Model 2a})$$

$$Y \sim \text{treatment} * \text{state} * s + a + \text{db} + \text{dl} + \text{Error}(\text{subject}) \quad (\text{Model 2b})$$

No significant three-way interaction was detected and FDR-adjusted p-values for two-way interaction terms involving sex and age for each metabolite are reported in supplementary dataset 3 on our website (<https://mhi-omics.org/research-projects/metabolomics/>).

WGCNA and Metabolite Set Enrichment Analysis

We performed a weighted correlation network analysis using the WGCNA R package version 1.64-1^{202,203}, a method initially developed for transcriptomics data that is becoming of common use in metabolomics. This approach is designed to derive clusters, or modules, of highly correlated features (metabolites in our case), as opposed to analyzing them individually. We used Metabolite Set Enrichment Analysis (MSEA) of modules to help interpret observed phenotypic changes. Pearson's correlations were calculated between metabolites in order to compute "co-expression" similarities and adjacency matrices were calculated using a power β (=4) converging towards a scale-free topology (highest number of metabolites having a low connectivity). Modules were created using the Dynamic Tree Cut method on the outputted clustering tree (Figure S3A). A threshold of 0.35 was applied but using other values did not change the modules created, either in quantity or in composition. Metabolites' module membership scores and eigenmetabolite values (value summarizing each module) were computed using the WGCNA R package. Eigenmetabolite values are computed per sample for each module and can be used for relating modules to external sample traits. We calculated the correlation between each module's eigenmetabolite values and external traits, such as treatment, state, age and sex. Kolmogorov-Smirnov (KS) tests were used to test the difference in the distributions of module eigenvalues between subsets of the data. To perform MSEA, we identified the KEGG and Human Metabolome Databases (HMDB) IDs manually for metabolites

in our WGCNA modules of interest, and uploaded our curated list of compounds in MetaboAnalyst's MSE tool, following extensive comparison with other methods that showed that MetaboAnalyst maximizes the number of compounds found²⁰⁴, as it uses multiple libraries containing over 6300 groups of metabolite sets to identify enriched metabolic pathways.

t-SNE and DBSCAN

We computed the Kendall correlation between the metabolites, and then used the t-distributed Stochastic Neighbor Embedding (t-SNE) as a dimensionality reduction technique to inspect the correlation patterns between these metabolites (hyperparameters: perplexity=7; learning rate = 200; 5000 training iterations). To visualize clusters of metabolites, we used Density-Based Spatial Clustering of Applications with Noise (DBSCAN), which are presented by different colors (hyperparameters: epsilon=2; minimum number of samples by cluster = 7). We used the python package Scikit-Learn implementation for both algorithms. This analysis highlighted 18 clusters in the data at BL state (Figure 4A) and 15 clusters at DC state (Figure S6A), with very few clusters being conserved in the two states (Figure S6B).

Network with RFPimp

To inspect metabolites inter-dependencies and similarities, we used a tool that iterates over all numerical features in a dataset, predicting each feature using the remaining ones and permutes features to calculate the importance of the predictors (permutation importance). We use a function called *feature_dependence_matrix* from the RFPimp python package. The function clips the predictors' importances to a maximum of 1 (upper threshold), and we ignore importances below 0.015 (lower threshold) to reduce the density of the relationship considered. It returns the predictability of the metabolites and a matrix denoting the contribution of all the other features to the prediction of the metabolite. We then used NetworkX python package to display the result. The display algorithm uses the force-directed algorithm, which puts nodes with stronger relationships closer to each other.

Section III. Supplementary results

Global metabolomic signature of myocardial infarction

ANCOVA Model 1 was used to identify metabolites with significant main effects for disease state (BL), and the LMM model was used to compute fold change. At BL, we observed increased levels of fatty acids (FA) compared to DC and a decrease in amino acids. We analyzed all samples (BL and DC combined) with WGCNA, which highlighted two clear clusters (Figure S3A) containing three distinct modules: the blue and turquoise modules map almost entirely to the under- and over- represented metabolites at disease state, respectively, while the brown module is made of metabolites that are not significantly modulated between disease states. As expected, blue and turquoise modules are both significantly correlated with disease state, but in opposite directions (Figure S3C, Spearman correlation, $\rho=-0.85$ $p=2e-99$ for the turquoise module; $\rho =0.73$ $p=1e-58$ for the blue module).

We performed MSEA on each module, which highlighted key enriched pathways modulated during MI (Figure S3B). The blue module, which comprises metabolites that are significantly decreased at BL, is enriched for many amino acid metabolism pathways such as glycine and serine ($p = 0.0215$), phenylalanine and tyrosine ($p=0.0341$) as well as urea cycle and ammonia recycling functions ($p=0.0364$ and 0.0437 , respectively), which are linked to amino acid catabolism/degradation. The turquoise module shows clear and highly significant enrichment of alpha linolenic acid and linoleic acid metabolism ($p = 1.79e-7$) and FA biosynthesis ($p = 0.0471$), supporting that metabolism and biosynthesis of FA is highly increased during the acute state of MI. Similar results were obtained in a recent study, where metabolic changes over time in non-STEMI was analyzed, showing elevation of FA during disease state¹⁹.

The brown module, which includes only 6 metabolites, is comprised only of short FA, which are not significantly modulated between BL and DC. Brown module metabolites cluster together in the t-SNE generated at BL and at DC, in groups #10 and #4, respectively (Figure 4A, S6). Four out of six metabolites in the brown module are found to be significantly modulated by age (Model 2a, FDR < 5%). Furthermore, brown module eigenvalues are significantly correlated with the age of patients (Spearman $\rho=-0.19$, $p=3e-04$) (Figure S4B) and their

distribution significantly differs when comparing patients above and below 62 years old (KS test, $p=0.01368$ for BL and $p=0.0183$ for DC, Table S3).

Age effects

Seeing that age influences the global metabolomic signature of MI, we used ANCOVA Model 2a to identify metabolites with significant state by age interactions. A total of 10 metabolites show significant interaction effects, with five being part of the turquoise module and increased at BL. The patients of greater age (>55 years old) show the largest increase for four lysoglycerophospholipids, whereas the effect is reversed for alpha-hydroxyisovalerate, for which younger people (<55 years old) show the most extreme difference (Figure S4C). A stronger effect in young patients is also seen for lysine (blue module), but in the opposite direction: the youngest patients show the most pronounced decrease at BL, compared to DC. Whereas gamma-glutamylglutamine and glutamine are not significantly different between BL and DC, age impacts the concentrations at DC, showing a marked decrease with age in both cases (Figure S4C). Pregnen-diol disulfate and 21-hydroxypregnenolone disulfate show complex relationships with age in both states, with a U-shaped distribution that suggests decrease with age except for the oldest group that is increasing. All five sulfated sex hormones (progestin steroid) in our dataset show sex or state by sex effects (Model 2b).

Time from symptoms onset influences MI metabolic signature

To study how the different timepoints (T0, T1, T2) affect metabolomic signatures, we considered patients from 49 to 61 years old, a group of 109 patients that are matched for age across the different timepoints (Figure S2C). By doing so, we ensured a greater homogeneity in terms of patient population, seeing as the difference in age distributions between these timepoints in the matched dataset is non-significant (Table S2).

We find that WGCNA module eigenvalues at BL are significantly different between timepoint categories, which suggests that the time from symptoms onset affects the metabolic signature of MI at BL (Figure S7A). Specifically, individuals arriving earlier than 4 hours after symptoms onset (T0 and T1) at the hospital, show a significant shift in distributions of eigenvalues for

both the turquoise module (Kolmogorov-Smirnov (KS) test, $p=0.02103$) and the blue module (KS test, $p=0.01874$) compared to patients arriving later (T2), who exhibit a weaker metabolomic signature of MI.

ANCOVA analyses did not identify any metabolites exhibiting significant main effects for timepoint, nor treatment by timepoint interactions, but significant state by timepoint interaction effects are seen. When considering all individuals, we find a set of 12 metabolites (Table S1) that show significant interaction effects between state and timepoints ($FDR<5\%$), 11 of which are confirmed in the 49-61 years old subset. Analysis in this subset finds an additional significant metabolite, 1-palmitoylglycerophosphate, that had an FDR of 5.8% in the model with all patients and is significantly modulated by age (Model 1, $FDR=0.00354$). Seven metabolites are FA that belong to the turquoise module. These FA metabolite concentrations decrease with increasing time from symptoms onset (Figure S7B). In both analyses, the top metabolite showing an interaction effect between state and timepoints is the pregnen-diol disulfate metabolite, which exhibits a significant state by age significant effect (see above). This metabolite also shows different profiles between females and males, across timepoints (Figure S7C), and is known to be affected by Acetaminophen use²⁰⁵. Overall, these results show that time from symptoms onset at which individuals are subsequently treated affects both the signature of MI and the recovery profile from an MI event.

t-SNE analysis reveals treatment effects

To find structure in the metabolites profiles, we used t-distributed stochastic neighbor embeddings (t-SNE), an emerging dimensionality reduction technique that can reveal hidden structures in the dataset²⁰⁶. This analysis highlighted 18 clusters in the data at BL state (Figure 4A) and 15 clusters at DC state, with very few clusters being conserved in the two states (Figure 4B, 4C, S6).

In total, ANCOVA models detected 33 metabolites showing interaction effects (Table 2 and S1). Notably, these metabolites tend to cluster together in the BL grouping, with the green t-SNE group (cluster #4) highly enriched (14/33, $p=1e-4$, permutation test). In fact, these green metabolites constitute a subset of the turquoise module, highlighting once again the

importance of long FA metabolism during MI. At DC, the green metabolites do not cluster together anymore in the ticagrelor group (Figure 4C), suggesting major remodeling of this subgroup of metabolites during MI recovery. Green metabolites are also enriched in the top significant metabolites in the LOGIT model comparing DC over BL ratios, with 12/15 metabolites at FDR 15% included in this cluster.

Three additional metabolites belonging to different t-SNE groups (Table S2) displayed significant interaction effects with treatment. Androsteroid monosulfate 2 displayed the most significant effect in the whole dataset and was markedly reduced at DC in participants treated with clopidogrel, but not ticagrelor. 2-hydroxybutyrate (AHB) shows a pattern that is similar to the omega-3/6 significant metabolites (higher in the ticagrelor-treated group), but its effect was limited to subgroup of patients aged from 49 to 61 years. Indeed, this metabolite is highly modulated for age (FC=1.83, FDR=0.0099), regardless of treatment or disease state, such that its effect associated with treatment will be masked in the full cohort. Only one metabolite showed a significant treatment by sex interaction effect (Model 2b), palmitoylcarnitine, and no significant treatment by age effect were seen (Model 2a).

Section IV. Supplementary Figures

Figure legends

Supplementary Figure 1. Summary of Study Design and Sample Sizes.

Study involves 175 patients with STEMI, randomized (1:1) to either clopidogrel or ticagrelor (PLATO trial; NCT00391872) and successfully treated by primary PCI. All baseline samples were taken within 12 hrs of symptoms onset with patients selected from three time-from-symptoms-onset categories (timepoints): T0=0-2h, T1=2-4h, T2=4-12h. This approach was taken to obviate the need to have dense serial measurements in the same participant but to simulate a temporal profile of the human STEMI metabolome. Discharge samples were taken at hospital discharge or 4 days after the baseline sample, whichever came first.

Abbreviations and symbols: STEMI = ST-segment elevation myocardial infarction, PCI = percutaneous coronary intervention, BL = Baseline, DC= Discharge, ♀/♂ = female/male.

Supplementary Figure 2: Quality control steps for metabolomics data.

(A) Diagram of exclusion of samples and metabolites according to different filters. (B) Principal component analyses score plots showing outlier samples UMON-00358 and UMON-00501. Percent of variance explained by each principal component (PC1 and PC2) are shown. (C) Age distribution (top panel) according to timepoint distribution (bottom panel), with dark purple, medium purple and light purple, representing T0, T1 and T2, respectively. Timepoints are biased for age (see Supplementary Table 2 and Supplementary Figure 4A), we replicated all analyses in a subset of the data (red box) where age is matched across timepoints. (D) Percent of missing values for each of the 489 metabolites in BL compared to DC samples, showing that no metabolites is completely missing only from one condition. Abbreviations: BL = Baseline, DC= Discharge, PC= Principal Component.

Supplementary Figure 3: WGCNA to compute co-expressed modules.

(A) Hierarchical clustering showing the identification of three modules of co-varying metabolites. (B) Metabolite Set Enrichment Analysis (MSEA) of the three modules using MetaboAnalyst. (C) Heatmap and histograms representing the individual metabolite concentrations and eigenvalues variation, respectively, in BL and DC samples for the three modules.

Abbreviations: BL = Baseline, DC= Discharge.

Supplementary Figure 4. Impact of Age of Patients.

(A) Significant differential distribution of patient's age across timepoint groups (see Supplementary Table 2 for significance). (B) Differential distribution of patient's age for the brown module' eigenvalues computed for each patient, which shows that this module includes metabolites impacted by age. Blue and turquoise modules' eigenvalues are shown but are not significantly different between age groups. (C) State by age interaction effects for 10 metabolites reported in Supplementary Table 2. BL and DC samples were split into 5 bins of different age intervals, as shown in figure legend, which all include 35 individuals.

Abbreviations: BL = Baseline, DC= Discharge.

Supplementary Figure 5. Individual changes in PUFAs normalized concentration.

Shown here are the PUFAs that are discriminant for the omega-3 (top plots) vs omega-6 (bottom plots) pathways. Each line is a patient that received clopidogrel (red) or ticagrelor (blue). These plots show higher concentration of these compounds at discharge in the ticagrelor arm. Stripped lines show patients that go against the general tendency of decrease at discharge (their slope is positive), mainly individuals in the ticagrelor group.

Abbreviations: BL = Baseline, DC= Discharge, PUFAs = polyunsaturated fatty acids.

Supplementary Figure 6. t-SNE plots generated for different subsets of samples.

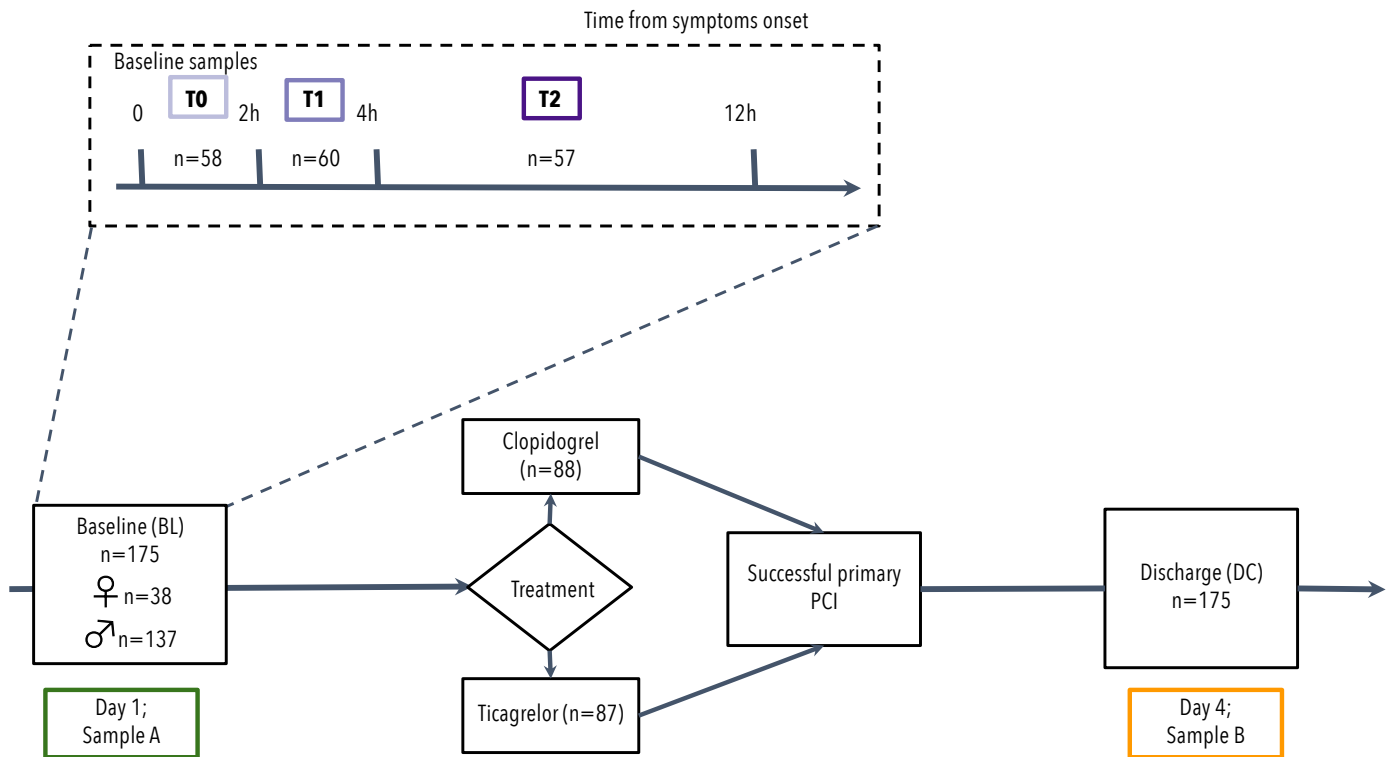
(A) t-SNE made using only discharge samples, colored by clustered established by the DBSCAN method. (B) t-SNE made using only baseline samples as in main Figure 4B, but colored according to discharge groupings as in A. (C, D) t-SNE made using only baseline samples split into clopidogrel and ticagrelor subsets. More t-SNE plots for different subset of the dataset can be visualized at <https://mhi-omics.org/research-projects/metabolomics/>

Abbreviations: t-SNE = t-distributed Stochastic Neighbor Embedding.

Supplementary Figure 7. Impact of time-from-symptoms-onset (timepoint) intervals.

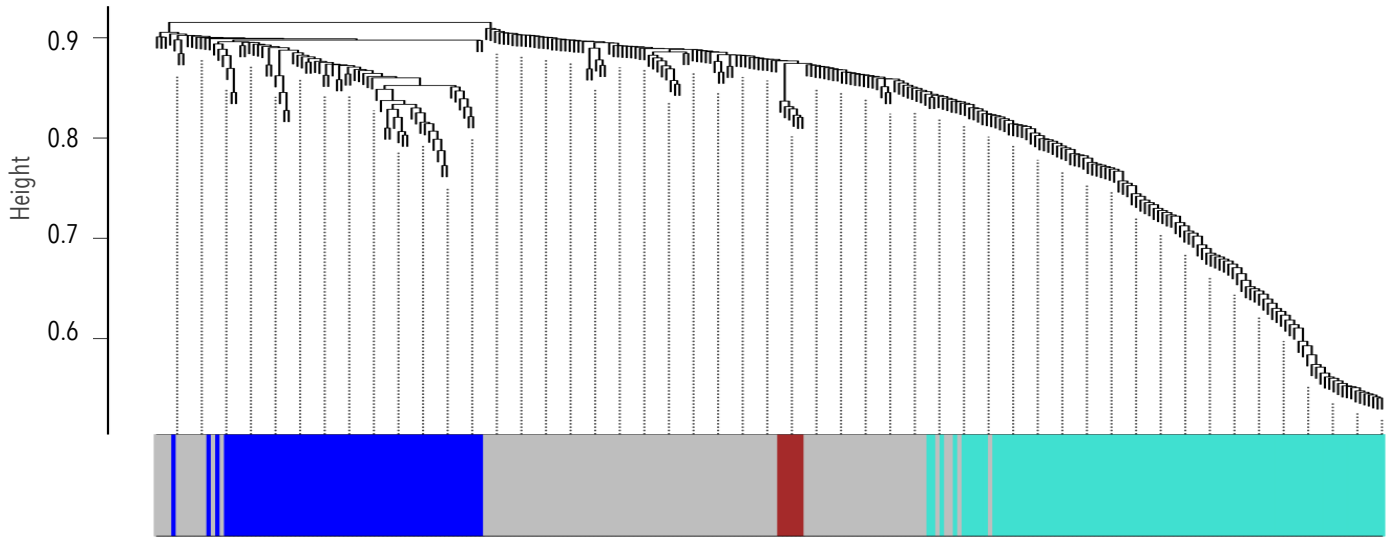
(A) Significant differential distribution of patient's eigenvalues for the blue and turquoise modules from WGCNA across timepoint intervals at baseline. (B) State by timepoint interaction effects for 13 metabolites reported in Supplementary Table 2. Sample sizes in each timepoint group are shown in Supplementary Figure 1. (C) Influence of sex on the state by timepoint interaction effect found for pregnen-diol disulfate.

Abbreviations: BL = Baseline, DC= Discharge.

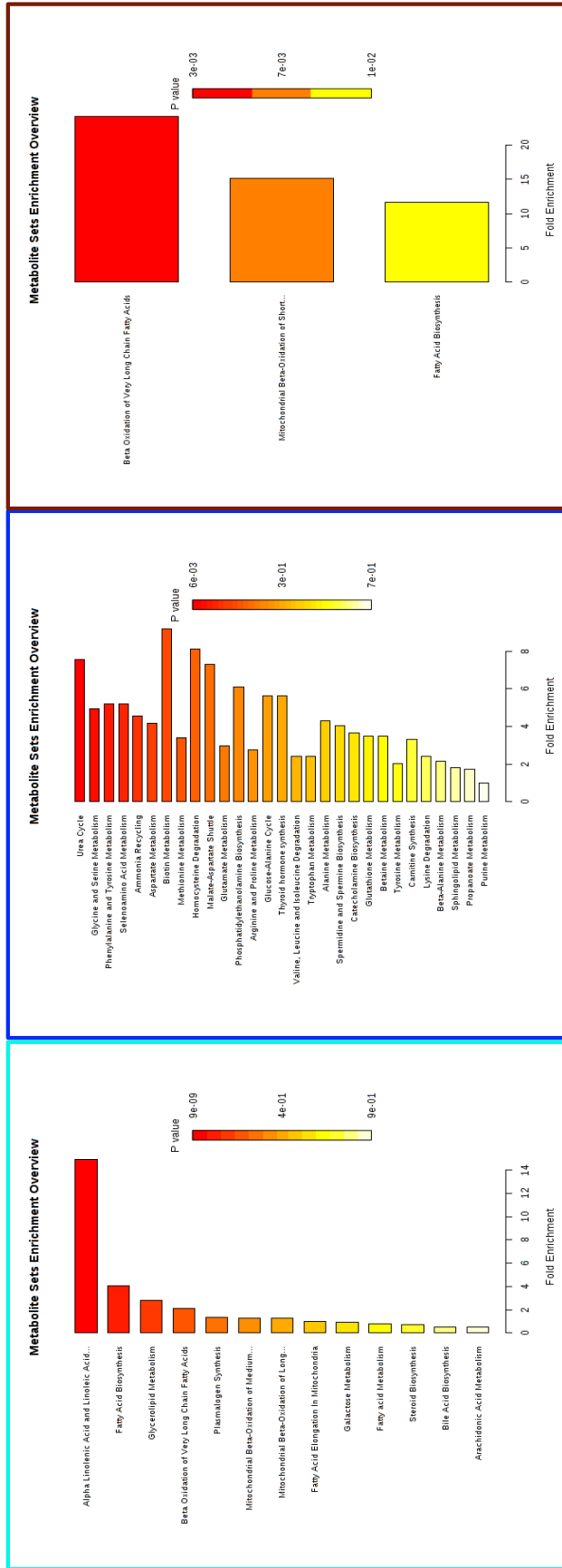


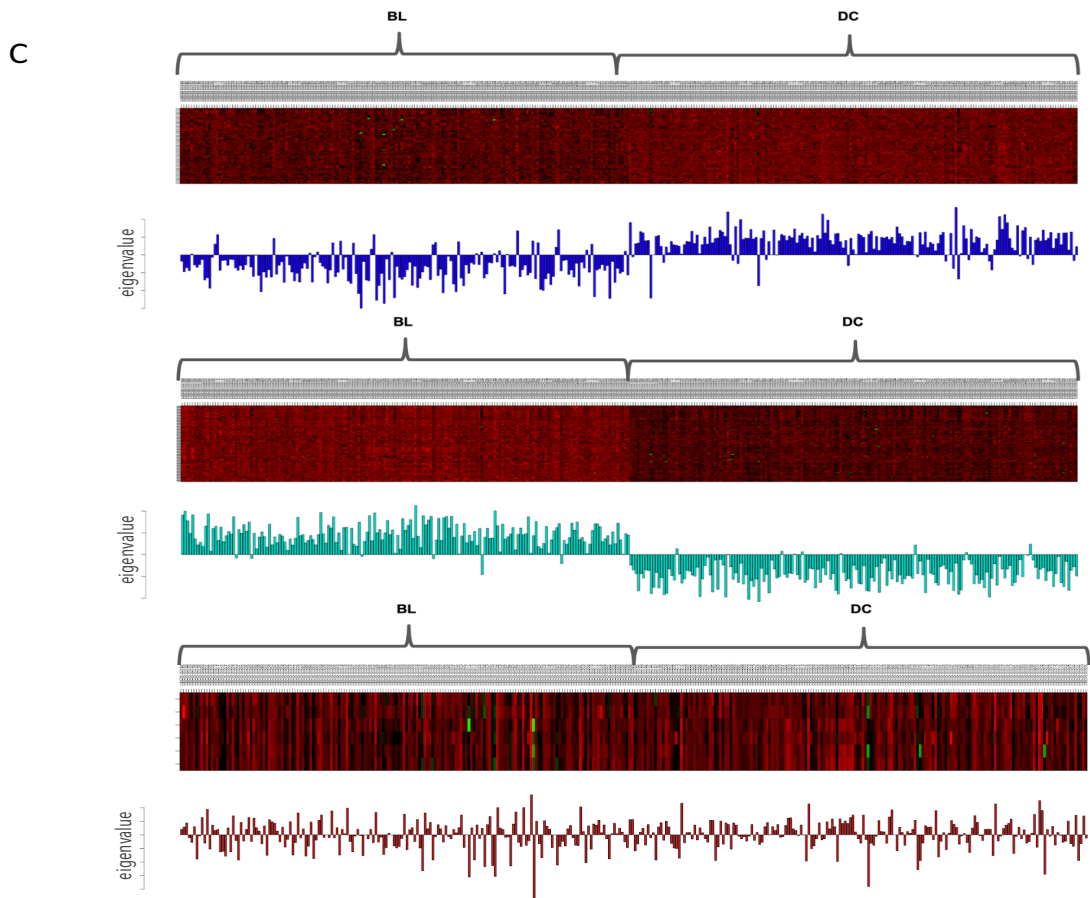
Supplementary Figure 1. Summary of Study Design and Sample Sizes.

A



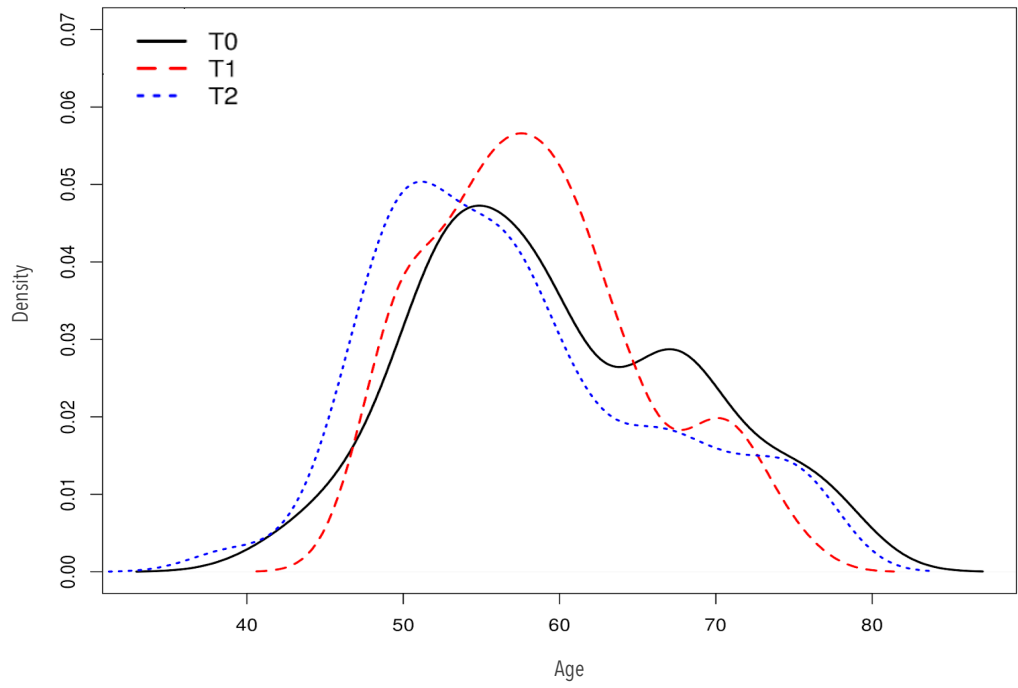
B



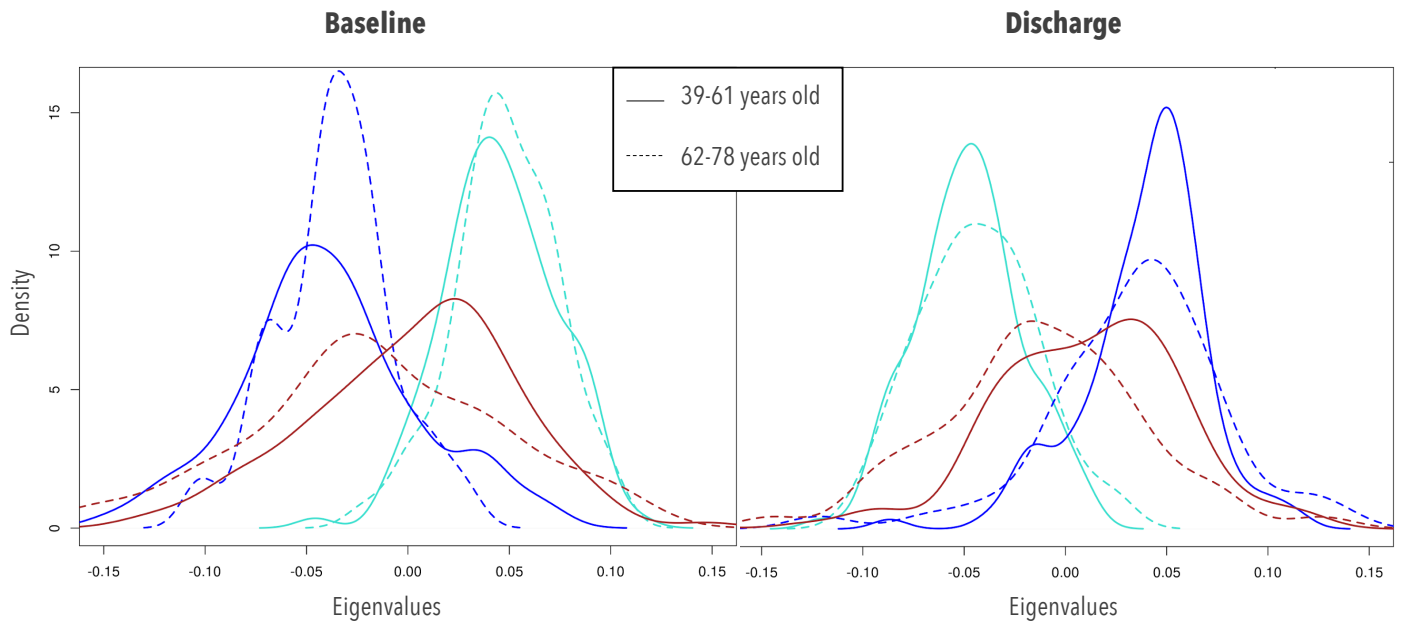


Supplementary Figure 3: WGCNA to compute co-expressed modules.

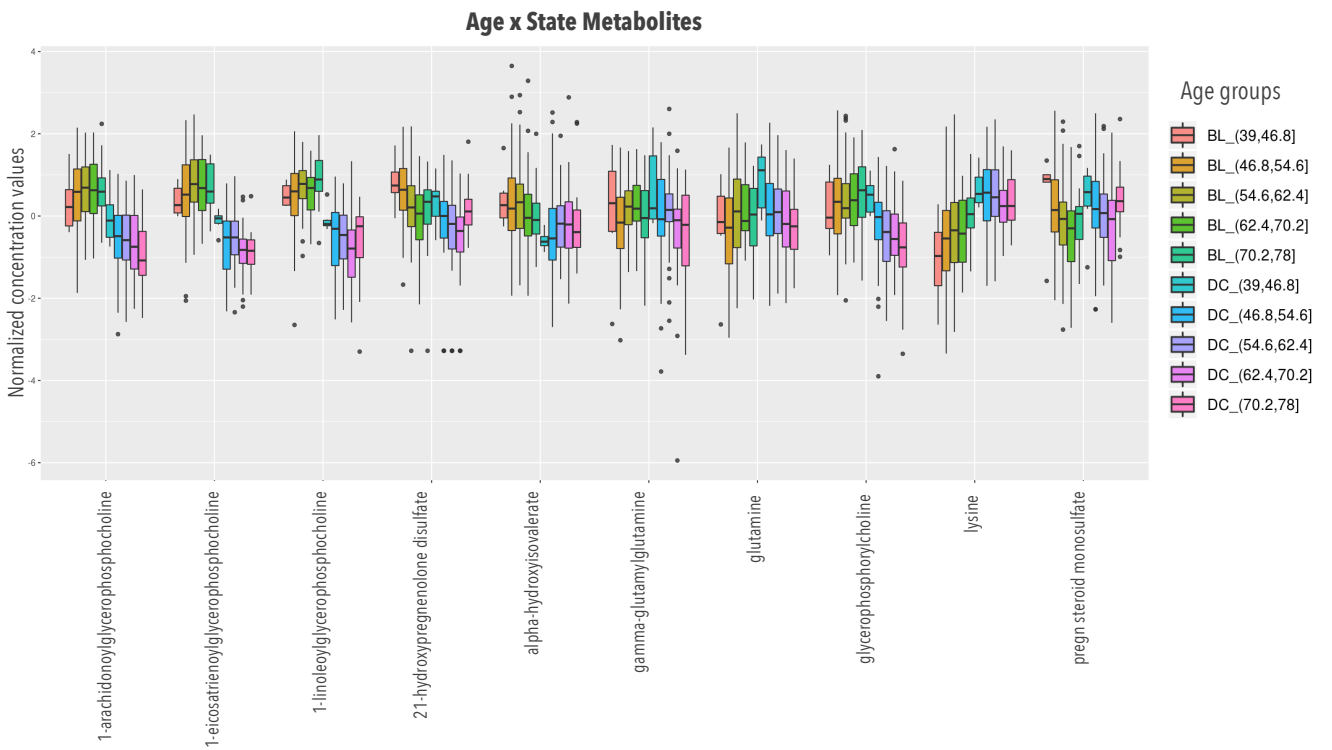
A



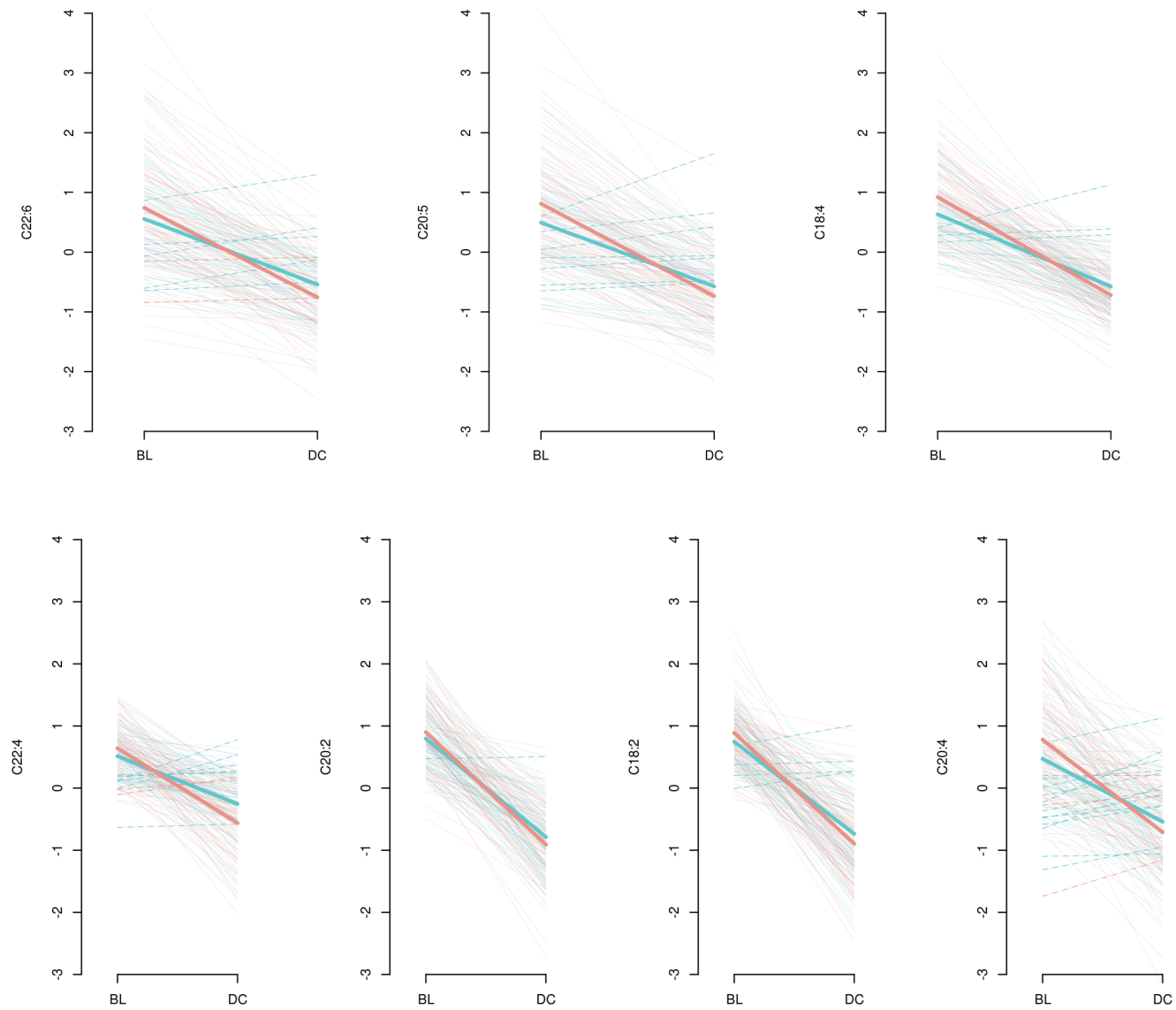
B



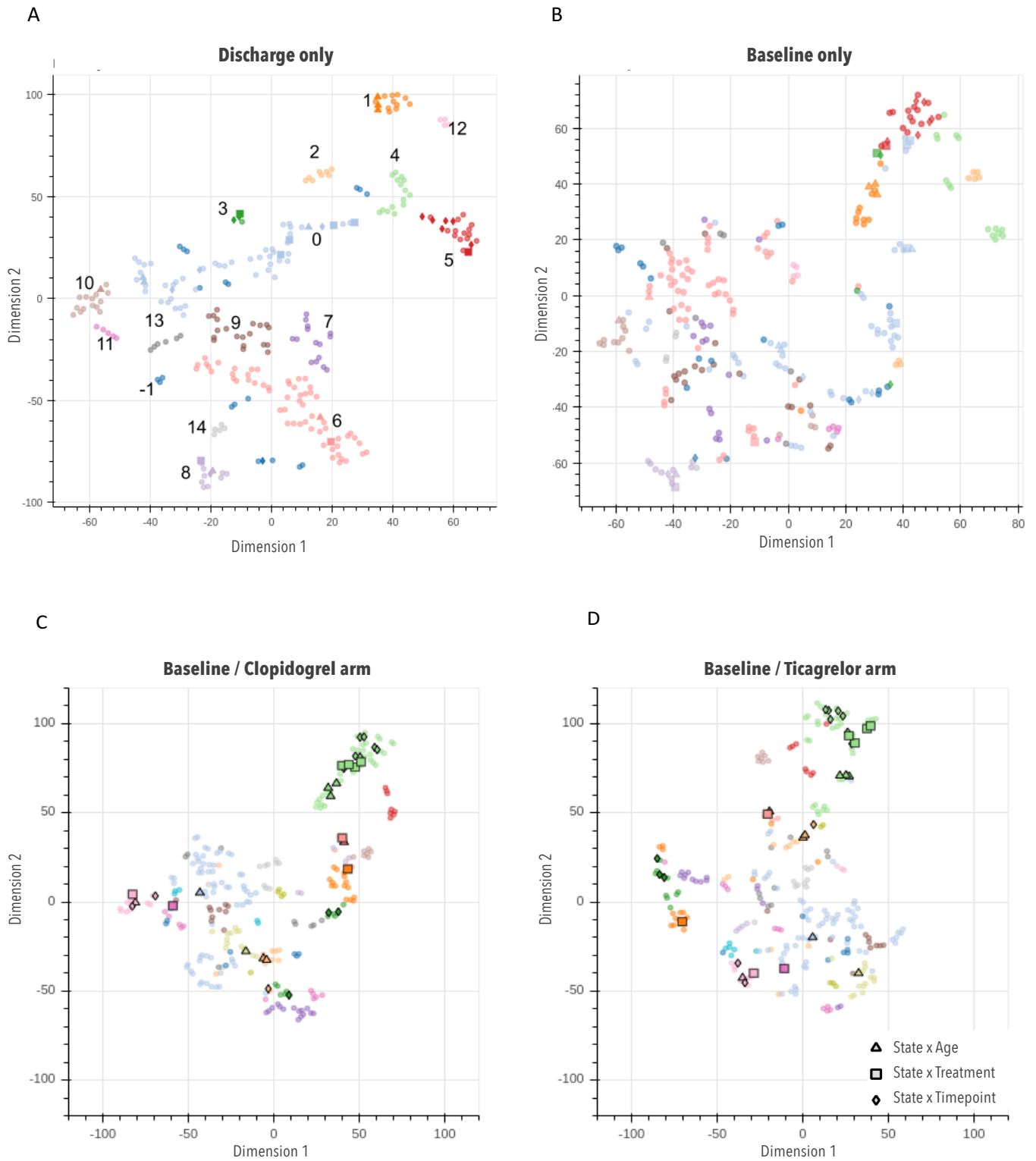
C



Supplementary Figure 4. Impact of Age of Patients.

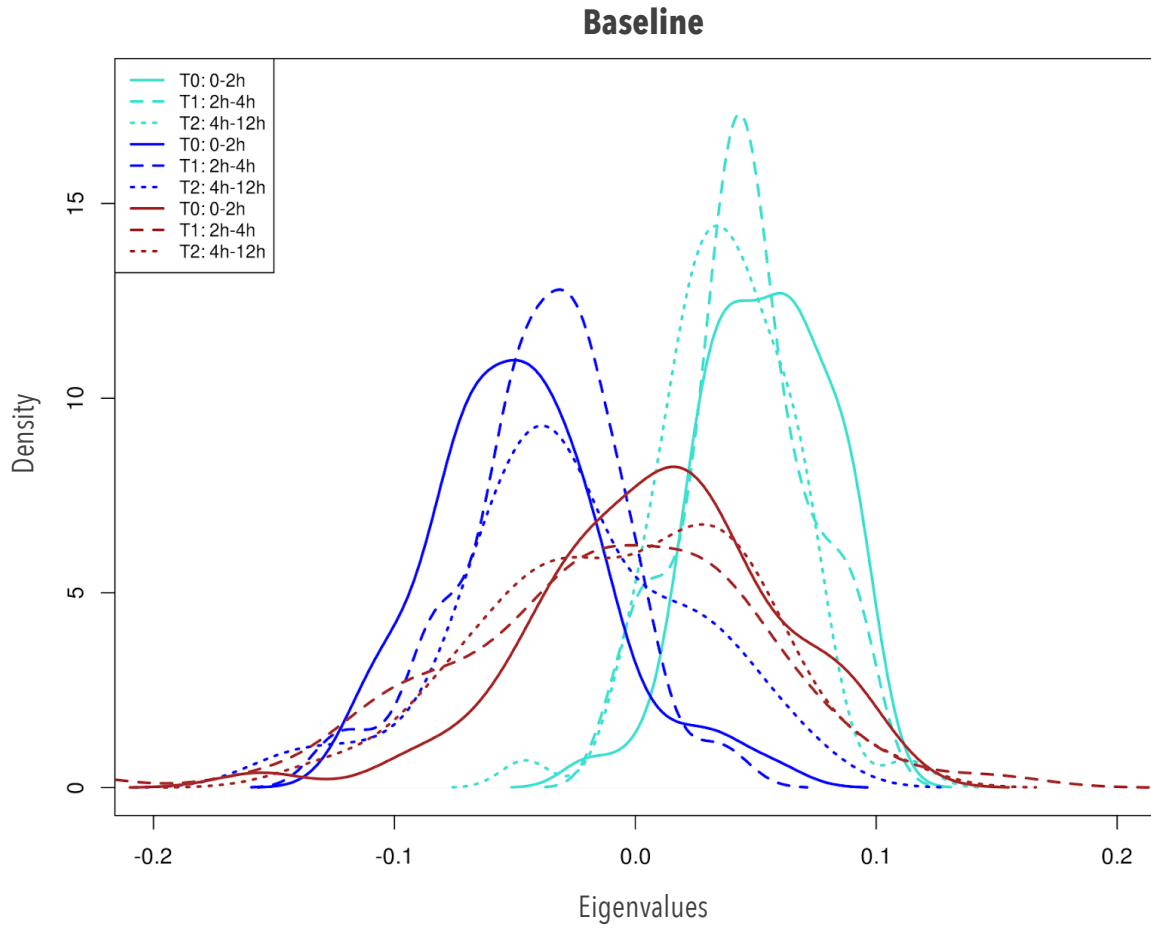


Supplementary Figure 5. Individual changes in PUFAs normalized concentration.

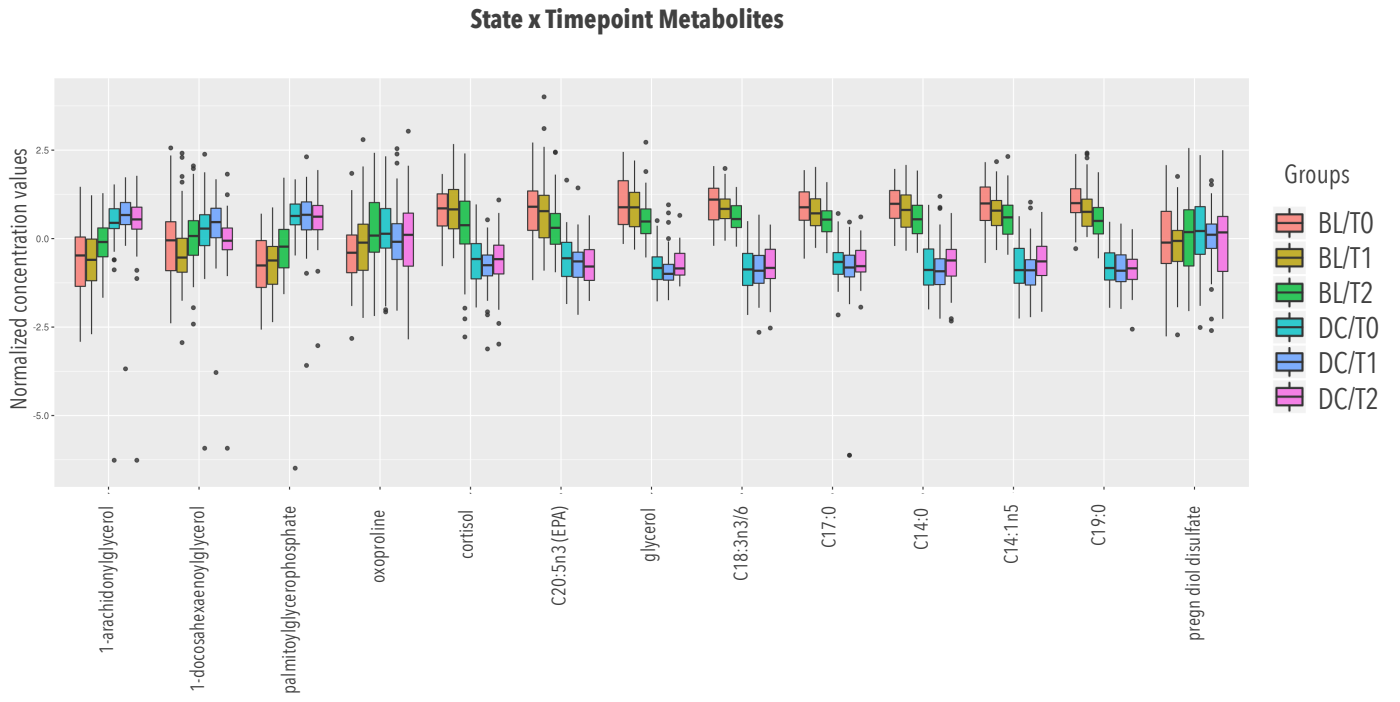


Supplementary Figure 6. t-SNE plots generated for different subsets of samples.

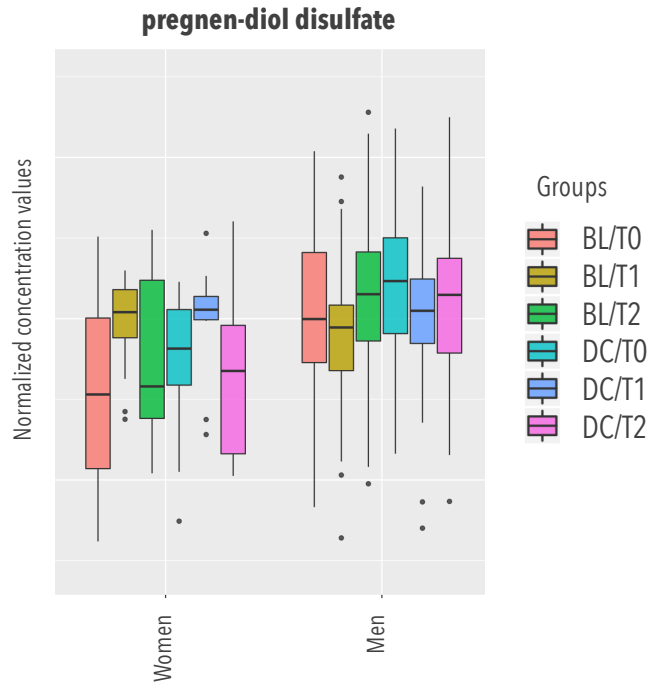
A



B



C



Supplementary Figure 7. Impact of time-from-symptoms-onset (timepoint) intervals.

Section V. Supplementary Tables

Supplementary Table 1. Metabolites with significant interaction effects in ANCOVA models.

Interaction term	Metabolites	WGCNA Module	BL t-SNE group	FDR		BL vs DC (FC)	
				Full dataset	49-61 dataset	LMM	LOGIT
State x age (Model 2a)	Lysine	Blue	16	0.026	0.721	0.543	1.073
	1-eicosatrienoylglycerophosphocholine	Turquoise	4	0.018	0.449	2.567	1.170
	1-arachidonoylglycerophosphocholine	Turquoise	4	0.012	0.432	2.292	1.099
	1-linoleoylglycerophosphocholine	Turquoise	4	0.012	0.432	2.396	0.991
	Glycerophosphorylcholine GPC	Turquoise	6	0.012	0.497	1.682	1.268
	Alpha-hydroxyisovalerate *	Turquoise	0	0.018	0.841	1.457	0.811
	21-hydroxypregnenolone disulfate	Grey	12	0.012	0.452	1.518	1.073
	Pregnen-diol-disulfate *	Grey	12	0.007	0.721	0.912	0.937
	<i>Gamma-glutamylglutamine</i>	Grey	2	0.012	0.681	1.055	0.770
	<i>Glutamine</i>	Grey	2	0.008	0.134	0.906	0.842
State x timepoint (Model 1)	1-palmitoylglycerophosphate **	Blue	3	0.058	0.028	0.452	0.839
	1-arachidonylglycerol **	Blue	3	0.032	0.062	0.514	1.044
	1-docosahexaenoylglycerol	Blue	3	0.032	0.137	0.791	1.029
	<i>5-oxoproline</i> *	Blue	2	0.020	0.023	0.882	0.906
	C19:0 ^o	Turquoise	4	0.034	0.062	3.108	1.421
	C18:3n3 or n6 ^o	Turquoise	4	0.032	0.062	3.144	1.432
	C14:0	Turquoise	4	0.032	0.062	2.932	1.441
	C14:1n5	Turquoise	4	0.029	0.062	2.915	1.378
	Glycerol	Turquoise	4	0.020	0.028	3.042	1.432
	C17:0	Turquoise	4	0.020	0.062	2.812	1.300
	C20:5n3 (EPA)	Turquoise	4	0.029	0.028	2.477	1.974
	Cortisol *	Turquoise	12	0.016	0.028	2.481	0.953
	Pregnen-diol-disulfate *	Grey	12	0.001	0.023	0.912	0.937
State x sex (Model 2b)	21-hydroxypregnenolone disulfate	Grey	12	9.54E-05	0.034	1.518	1.073
	Pregnenolone sulfate	Turquoise	12	3.13E-05	0.020	2.552	1.054
	Pregn-steroid-monosulfate	Turquoise	12	2.37E-07	0.004	2.501	1.080
Treatment x sex (Model 2b)	Palmitoylcarnitine	Turquoise	15	0.037	0.124	1.638	1.307

Footnotes:

* These metabolites are significant for sex as main effect in Model 2b (Full dataset)

** These metabolites are significant for age as main effect in Model 2a (Full dataset)

^o Metabolites in the top 10 for main state effect in Model 1 and Model 2a/b (Full dataset)

Italicized metabolites are not significantly modulated between BL and DC

Supplementary Table 2. Kolmogorov–Smirnov test results showing time points distribution significantly confounded by age in the full dataset. This is not the case in the sub-dataset with only patient from 49-61 years old included

	<i>T0 vs T1</i>	<i>T0 vs T2</i>	<i>T1 vs T2</i>
<i>Full dataset</i>	0.04845	0.05263	0.01451
<i>Sub-dataset</i>	0.35893	0.15174	0.11988

Chapitre 6 – Discussion

6.1 Synthèse de l'article

La **Figure 29** illustre la découverte principale de notre article et l'hypothèse proposée.

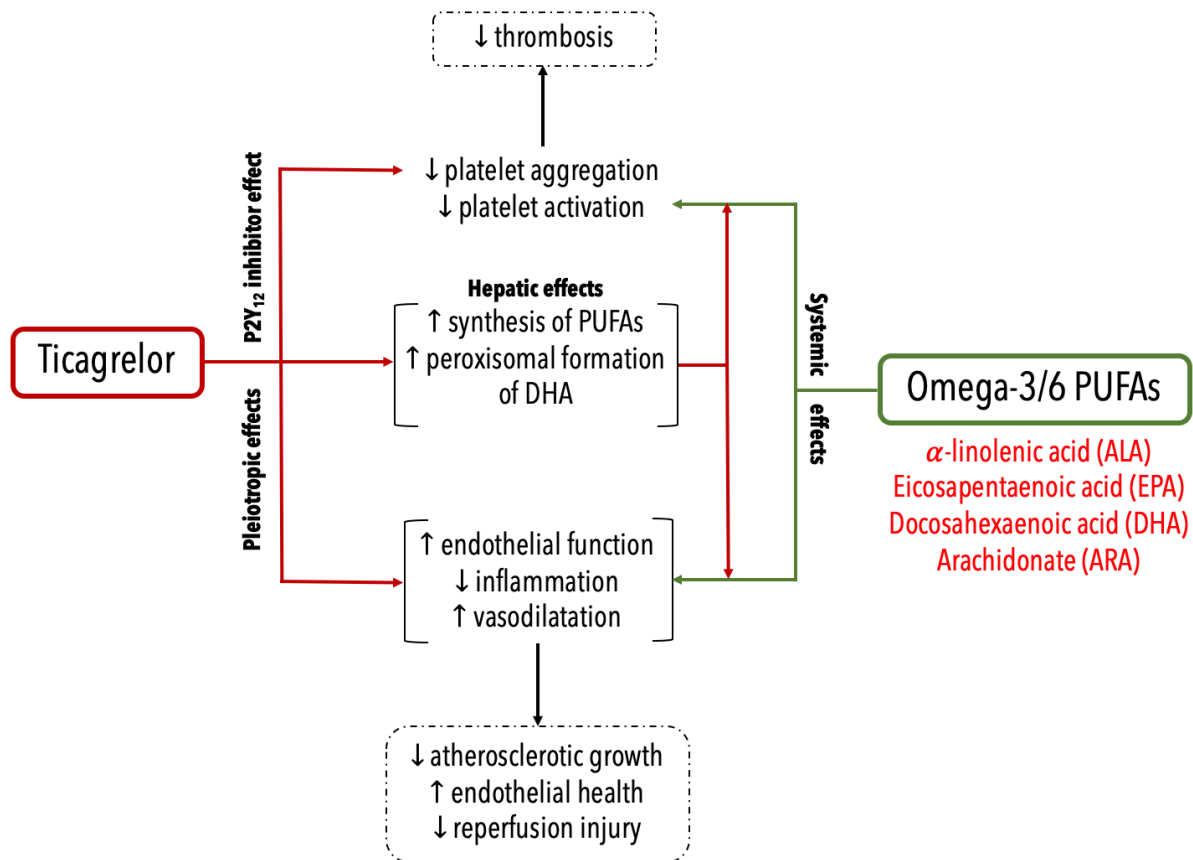


Figure 29. Synthèse de l'article : lien entre les différents effets pléiotropiques décrits du ticagrelor parallèlement aux propriétés des omega-3.

6.2 Impact et perspectives

Dans l'étude présentée ci-haut, une signature métabolomique claire de l'IAM ainsi que de la lésion d'ischémie-reperfusion est mise de l'avant grâce à des méthodes statistiques et bio-informatiques rigoureuses. Cette dernière est caractérisée par une augmentation de l'expression des acides gras et une diminution du niveau d'acides aminés en infarctus du myocarde. Les données présentées dans l'article apporteront sans doute une meilleure compréhension de la physiopathologie sous-jacente à l'ischémie cardiaque et permettront de générer de nouvelles hypothèses. De plus, à travers la métabolomique et la bio-informatique, le modèle de l'étude a permis l'interprétation de changements métabolomiques subtils liés aux insultes myocardiques ainsi qu'aux thérapies mécaniques et pharmacologiques. En effet, le ticagrelor semble être associé à des taux plus élevés de métabolites des oméga-3 et oméga-6 dans le sang comparativement au clopidogrel. Les bienfaits potentiels de ces omégas, quoique débattus, pourraient potentiellement expliquer le bénéfice de la mortalité avec la première molécule dans l'essai clinique PLATO. Les limitations de l'étude en lien avec le contrôle de facteurs confondants, entre autres, ont été élaborés dans l'article, tout comme la nécessité d'analyses métabolomiques ciblées avec des témoins pour confirmer l'association et peut-être même décrire un lien de cause à effet.

Ainsi, d'autres études seront nécessaires, avec des substrats reconnus, afin d'identifier précisément les voies métaboliques impliquées. Secondairement, l'analyse des voies permettra de mieux comprendre la signification biologique des variations des métabolites dans la maladie¹⁶⁶. De plus, l'identification des métabolites exogènes du régime alimentaire ou de la pharmacothérapie¹³¹ avant l'analyse mènera à une meilleure sélection des variations biologiques souhaitées. D'autres études ciblées avec des méthodologies adéquates¹⁹³ aideront à confirmer les résultats associés de façon cohérente et devraient inclure des corrections pour les molécules pharmacologiques utilisées ainsi que les comorbidités potentielles qui peuvent être des facteurs confondants, y compris le tabagisme et l'obésité.

Bref, l'utilisation des sciences systémiques, notamment la métabolomique, en médecine clinique mènera sans doute à des méthodes diagnostiques et des approches thérapeutiques

ciblées sur les cascades métaboliques cellulaires²⁰⁷. Avec des bases de données grandissantes et une meilleure compréhension des subtilités de la réponse corporelle à différentes insultes et traitements, il est souhaitable d'évoluer vers une médecine personnalisée¹³³, où les traitements pourront être titrés et ajustés en fonction de la réponse de l'hôte, telle qu'exprimée par les changements métaboliques. Par exemple, avec l'association décrite entre le ticagrelor et les oméga-3, il pourrait être envisageable d'utiliser des traitements qui optimisent les oméga-3 chez les individus avec apport et métabolisme inadéquats des substrats, afin de moduler le dommage myocardique suivant un IAM et une lésion d'I-R.

Chapitre 7 – Conclusion

Ce mémoire est dédié à une maladie qui a un impact épidémiologique et sociétal important sur la population mondiale. La pathophysiologie de l'infarctus et le métabolisme cardiaque, présentés dans le **Chapitre 1** et le **Chapitre 3** respectivement, permettent de comprendre l'impact de l'ischémie cardiaque sur les cardiomyocytes et, par le même fait, les cibles pharmacologiques des traitements actuels (**Chapitre 2**). Au **Chapitre 4**, la métabolomique, science qui a fait ses preuves dans les dernières années, est décrite. Un survol du monde de la bio-informatique présente cet outil primordial qui permet d'analyser les données et de mieux caractériser l'état physiologique et pathologique d'un vivant à travers les sciences systémiques. Ainsi, dans le cadre de ce projet de maîtrise, ces différentes sciences nous ont permis de décrire un nouvel effet métabolique associé à l'usage d'un antiplaquettaire qui sauve des vies en IAM, soit le ticagrelor. En effet, la contribution originale présentée dans ce mémoire illustre l'importance de la métabolomique et de la bio-informatique pour mieux comprendre l'infarctus du myocarde et des différences physiopathologiques associées à l'âge ainsi que l'effet des antiplaquettaires, partie centrale du traitement des SCA.

Ainsi, la métabolomique aura un impact substantiel sur la pratique clinique telle que nous la connaissons aujourd'hui, grâce à une meilleure compréhension de la réponse métabolique systémique aux gestes cliniques apportés. Parallèlement, elle modifiera sans doute la démarche en recherche médicale et fera, avec la bio-informatique, partie intégrante du monde clinique. La bio-informatique, qui prend racine dans les mathématiques, est bien différente des sciences de la santé. Cependant, elle est centrale dans l'interprétation des données de sciences systémiques. J'espère que ce mémoire a su faire le pont entre la médecine clinique et la métabolomique en sciences cardiovasculaires, et qu'il ait ouvert les yeux, quoique sommairement, sur le monde de la bio-informatique, qu'il vaut la peine de découvrir comme clinicien.

Références bibliographiques

1. Stanley WC, Recchia FA, Lopaschuk GD. Myocardial substrate metabolism in the normal and failing heart. *Physiol Rev* 2005;85:1093-129.
2. Global, regional, and national age-sex specific all-cause and cause-specific mortality for 240 causes of death, 1990-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet (London, England)* 2015;385:117-71.
3. Chagas AC, Dourado PM, Galvao Tde F. Modulation of cardiac metabolism during myocardial ischemia. *Current pharmaceutical design* 2008;14:2563-71.
4. Nabel EG, Braunwald E. A Tale of Coronary Artery Disease and Myocardial Infarction. *New England Journal of Medicine* 2012;366:54-63.
5. Alpert JS. A Few Unpleasant Facts About Atherosclerotic Arterial Disease in the United States and the World. *The American journal of medicine* 2012;125:839-40.
6. Rosano GM, Fini M, Caminiti G, Barbaro G. Cardiac metabolism in myocardial ischemia. *Current pharmaceutical design* 2008;14:2551-62.
7. Faxon D, Brown M. Antiplatelet Therapy for Postdischarge Medical Management of Acute Coronary Syndrome. *The American journal of medicine*;121:171-8.
8. Roffi M, Patrono C, Collet JP, et al. 2015 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation: Task Force for the Management of Acute Coronary Syndromes in Patients Presenting without Persistent ST-Segment Elevation of the European Society of Cardiology (ESC). *European heart journal* 2016;37:267-315.
9. Srikanth S, Ambrose JA. Pathophysiology of coronary thrombus formation and adverse consequences of thrombus during PCI. *Current cardiology reviews* 2012;8:168-76.
10. Libby P. Mechanisms of Acute Coronary Syndromes and Their Implications for Therapy. *New England Journal of Medicine* 2013;368:2004-13.
11. Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, et al. Third universal definition of myocardial infarction. *European heart journal* 2012;33:2551-67.

12. Ross R, Glomset JA. The Pathogenesis of Atherosclerosis. *New England Journal of Medicine* 1976;295:369-77.
13. Lusis AJ. Atherosclerosis. *Nature* 2000;407:233-41.
14. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature* 1993;362:801-9.
15. Ross R, Glomset JA. The Pathogenesis of Atherosclerosis. *New England Journal of Medicine* 1976;295:420-5.
16. Fuster V, Badimon L, Badimon JJ, Chesebro JH. The Pathogenesis of Coronary Artery Disease and the Acute Coronary Syndromes. *New England Journal of Medicine* 1992;326:242-50.
17. Ross R. Atherosclerosis — An Inflammatory Disease. *New England Journal of Medicine* 1999;340:115-26.
18. Davì G, Patrono C. Platelet Activation and Atherothrombosis. *New England Journal of Medicine* 2007;357:2482-94.
19. Borrisoff JI, Spronk HMH, ten Cate H. The Hemostatic System as a Modulator of Atherosclerosis. *New England Journal of Medicine* 2011;364:1746-60.
20. Fan J, Watanabe T. Inflammatory reactions in the pathogenesis of atherosclerosis. *Journal of atherosclerosis and thrombosis* 2003;10:63-71.
21. Glagov S, Weisenberg E, Zarins CK, Stankunavicius R, Kolettis GJ. Compensatory Enlargement of Human Atherosclerotic Coronary Arteries. *New England Journal of Medicine* 1987;316:1371-5.
22. Insull W, Jr. The Pathology of Atherosclerosis: Plaque Development and Plaque Responses to Medical Treatment. *The American journal of medicine* 2009;122:S3-S14.
23. Mudge GHJ, Grossman W, Mills RMJ, Lesch M, Braunwald E. Reflex Increase in Coronary Vascular Resistance in Patients with Ischemic Heart Disease. *New England Journal of Medicine* 1976;295:1333-7.
24. Melanson SF, Tanasijevic MJ. Laboratory diagnosis of acute myocardial injury. *Cardiovascular pathology : the official journal of the Society for Cardiovascular Pathology* 2005;14:156-61.

25. Razzouk L, Fusaro M, Esquitin R. Novel biomarkers for risk stratification and identification of life-threatening cardiovascular disease: troponin and beyond. *Current cardiology reviews* 2012;8:109-15.
26. O'Keefe JH, Carter MD, Lavie CJ. Primary and secondary prevention of cardiovascular diseases: a practical evidence-based approach. *Mayo Clin Proc* 2009;84:741-57.
27. Hansson GK. Inflammation, Atherosclerosis, and Coronary Artery Disease. *New England Journal of Medicine* 2005;352:1685-95.
28. Haaf P, Reichlin T, Corson N, et al. B-type Natriuretic Peptide in the Early Diagnosis and Risk Stratification of Acute Chest Pain. *The American journal of medicine*;124:444-52.
29. Vogel RA. Cholesterol lowering and endothelial function. *The American journal of medicine* 1999;107:479-87.
30. Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, et al. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *Lancet (London, England)* 2004;364:937-52.
31. Mach F, Baigent C, Catapano AL, et al. 2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: lipid modification to reduce cardiovascular risk: The Task Force for the management of dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and European Atherosclerosis Society (EAS). *European heart journal* 2019.
32. Anderson TJ, Gregoire J, Pearson GJ, et al. 2016 Canadian Cardiovascular Society Guidelines for the Management of Dyslipidemia for the Prevention of Cardiovascular Disease in the Adult. *The Canadian journal of cardiology* 2016;32:1263-82.
33. Barter P, Gotto AM, LaRosa JC, et al. HDL Cholesterol, Very Low Levels of LDL Cholesterol, and Cardiovascular Events. *New England Journal of Medicine* 2007;357:1301-10.
34. Khera AV, Cuchel M, de la Llera-Moya M, et al. Cholesterol Efflux Capacity, High-Density Lipoprotein Function, and Atherosclerosis. *New England Journal of Medicine* 2011;364:127-35.
35. Abbott JD. Measuring the Effectiveness of Percutaneous Coronary Intervention. *Circulation Cardiovascular interventions* 2015;8:e003024.

36. Immediate PCI after thrombolysis for STEMI. *Nature Clinical Practice Cardiovascular Medicine* 2008;5:298-9.
37. Ibanez B, James S, Agewall S, et al. 2017 ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation: The Task Force for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC). *European heart journal* 2018;39:119-77.
38. Sabatine MS, Morrow DA, Giugliano RP, et al. Implications of upstream glycoprotein IIb/IIIa inhibition and coronary artery stenting in the invasive management of unstable angina/non-ST-elevation myocardial infarction: a comparison of the Thrombolysis In Myocardial Infarction (TIMI) IIIB trial and the Treat angina with Aggrastat and determine Cost of Therapy with Invasive or Conservative Strategy (TACTICS)-TIMI 18 trial. *Circulation* 2004;109:874-80.
39. Hoedemaker NPG, Damman P, Woudstra P, et al. Early Invasive Versus Selective Strategy for Non-ST-Segment Elevation Acute Coronary Syndrome: The ICTUS Trial. *J Am Coll Cardiol* 2017;69:1883-93.
40. O'Gara PT, Kushner FG, Ascheim DD, et al. 2013 ACCF/AHA guideline for the management of ST-elevation myocardial infarction: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *J Am Coll Cardiol* 2013;61:e78-140.
41. Hillis LD, Lange RA. Optimal management of acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 2009;360:2237-40.
42. Charlton-Menys V, Durrington PN. Human cholesterol metabolism and therapeutic molecules. *Experimental physiology* 2008;93:27-42.
43. Program LRC. The Lipid Research Clinics Coronary Primary Prevention Trial results. I. Reduction in incidence of coronary heart disease. *Jama* 1984;251:351-64.
44. Kinlay S. Potential vascular benefits of statins. *The American journal of medicine* 2005;118:62-7.
45. Nissen SE, Tuzcu EM, Schoenhagen P, et al. Statin Therapy, LDL Cholesterol, C-Reactive Protein, and Coronary Artery Disease. *New England Journal of Medicine* 2005;352:29-38.

46. Byrne P, Cullinan J, Smith SM. Statins for primary prevention of cardiovascular disease. *BMJ (Clinical research ed)* 2019;367:l5674.
47. Yusuf S, Bosch J, Dagenais G, et al. Cholesterol Lowering in Intermediate-Risk Persons without Cardiovascular Disease. *New England Journal of Medicine* 2016;374:2021-31.
48. Cannon CP, Braunwald E, McCabe CH, et al. Intensive versus Moderate Lipid Lowering with Statins after Acute Coronary Syndromes. *New England Journal of Medicine* 2004;350:1495-504.
49. Cannon CP, Blazing MA, Giugliano RP, et al. Ezetimibe Added to Statin Therapy after Acute Coronary Syndromes. *New England Journal of Medicine* 2015;372:2387-97.
50. Robinson JG, Farnier M, Krempf M, et al. Efficacy and Safety of Alirocumab in Reducing Lipids and Cardiovascular Events. *New England Journal of Medicine* 2015;372:1489-99.
51. Ridker PM, Revkin J, Amarenco P, et al. Cardiovascular Efficacy and Safety of Bococizumab in High-Risk Patients. *New England Journal of Medicine* 2017;376:1527-39.
52. Sabatine MS, Giugliano RP, Keech AC, et al. Evolocumab and Clinical Outcomes in Patients with Cardiovascular Disease. *New England Journal of Medicine* 2017;376:1713-22.
53. Williams GH. Aldosterone Biosynthesis, Regulation, and Classical Mechanism of Action. *Heart failure reviews* 2005;10:7-13.
54. Persson PB. Renin: origin, secretion and synthesis. *The Journal of physiology* 2003;552:667-71.
55. Hackenthal E, Paul M, Ganten D, Taugner R. Morphology, physiology, and molecular biology of renin secretion. *Physiological Reviews* 1990;70:1067-116.
56. Papademetriou V. Inhibition of the renin-angiotensin-aldosterone system to prevent ischemic and atherothrombotic events. *American heart journal* 2009;157:S24-30.
57. Pfeffer MA, Braunwald E, Moyé LA, et al. Effect of Captopril on Mortality and Morbidity in Patients with Left Ventricular Dysfunction after Myocardial Infarction. *New England Journal of Medicine* 1992;327:669-77.
58. Køber L, Torp-Pedersen C, Carlsen JE, et al. A Clinical Trial of the Angiotensin-Converting-Enzyme Inhibitor Trandolapril in Patients with Left Ventricular Dysfunction after Myocardial Infarction. *New England Journal of Medicine* 1995;333:1670-6.

59. The Acute Infarction Ramipril Efficacy Study I. Effect of ramipril on mortality and morbidity of survivors of acute myocardial infarction with clinical evidence of heart failure. *The Lancet*;342:821-8.
60. Pitt B, Zannad F, Remme WJ, et al. The Effect of Spironolactone on Morbidity and Mortality in Patients with Severe Heart Failure. *New England Journal of Medicine* 1999;341:709-17.
61. Pitt B, Remme W, Zannad F, et al. Eplerenone, a Selective Aldosterone Blocker, in Patients with Left Ventricular Dysfunction after Myocardial Infarction. *New England Journal of Medicine* 2003;348:1309-21.
62. Pfeffer MA, McMurray JJV, Velazquez EJ, et al. Valsartan, Captopril, or Both in Myocardial Infarction Complicated by Heart Failure, Left Ventricular Dysfunction, or Both. *New England Journal of Medicine* 2003;349:1893-906.
63. Rehsia NS, Dhalla NS. Mechanisms of the beneficial effects of beta-adrenoceptor antagonists in congestive heart failure. *Experimental & Clinical Cardiology* 2010;15:e86-e95.
64. Jaswal JS, Cadete VJ, Lopaschuk GD. Optimizing cardiac energy substrate metabolism: a novel therapeutic intervention for ischemic heart disease. *Stable angina—taking time* 2008;5.
65. Bangalore S, Messerli FH, Kostis JB, Pepine CJ. Cardiovascular protection using beta-blockers: a critical review of the evidence. *J Am Coll Cardiol* 2007;50:563-72.
66. Randomised trial of intravenous atenolol among 16 027 cases of suspected acute myocardial infarction: ISIS-1. First International Study of Infarct Survival Collaborative Group. *Lancet (London, England)* 1986;2:57-66.
67. Early intravenous then oral metoprolol in 45 852 patients with acute myocardial infarction: randomised placebo-controlled trial. *The Lancet* 2005;366:1622-32.
68. Cohen M, Blaber R, Demers C, et al. The Essence Trial: Efficacy and Safety of Subcutaneous Enoxaparin in Unstable Angina and Non-Q-Wave MI: A Double-Blind, Randomized, Parallel-Group, Multicenter Study Comparing Enoxaparin and Intravenous Unfractionated Heparin: Methods and Design. *J Thromb Thrombolysis* 1997;4:271-4.
69. Antman EM. TIMI 11B. Enoxaparin versus unfractionated heparin for unstable angina or non-Q-wave myocardial infarction: a double-blind, placebo-controlled, parallel-group,

multicenter trial. Rationale, study design, and methods. Thrombolysis in Myocardial Infarction (TIMI) 11B Trial Investigators. American heart journal 1998;135:S353-60.

70. Ferguson JJ, Califf RM, Antman EM, et al. Enoxaparin vs unfractionated heparin in high-risk patients with non-ST-segment elevation acute coronary syndromes managed with an intended early invasive strategy: primary results of the SYNERGY randomized trial. *Jama* 2004;292:45-54.

71. Mehta SR, Bainey KR, Cantor WJ, et al. 2018 Canadian Cardiovascular Society/Canadian Association of Interventional Cardiology Focused Update of the Guidelines for the Use of Antiplatelet Therapy. *Canadian Journal of Cardiology* 2018;34:214-33.

72. Levine GN, Bates ER, Bittl JA, et al. 2016 ACC/AHA Guideline Focused Update on Duration of Dual Antiplatelet Therapy in Patients With Coronary Artery Disease. A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines 2016;68:1082-115.

73. Valgimigli M, Bueno H, Byrne RA, et al. 2017 ESC focused update on dual antiplatelet therapy in coronary artery disease developed in collaboration with EACTS: The Task Force for dual antiplatelet therapy in coronary artery disease of the European Society of Cardiology (ESC) and of the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS). *European Heart Journal* 2017;39:213-60.

74. Swieringa F, Kuijpers MJE, Heemskerk JWM, van der Meijden PEJ. Targeting platelet receptor function in thrombus formation: The risk of bleeding. *Blood Reviews*;28:9-21.

75. Marin F, Gonzalez-Conejero R, Capranzano P, Bass TA, Roldan V, Angiolillo DJ. Pharmacogenetics in cardiovascular antithrombotic therapy. *J Am Coll Cardiol* 2009;54:1041-57.

76. Gaglia MA, Jr., Clavijo L. Cardiovascular pharmacology core reviews: aspirin. *Journal of cardiovascular pharmacology and therapeutics* 2013;18:505-13.

77. Berger JS. Aspirin, clopidogrel, and ticagrelor in acute coronary syndromes. *The American journal of cardiology* 2013;112:737-45.

78. Guirguis-Blake JM, Evans CV, Senger CA, O'Connor EA, Whitlock EP. Aspirin for the primary prevention of cardiovascular events: A systematic evidence review for the u.s. preventive services task force. *Annals of Internal Medicine* 2016;164:804-13.
79. Baigent C, Collins R, Appleby P, Parish S, Sleight P, Peto R. ISIS-2: 10 year survival among patients with suspected acute myocardial infarction in randomised comparison of intravenous streptokinase, oral aspirin, both, or neither. *BMJ (Clinical research ed)* 1998;316:1337.
80. Tanguay JF, Bell AD, Ackman ML, et al. Focused 2012 update of the Canadian Cardiovascular Society guidelines for the use of antiplatelet therapy. *The Canadian journal of cardiology* 2013;29:1334-45.
81. Investigators TCO. Dose Comparisons of Clopidogrel and Aspirin in Acute Coronary Syndromes. *New England Journal of Medicine* 2010;363:930-42.
82. Investigators TCiUAtPRET. Effects of Clopidogrel in Addition to Aspirin in Patients with Acute Coronary Syndromes without ST-Segment Elevation. *New England Journal of Medicine* 2001;345:494-502.
83. Bonaca MP, Steg PG, Feldman LJ, et al. Antithrombotics in acute coronary syndromes. *J Am Coll Cardiol* 2009;54:969-84.
84. Bell AD, Roussin A, Cartier R, et al. The Use of Antiplatelet Therapy in the Outpatient Setting: Canadian Cardiovascular Society Guidelines. *Canadian Journal of Cardiology* 2011;27:S1-S59.
85. Mehta SR, Yusuf S, Peters RJG, et al. Effects of pretreatment with clopidogrel and aspirin followed by long-term therapy in patients undergoing percutaneous coronary intervention: the PCI-CURE study. *The Lancet*;358:527-33.
86. Chen ZM, Jiang LX, Chen YP, et al. Addition of clopidogrel to aspirin in 45,852 patients with acute myocardial infarction: randomised placebo-controlled trial. *Lancet (London, England)* 2005;366:1607-21.
87. Wiviott SD, Trenk D, Frelinger AL, et al. Prasugrel compared with high loading- and maintenance-dose clopidogrel in patients with planned percutaneous coronary intervention: the Prasugrel in Comparison to Clopidogrel for Inhibition of Platelet Activation and Aggregation-Thrombolysis in Myocardial Infarction 44 trial. *Circulation* 2007;116:2923-32.

88. Cannon CP, Husted S, Harrington RA, et al. Safety, tolerability, and initial efficacy of AZD6140, the first reversible oral adenosine diphosphate receptor antagonist, compared with clopidogrel, in patients with non-ST-segment elevation acute coronary syndrome: primary results of the DISPERSE-2 trial. *J Am Coll Cardiol* 2007;50:1844-51.
89. Biondi-Zoccai G, Lotrionte M, Agostoni P, et al. Adjusted indirect comparison meta-analysis of prasugrel versus ticagrelor for patients with acute coronary syndromes. *International Journal of Cardiology* 2011;150:325-31.
90. Wiviott SD, Braunwald E, McCabe CH, et al. Prasugrel versus Clopidogrel in Patients with Acute Coronary Syndromes. *New England Journal of Medicine* 2007;357:2001-15.
91. Schüpke S, Neumann F-J, Menichelli M, et al. Ticagrelor or Prasugrel in Patients with Acute Coronary Syndromes. *New England Journal of Medicine* 2019;381:1524-34.
92. Jneid H. Ticagrelor or Prasugrel in Acute Coronary Syndromes — The Winner Takes It All? *New England Journal of Medicine* 2019;381:1582-5.
93. Wallentin L, Becker RC, Budaj A, et al. Ticagrelor versus Clopidogrel in Patients with Acute Coronary Syndromes. *New England Journal of Medicine* 2009;361:1045-57.
94. Bonaca MP, Bhatt DL, Cohen M, et al. Long-Term Use of Ticagrelor in Patients with Prior Myocardial Infarction. *New England Journal of Medicine* 2015;372:1791-800.
95. Bonello L, Laine M, Kipson N, et al. Ticagrelor Increases Adenosine Plasma Concentration in Patients With an Acute Coronary Syndrome. *Journal of the American College of Cardiology* 2014;63:872-7.
96. Cattaneo M, Schulz R, Nylander S. Adenosine-Mediated Effects of Ticagrelor: Evidence and Potential Clinical Relevance. *Journal of the American College of Cardiology* 2014;63:2503-9.
97. Öhman J, Kudira R, Albinsson S, Olde B, Erlinge D. Ticagrelor induces adenosine triphosphate release from human red blood cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2012;418:754-8.
98. van den Berg TNA, El Messaoudi S, Rongen GA, et al. Ticagrelor Does Not Inhibit Adenosine Transport at Relevant Concentrations: A Randomized Cross-Over Study in Healthy Subjects In Vivo. *PLOS ONE* 2015;10:e0137560.

99. Ariotti S, Ortega-Paz L, van Leeuwen M, et al. Effects of Ticagrelor, Prasugrel, or Clopidogrel on Endothelial Function and Other Vascular Biomarkers: A Randomized Crossover Study. *JACC: Cardiovascular Interventions* 2018;11:1576-86.
100. Nanhwan MK, Ling S, Kodakandla M, Nylander S, Ye Y, Birnbaum Y. Chronic Treatment With Ticagrelor Limits Myocardial Infarct Size. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 2014;34:2078-85.
101. Wittfeldt A, Emanuelsson H, Brandrup-Wognsen G, et al. Ticagrelor Enhances Adenosine-Induced Coronary Vasodilatory Responses in Humans. *Journal of the American College of Cardiology* 2013;61:723-7.
102. Alexopoulos D, Moulias A, Koutsogiannis N, et al. Differential Effect of Ticagrelor Versus Prasugrel on Coronary Blood Flow Velocity in Patients With Non-ST-Elevation Acute Coronary Syndrome Undergoing Percutaneous Coronary Intervention. *Circulation: Cardiovascular Interventions* 2013;6:277-83.
103. Jeong HS, Kim J-H, Hong SJ. Pleiotropic Effects of Ticagrelor Beyond its Potent Antiplatelet Effects Contributing to Additional Clinical Benefits. *JACC: Cardiovascular Interventions* 2018;11:1785.
104. Fromonot J, Dignat-Georges F, Rossi P, et al. Ticagrelor Improves Peripheral Arterial Function in Acute Coronary Syndrome Patients: Relationship With Adenosine Plasma Level. *Journal of the American College of Cardiology* 2016;67:1967-8.
105. Bonello L, Frere C, Cointe S, et al. Ticagrelor increases endothelial progenitor cell level compared to clopidogrel in acute coronary syndromes: A prospective randomized study. *International Journal of Cardiology* 2015;187:502-7.
106. Tatsidou PT, Chantzichristos VG, Tsoumani ME, et al. Circulating progenitor cells and their interaction with platelets in patients with an acute coronary syndrome. *Platelets* 2019;30:314-21.
107. Reiner MF, Breitenstein A, Holy EW, et al. Ticagrelor, but not clopidogrel active metabolite, displays antithrombotic properties in the left atrial endocardium. *European Heart Journal* 2017;38:916-9.

108. Sumaya W, Storey RF. Ticagrelor: Effects Beyond the P2Y12 Receptor. *Interventional Cardiology Clinics* 2017;6:49-55.
109. Adamski P, Kozinski M, Ostrowska M, et al. Overview of pleiotropic effects of platelet P2Y12 receptor inhibitors. *Thrombosis and haemostasis* 2014;112:224-42.
110. Storey RF, James SK, Siegbahn A, et al. Lower mortality following pulmonary adverse events and sepsis with ticagrelor compared to clopidogrel in the PLATO study. *Platelets* 2014;25:517-25.
111. Chyrchel B, Drozd A, Dlugosz D, Stepień EL, Surdacki A. Platelet Reactivity And Circulating Platelet-Derived Microvesicles Are Differently Affected By P2Y12 Receptor Antagonists. *International journal of medical sciences* 2019;16:264-75.
112. Moulias A, Xanthopoulou I, Alexopoulos D. Does Ticagrelor Improve Endothelial Function? *Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics* 2019;24:11-7.
113. Taha M, Lopaschuk GD. Alterations in energy metabolism in cardiomyopathies. *Annals of medicine* 2007;39:594-607.
114. Kolwicz SC, Jr., Purohit S, Tian R. Cardiac metabolism and its interactions with contraction, growth, and survival of cardiomyocytes. *Circ Res* 2013;113:603-16.
115. Taegtmeyer H. The new cardiac metabolism. *Journal of molecular and cellular cardiology* 2013;55:1.
116. Pascual F, Coleman RA. Fuel availability and fate in cardiac metabolism: A tale of two substrates. *Biochimica et biophysica acta* 2016;1860:1425-33.
117. Stanley WC, Lopaschuk GD, Hall JL, McCormack JG. Regulation of myocardial carbohydrate metabolism under normal and ischaemic conditions. Potential for pharmacological interventions. *Cardiovascular research* 1997;33:243-57.
118. Stanley WC. Myocardial energy metabolism during ischemia and the mechanisms of metabolic therapies. *Journal of cardiovascular pharmacology and therapeutics* 2004;9 Suppl 1:S31-45.
119. Taegtmeyer H. Genetics of energetics: transcriptional responses in cardiac metabolism. *Annals of biomedical engineering* 2000;28:871-6.

120. Young ME. Temporal partitioning of cardiac metabolism by the cardiomyocyte circadian clock. *Experimental physiology* 2016;101:1035-9.
121. Young ME, Razeghi P, Cedars AM, Guthrie PH, Taegtmeyer H. Intrinsic diurnal variations in cardiac metabolism and contractile function. *Circ Res* 2001;89:1199-208.
122. Lopaschuk GD, Kelly DP. Signalling in cardiac metabolism. *Cardiovascular research* 2008;79:205-7.
123. Taegtmeyer H, King LM, Jones BE. Energy substrate metabolism, myocardial ischemia, and targets for pharmacotherapy. *The American journal of cardiology* 1998;82:54k-60k.
124. van der Vusse GJ, van Bilsen M, Glatz JF. Cardiac fatty acid uptake and transport in health and disease. *Cardiovascular research* 2000;45:279-93.
125. E. Marc Jolicoeur TDH. Refractory Angina. In: Elsevier, ed.2016.
126. Shao D, Tian R. Glucose Transporters in Cardiac Metabolism and Hypertrophy. *Comprehensive Physiology* 2015;6:331-51.
127. Lopaschuk GD, Stanley WC. Glucose metabolism in the ischemic heart. *Circulation* 1997;95:313-5.
128. Fillmore N, Mori J, Lopaschuk GD. Mitochondrial fatty acid oxidation alterations in heart failure, ischaemic heart disease and diabetic cardiomyopathy. *British journal of pharmacology* 2014;171:2080-90.
129. Ussher JR, Jaswal JS, Lopaschuk GD. Pyridine nucleotide regulation of cardiac intermediary metabolism. *Circ Res* 2012;111:628-41.
130. Horman S, Beauloye C, Vanoverschelde JL, Bertrand L. AMP-activated protein kinase in the control of cardiac metabolism and remodeling. *Current heart failure reports* 2012;9:164-73.
131. Bujak R, Struck-Lewicka W, Markuszewski MJ, Kaliszan R. Metabolomics for laboratory diagnostics. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis* 2015;113:108-20.
132. Kordalewska M, Markuszewski MJ. Metabolomics in cardiovascular diseases. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis* 2015;113:121-36.

133. Ussher JR, Elmariah S, Gerszten RE, Dyck JRB. The Emerging Role of Metabolomics in the Diagnosis and Prognosis of Cardiovascular Disease. *Journal of the American College of Cardiology* 2016;68:2850-70.
134. Martinez-Arranz I, Mayo R, Perez-Cormenzana M, et al. Enhancing metabolomics research through data mining. *Journal of proteomics* 2015;127:275-88.
135. De Livera AM, Sysi-Aho M, Jacob L, et al. Statistical methods for handling unwanted variation in metabolomics data. *Analytical chemistry* 2015;87:3606-15.
136. Cheng S, Shah SH, Corwin EJ, et al. Potential Impact and Study Considerations of Metabolomics in Cardiovascular Health and Disease: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Circulation Cardiovascular genetics* 2017;10:e000032.
137. Ali SE, Farag MA, Holvoet P, Hanafi RS, Gad MZ. A Comparative Metabolomics Approach Reveals Early Biomarkers for Metabolic Response to Acute Myocardial Infarction. *Scientific Reports* 2016;6:36359.
138. Alakwaa FM, Chaudhary K, Garmire LX. Deep Learning Accurately Predicts Estrogen Receptor Status in Breast Cancer Metabolomics Data. *Journal of proteome research* 2018;17:337-47.
139. Date Y, Kikuchi J. Application of a Deep Neural Network to Metabolomics Studies and Its Performance in Determining Important Variables. *Analytical chemistry* 2018;90:1805-10.
140. Burger T. Gentle Introduction to the Statistical Foundations of False Discovery Rate in Quantitative Proteomics. *Journal of proteome research* 2018;17:12-22.
141. Pouralijan Amiri M, Khoshkam M, Salek RM, Madadi R, Faghanzadeh Ganji G, Ramazani A. Metabolomics in early detection and prognosis of acute coronary syndrome. *Clinica Chimica Acta* 2019;495:43-53.
142. Chen X, Robinson DG, Storey JD. The functional false discovery rate with applications to genomics. *Biostatistics* 2019.
143. Laurens van der Maaten GH. Visualizing Data using t-SNE. *Journal of Machine Learning Research* 2008;9:2579-605.
144. De Livera AM, Dias DA, De Souza D, et al. Normalizing and integrating metabolomics data. *Analytical chemistry* 2012;84:10768-76.

145. Fernandez-Albert F, Llorach R, Garcia-Aloy M, Ziyatdinov A, Andres-Lacueva C, Perera A. Intensity drift removal in LC/MS metabolomics by common variance compensation. *Bioinformatics (Oxford, England)* 2014;30:2899-905.
146. Brunner MP, Shah SH, Craig DM, et al. Effect of Heparin Administration on Metabolomic Profiles in Samples Obtained During Cardiac Catheterization. *Circulation: Cardiovascular Genetics* 2011;4:695-700.
147. Altmaier E, Fobo G, Heier M, et al. Metabolomics approach reveals effects of antihypertensives and lipid-lowering drugs on the human metabolism. *European Journal of Epidemiology* 2014;29:325-36.
148. Kofink D, Eppinga RN, Gilst WHv, et al. Statin Effects on Metabolic Profiles. *Circulation: Cardiovascular Genetics* 2017;10:e001759.
149. Krauss RM, Zhu H, Kaddurah-Daouk R. Pharmacometabolomics of Statin Response. *Clinical Pharmacology & Therapeutics* 2013;94:562-5.
150. Würtz P, Wang Q, Soininen P, et al. Metabolomic Profiling of Statin Use and Genetic Inhibition of HMG-CoA Reductase. *Journal of the American College of Cardiology* 2016;67:1200-10.
151. Lee H, Choi JM, Cho J-Y, Kim T-E, Lee HJ, Jung BH. Regulation of endogenous metabolites by rosuvastatin in hyperlipidemia patients: An integration of metabolomics and lipidomics. *Chemistry and Physics of Lipids* 2018;214:69-83.
152. Trupp M, Zhu H, Wikoff WR, et al. Metabolomics Reveals Amino Acids Contribute to Variation in Response to Simvastatin Treatment. *PLOS ONE* 2012;7:e38386.
153. Chenevier-Gobeaux C, Meune C, Lefevre G, et al. A single value of high-sensitive troponin T below the limit of detection is not enough for ruling out non ST elevation myocardial infarction in the emergency department. *Clinical biochemistry* 2016;49:1113-7.
154. Reichlin T, Hochholzer W, Bassetti S, et al. Early Diagnosis of Myocardial Infarction with Sensitive Cardiac Troponin Assays. *New England Journal of Medicine* 2009;361:858-67.
155. Chenevier-Gobeaux C, Bonnefoy-Cudraz É, Charpentier S, et al. High-sensitivity cardiac troponin assays: Answers to frequently asked questions. *Archives of Cardiovascular Diseases* 2015;108:132-49.

156. Keller T, Zeller T, Peetz D, et al. Sensitive Troponin I Assay in Early Diagnosis of Acute Myocardial Infarction. *New England Journal of Medicine* 2009;361:868-77.
157. Corcoran D, Grant P, Berry C. Risk stratification in non-ST elevation acute coronary syndromes: Risk scores, biomarkers and clinical judgment. *IJC Heart & Vasculature* 2015;8:131-7.
158. Li W-J, Chen X-M, Nie X-Y, et al. Early diagnostic and prognostic utility of high-sensitive troponin assays in acute myocardial infarction: a meta-analysis. *Internal Medicine Journal* 2015;45:748-56.
159. Devereaux PJ, Chan MT, Alonso-Coello P, et al. Association between postoperative troponin levels and 30-day mortality among patients undergoing noncardiac surgery. *Jama* 2012;307:2295-304.
160. Bodi V, Marrachelli VG, Husser O, Chorro FJ, Vina JR, Monleon D. Metabolomics in the diagnosis of acute myocardial ischemia. *Journal of cardiovascular translational research* 2013;6:808-15.
161. Brindle JT, Antti H, Holmes E, et al. Rapid and noninvasive diagnosis of the presence and severity of coronary heart disease using ¹H-NMR-based metabolomics. *Nature medicine* 2002;8:1439-44.
162. Kirschenlohr HL, Griffin JL, Clarke SC, et al. Proton NMR analysis of plasma is a weak predictor of coronary artery disease. *Nature medicine* 2006;12:705-10.
163. Shah SH, Sun JL, Stevens RD, et al. Baseline metabolomic profiles predict cardiovascular events in patients at risk for coronary artery disease. *American heart journal* 2012;163:844-50.e1.
164. Floegel A, Kühn T, Sookthai D, et al. Serum metabolites and risk of myocardial infarction and ischemic stroke: a targeted metabolomic approach in two German prospective cohorts. *European Journal of Epidemiology* 2018;33:55-66.
165. Holmes MV, Millwood IY, Kartsonaki C, et al. Lipids, Lipoproteins, and Metabolites and Risk of Myocardial Infarction and Stroke. *Journal of the American College of Cardiology* 2018;71:620-32.

166. Sabatine Marc S, Liu E, Morrow David A, et al. Metabolomic Identification of Novel Biomarkers of Myocardial Ischemia. *Circulation* 2005;112:3868-75.
167. Vallejo M, García A, Tuñón J, et al. Plasma fingerprinting with GC-MS in acute coronary syndrome. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 2009;394:1517-24.
168. Teul J, Garcia A, Tuñón J, et al. Targeted and non-targeted metabolic time trajectory in plasma of patients after acute coronary syndrome. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis* 2011;56:343-51.
169. Lewis GD, Wei R, Liu E, et al. Metabolite profiling of blood from individuals undergoing planned myocardial infarction reveals early markers of myocardial injury. *The Journal of Clinical Investigation* 2008;118:3503-12.
170. Zhu M, Han Y, Zhang Y, et al. Metabolomics Study of the Biochemical Changes in the Plasma of Myocardial Infarction Patients. *Frontiers in Physiology* 2018;9.
171. Turer AT, Stevens RD, Bain JR, et al. Metabolomic profiling reveals distinct patterns of myocardial substrate use in humans with coronary artery disease or left ventricular dysfunction during surgical ischemia/reperfusion. *Circulation* 2009;119:1736-46.
172. Kohlhauer M, Dawkins S, Costa Ana SH, et al. Metabolomic Profiling in Acute ST-Segment–Elevation Myocardial Infarction Identifies Succinate as an Early Marker of Human Ischemia–Reperfusion Injury. *Journal of the American Heart Association* 2018;7:e007546.
173. Feng L, Yang J, Liu W, et al. Lipid Biomarkers in Acute Myocardial Infarction Before and After Percutaneous Coronary Intervention by Lipidomics Analysis. *Medical science monitor : international medical journal of experimental and clinical research* 2018;24:4175-82.
174. Hiatt WR, Fowkes FGR, Heizer G, et al. Ticagrelor versus Clopidogrel in Symptomatic Peripheral Artery Disease. *New England Journal of Medicine* 2016;376:32-40.
175. Kubisa MJ, Jezewski MP, Gasecka A, Siller-Matula JM, Postula M. Ticagrelor - toward more efficient platelet inhibition and beyond. *Therapeutics and clinical risk management* 2018;14:129-40.
176. Chong J, Soufan O, Li C, et al. MetaboAnalyst 4.0: towards more transparent and integrative metabolomics analysis. *Nucleic acids research* 2018;46:W486-w94.

177. Devanathan S, Whitehead TD, Fettig N, Gropler RJ, Nemanich S, Shoghi KI. Sexual dimorphism in myocardial acylcarnitine and triglyceride metabolism. *Biol Sex Differ* 2016;25.
178. Wallis JG, Watts JL, Browse J. Polyunsaturated fatty acid synthesis: what will they think of next? *Trends in biochemical sciences* 2002;27:467.
179. Watanabe Y, Tatsuno I. Prevention of Cardiovascular Events with Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids and the Mechanism Involved. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis* 2019;advpub.
180. Igarashi M, Ma K, Chang L, Bell JM, Rapoport SI. Rat heart cannot synthesize docosahexaenoic acid from circulating alpha-linolenic acid because it lacks elongase-2. *Journal of lipid research* 2008;49:1735-45.
181. Rapoport SI, Rao JS, Igarashi M. Brain metabolism of nutritionally essential polyunsaturated fatty acids depends on both the diet and the liver. *Prostaglandins, leukotrienes, and essential fatty acids* 2007;77:251-61.
182. Murakami M, Nakatani Y, Atsumi GI, Inoue K, Kudo I. Regulatory Functions of Phospholipase A2. *Critical reviews in immunology* 2017;37:121-79.
183. Nanhwan MK, Ling S, Kodakandla M, Nylander S, Ye Y, Birnbaum Y. Chronic treatment with ticagrelor limits myocardial infarct size: an adenosine and cyclooxygenase-2-dependent effect. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2014;34:2078-85.
184. Bylund J, Ericsson J, Oliw EH. Analysis of Cytochrome P450 Metabolites of Arachidonic and Linoleic Acids by Liquid Chromatography–Mass Spectrometry with Ion Trap MS2. *Analytical Biochemistry* 1998;265:55-68.
185. Cohen MG, Rossi JS, Garbarino J, et al. Insights into the inhibition of platelet activation by omega-3 polyunsaturated fatty acids: beyond aspirin and clopidogrel. *Thrombosis research* 2011;128:335-40.
186. Spector AA, Hoak JC, Warner ED, Fry GL. Utilization of long-chain free fatty acids by human platelets. *J Clin Invest* 1970;49:1489-96.
187. Hoak JC, Warner ED, Connor WE. Platelets, fatty acids and thrombosis. *Circulation research* 1967;20:11-7.

188. Lagarde M. Metabolism of fatty acids by platelets and the functions of various metabolites in mediating platelet function. *Progress in lipid research* 1988;27:135-52.
189. Slatter DA, Aldrovandi M, O'Connor A, et al. Mapping the Human Platelet Lipidome Reveals Cytosolic Phospholipase A2 as a Regulator of Mitochondrial Bioenergetics during Activation. *Cell metabolism* 2016;23:930-44.
190. Yoda E, Rai K, Ogawa M, et al. Group VIB calcium-independent phospholipase A2 (iPLA2 γ) regulates platelet activation, hemostasis and thrombosis in mice. *PLoS One* 2014;9:e109409.
191. Aungraheeta R, Conibear A, Butler M, et al. Inverse agonism at the P2Y₁₂ receptor and ENT1 transporter blockade contribute to platelet inhibition by ticagrelor. *Blood* 2016;128:2717-28.
192. Kirkby NS, Leadbeater PD, Chan MV, Nylander S, Mitchell JA, Warner TD. Antiplatelet effects of aspirin vary with level of P2Y₁(2) receptor blockade supplied by either ticagrelor or prasugrel. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH* 2011;9:2103-5.
193. Wang DD, Hu FB. Dietary Fat and Risk of Cardiovascular Disease: Recent Controversies and Advances. *Annual Review of Nutrition* 2017;37:423-46.
194. Heydari B, Abdullah S, Pottala JV, et al. Effect of Omega-3 Acid Ethyl Esters on Left Ventricular Remodeling After Acute Myocardial Infarction: The OMEGA-REMODEL Randomized Clinical Trial. *Circulation* 2016;134:378-91.
195. Takamura M, Kurokawa K, Ootsuji H, et al. Long-Term Administration of Eicosapentaenoic Acid Improves Post-Myocardial Infarction Cardiac Remodeling in Mice by Regulating Macrophage Polarization. *J Am Heart Assoc* 2017;6.
196. Hu Y, Hu FB, Manson JE. Marine Omega-3 Supplementation and Cardiovascular Disease: An Updated Meta-Analysis of 13 Randomized Controlled Trials Involving 127 477 Participants. *Journal of the American Heart Association* 2019;8:e013543.
197. Bhatt DL, Steg PG, Miller M, et al. Cardiovascular Risk Reduction with Icosapent Ethyl for Hypertriglyceridemia. *The New England journal of medicine* 2019;380:11-22.

198. Marklund M, Wu JHY, Imamura F, et al. Biomarkers of Dietary Omega-6 Fatty Acids and Incident Cardiovascular Disease and Mortality. *Circulation* 2019;139:2422-36.
199. Alwashih MA, Stimson RH, Andrew R, Walker BR, Watson DG. Acute interaction between hydrocortisone and insulin alters the plasma metabolome in humans. *Scientific reports* 2017;7:11488-.
200. Xia J, Psychogios N, Young N, Wishart DS. MetaboAnalyst: a web server for metabolomic data analysis and interpretation. *Nucleic acids research* 2009;37:W652-W60.
201. Alexandra Kuznetsova PBB, Rune H. B. Christensen. ImerTest Package: Tests in Linear Mixed Effects Models. *Journal of Statistical Software* 2017;82.
202. Langfelder P, Horvath S. WGCNA: an R package for weighted correlation network analysis. *BMC Bioinformatics* 2008;9:559.
203. Langfelder P, Horvath S. Fast R Functions for Robust Correlations and Hierarchical Clustering. *J Stat Softw* 2012;46.
204. Marco-Ramell A, Palau-Rodriguez M, Alay A, et al. Evaluation and comparison of bioinformatic tools for the enrichment analysis of metabolomics data. *BMC bioinformatics* 2018;19:1-.
205. Cohen IV, Cirulli ET, Mitchell MW, et al. Acetaminophen (Paracetamol) Use Modifies the Sulfation of Sex Hormones. *EBioMedicine* 2018;28:316-23.
206. Donaldson J. tsne: T-Distributed Stochastic Neighbor Embedding for R (t-SNE). 2016.
207. Perrino C, Barabási A-L, Condorelli G, et al. Epigenomic and transcriptomic approaches in the post-genomic era: path to novel targets for diagnosis and therapy of the ischaemic heart? Position Paper of the European Society of Cardiology Working Group on Cellular Biology of the Heart. *Cardiovasc Res* 2017;113:725-36.